

MÁRCIO FLÁVIO GERETI DOS SANTOS

**Análise dos dados de detecção, isolamento e caracterização de *Salmonella*  
em artrópodes coletados em granjas de aves reprodutoras do estado de  
São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul**

São Paulo

2023

MARCIO FLÁVIO GERETI DOS SANTOS

**Análise dos dados de detecção, isolamento e caracterização de *Salmonella*  
em artrópodes coletados em granjas de aves reprodutoras do estado de  
São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul**

**VERSÃO CORRIGIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

**Departamento:**  
Patologia – VPT

**Área de concentração:**  
Patologia Experimental e Comparada

**Orientador:**  
Prof. Dr. Antônio José Piantino Ferreira

São Paulo  
2023

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

#### DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

Santos, Marcio Flavio Gereti dos  
Análise dos dados de detecção e caracterização de *Salmonella* em artrópodes coletados em granjas de aves reprodutoras do estado de São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul / Marcio Flavio Gereti dos Santos ; orientador Antonio José Piantino Ferreira. – São Paulo, 2023.  
64 f. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e Comparada – Departamento de Patologia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2023.

1. *Salmonella*. 2. Avicultura. 3. Artrópodes. 4. Contaminação. 5. Insetos. I. Título.



*Comissão de Ética no  
Uso de Animais*

São Paulo, 23 de agosto de 2023  
CEUx N 6632210823

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Antonio José Piantino Ferreira

Área: Patologia Experimental E Comparada

Equipe envolvida: Márcio Flávio Gereti Dos Santos - (pós-graduando);

Título da proposta: "DETECÇÃO, ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SALMONELLA EM INSETOS COLETADOS EM GRANJAS DE AVES REPRODUTORAS DO ESTADO DE SÃO PAULO, MINAS GERAIS E MATO GROSSO DO SUL".

**Parecer Consubstanciado da CEUA FMVZ**

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo, na reunião de 23/08/2023, **ANALISOU** e **APROVOU** a proposta acima referenciada. A partir desta data, é dever do pesquisador:

1. Comunicar toda e qualquer alteração.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da proposta.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.
4. **Relatórios parciais** de andamento deverão ser enviados **anualmente** à CEUA até a conclusão da proposta.

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Camilla Mota Mendes  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: SANTOS, Márcio Flávio Gereti dos

Título: **Análise dos dados de detecção, isolamento e caracterização de *Salmonella* em artrópodes coletados em granjas de aves reprodutoras do estado de São Paulo, Minas Gerias e Mato Grosso do Sul**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

*Aos meus pais,*

*Manoel e Malvina por terem feito sempre o melhor que podiam para que eu pudesse ser a pessoa que sou hoje, e por me fazer sempre acreditar na frase: “Sempre esteja perto de pessoas que saibam mais do que você!”...*

*Segui essa frase todos os dias da minha vida, e isso me ajudou a chegar no dia de hoje.*

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

Meu principal agradecimento é para os meus familiares Manoel, Malvina, Meire e Marli que são a base e o alicerce forte que me fizeram o que sou, todos são importantes na minha vida e grande fonte de inspiração. Aos meus cunhados Remo e Rildo, que na sua simplicidade mas ajuda contínua, fizeram o que puderam para me ajudar e incentivar no meu caminho pela minha formação. E aos meus sobrinhos Renan, Lara, Victor e Letícia que sempre me admiraram mas que talvez não saibam mas fizeram eu mudar muitos pontos de vista na minha vida e por isso também terão sempre a minha admiração.

Aos meus amigos que sempre foram importantes na minha vida, me dando apoio moral e me lembrando do meu potencial, nunca deixando eu desistir da jornada que comecei e que sabem que eles serão pra sempre na minha vida.

Ao Leandro, que foi compreensivo quando eu precisava me concentrar e focar somente na tela do computador e foi extraordinário principalmente no final da minha dissertação, não deixando eu surtar muito e sempre lembrando dos meus valores e do que eu já sabia e só precisava transportar para o “papel”, o seu incentivo foi no mínimo decisivo para que eu conseguisse terminar meu trabalho.

Ao meu orientador Dr. Antonio Piantino Ferreira, que me aceitou para ser seu orientando e que confiou no meu trabalho mesmo não tendo muita experiência e estando fora da área acadêmica por mais de 10 anos. A Dra. Claudete Astolfi-Ferreira, que me ajudou no final da minha dissertação, dando valiosas ideias que contribuíram e muito para a finalização do meu trabalho.

Ao Departamento de Patologia Experimental e Comparada (VPT) e ao Laboratório de Ornitopatologia da USP que possuem excelência no trabalho desenvolvido e da qual tenho muito orgulho de ter feito parte durante esses dois anos.

Agradeço a minha banca examinadora, que aceitaram o convite e dedicaram tempo para conhecerem melhor meu trabalho, dar suas contribuições e me ajudar para a finalização do meu estudo.

Quero deixar também um grande agradecimento aos meus colegas de trabalho do laboratório (Carol, Luis, Andrea, Gláucia, Rosimeire, Luciene, Rafael, Jeliézer, Francieli, Klauss, Máira e Nathália), sem eles nada disso teria acontecido da maneira maravilhosa que foi, eles que fizeram a maioria dos testes que constam nesse trabalho

e que sempre estão atentos a fazer o trabalho da forma mais coerente e com qualidade insuperável que sempre fazem.

A Rafael Bampi, por me apoiar e incentivar a fazer e demonstrar esse estudo tão importante para a avicultura, sem sua compreensão pelo tempo que eu despendi, não seria possível esse trabalho. Agradecer também a Gracieli que iniciou e desenvolveu esse estudo entomológico, identificando e classificando os artrópodes para que posteriormente pudéssemos analisar e chegar aos importantes resultados contidos nesse trabalho. A Maristela que me auxiliou nas questões técnicas de como escrever um trabalho científico, me deu ideias me fez pensar em estratégias e como colocar no papel aquilo que eu já tinha na cabeça e na minha experiência profissional, ela foi de extrema ajuda para a conclusão de tudo isso. Ao Maurício que me ajudou com os gráficos, planilhas e com os números apresentados aqui, sem ele não teria ficado tudo tão ilustrativo e da maneira como está.



*“Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente”.*

*Roger Von Oech*

## RESUMO

SANTOS, M. F. G. **Análise dos dados de detecção, isolamento e caracterização de *Salmonella* em artrópodes coletados em granjas de aves reprodutoras do estado de São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul.** 2023. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Estudos prévios já demonstraram diferentes agentes vetores de *Salmonella* spp. na indústria avícola, sendo os cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) uma praga de grande importância e a mais estudada. No entanto, o objetivo desse trabalho foi mostrar que outros artrópodes também podem ser portadores dessa bactéria. As coletas foram realizadas ao redor dos aviários de aves reprodutoras e analisadas no Laboratório de Controle de Qualidade localizado na cidade de Guapiaçu, SP. Os resultados obtidos confirmam a suspeita e mostram um grande percentual de animais positivos para *Salmonella* spp. e alguns de seus sorotipos em artrópodes de várias ordens. Esses dados mostraram que investigações futuras de epidemiologia podem contribuir para um melhor entendimento da contaminação dos lotes.

**Palavras-chave:** *Salmonella*. Avicultura. Artrópodes. Contaminação. Insetos.

## ABSTRACT

SANTOS, M. F. G. **Analysis of detection, isolation and characterization of *Salmonella* in arthropods collected from breeding poultry farms in the states of São Paulo, Minas Gerais and Mato Grosso do Sul.** 2023. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Previous studies have already demonstrated different vector agents of *Salmonella* spp. in the poultry industry, with darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) being a pest of great importance and the most studied. However, the objective of this work was to show that other arthropods can also be carriers of this bacterium. The sample collections were carried out around the aviaries of breeding birds and analyzed in the Quality Control Laboratory located in the city of Guapiaçu, SP. The results obtained confirm the suspicion and show a large percentage of animals positive for *Salmonella* spp. and some of their serotypes in arthropods of various orders. The data showed that future investigations of epidemiology can contribute to a better understanding of batch contamination.

**Keywords:** *Salmonella*. Poultry. Arthropods. Contamination. Insects.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Localização geográfica das granjas de frangos, nos respectivos Estados.....	27
Figura 2 – Esquema e placa de Ágar Modificado Rappaporte-Vasiliadis (MSRV) com os locais de inoculação.....	29
Figura 3 – Placas de Ágar Modificado Rappaporte-Vasiliadis (MSRV) inoculadas.....	30
Figura 4 – Gráficos de Amplificação de DNA (Ct) e Curva de Melting (Tm) dos controles positivos e negativos.....	31
Figura 5 – Reação de Aglutinação antígeno-antissoro.....	32

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Oligonucleotídeos para detecção de DNA de <i>Salmonella</i> spp. (Sall) e <i>Salmonella enteritidis</i> (SE) utilizados na qPCR.....	30
Tabela 2 – Resumo dos resultados das unidades.....	34
Tabela 3 – Incidência de positivos por ano.....	35
Tabela 4 – Resultados totais de cada unidade nos anos estudados. Número de amostras, artrópodes positivos e percentual total de positivos para <i>Salmonella</i> spp. por granja e ano, no período entre 2015 a 2022. ....	35
Tabela 5 – Sorotipos encontrados nas granjas.....	37
Tabela 6 – Prevalência dos sorotipos isolados.....	41
Tabela 7 – Incidência de positivos por mês.....	43

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Regime de temperatura e chuvas em Catanduva-SP e número de amostras positivas.....	44
Gráfico 2 - Regime de temperatura e chuvas e o número de amostras positivas para Uberaba.....	45
Gráfico 3 - Regime de temperatura e chuvas e o número de amostras positivas para Paranaíba.....	46

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	15
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	16
2.1. CARACTERIZAÇÃO DA BACTÉRIA	16
2.2. TRANSMISSÃO E DOENÇA NAS AVES	19
2.3. ARTRÓPODES COMO VETORES DE SALMONELLA SPP.	24
<b>3. OBJETIVOS</b>	25
3.1. OBJETIVO GERAL	25
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	26
4.1. COLETA DE AMOSTRAS	26
4.2. PREPARO E CULTIVO DAS AMOSTRAS PARA A DETECÇÃO E ISOLAMENTO DE SALMONELLA SPP.	28
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	33
<b>6. CONCLUSÕES</b>	47
<b>REFERÊNCIAS</b>	48

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil a produção de carne de frango foi de aproximadamente 14,5 milhões de toneladas, sendo que exportou cerca de 4,8 milhões de toneladas e apresentou um consumo per capita de 45,2 Kg no ano de 2022 de acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2023). Considerando a produção de ovos no ano de 2022, o país produziu 52 bilhões de unidades, exportando 9,5 mil toneladas e o consumo per capita foi de 241 unidades (ABPA, 2023).

O melhoramento genético, o manejo, a nutrição e a industrialização de processos são alguns dos investimentos que as empresas do setor avícola realizam para alcançar as metas estabelecidas de produção. Para isso, o confinamento das aves é de extrema importância e se bem planejado aumenta a produtividade, com diminuição de custos, sem que ocorra a perda de energia dos animais. No entanto, se o confinamento não for bem realizado, essa estratégia pode causar inconvenientes com a diminuição do bem estar animal e consequente distúrbio de comportamento, poluição ambiental e presença de patógenos (D´Silva & Stevenson, 1995).

*Salmonella* spp. é um dos patógenos mais importantes na avicultura mundial e a terceira causa de mortes entre as infecções intestinais humanas. Os animais são a fonte primária desse patógeno, e alimentos de origem animal (bovinos, suínos, aves, frutos do mar, peixes) são as principais causas de transmissão para os humanos (Ferrari *et al.*, 2019).

As aves de produção podem se infectar vertical e/ou horizontalmente. Após uma infecção oral com *S. Enteritidis*, durante as primeiras 12 horas o patógeno coloniza o trato gastrointestinal e invade os tecidos internos como o fígado e o baço. Em galinhas poedeiras maduras, a infecção pode subsequentemente se disseminar para os ovários e os ovidutos, ocorrendo a presença da bactéria dentro da gema e do albúmen dos ovos em formação à medida que descem pelo trato reprodutivo e são envoltos pela casca antes de sua postura (Humphrey *et al.*, 1989; Timoney *et al.*, 1989; Thiagarajan *et al.*, 1994; Gantois *et al.*, 2009). A transmissão horizontal pode ocorrer pelo meio ambiente, transporte, ração, e vetores, como roedores, insetos e humanos. E também pelos ovos que se sujaram com fezes contaminadas durante a postura, existindo a possibilidade de penetração da bactéria através da casca durante a incubação e posterior disseminação pelo mecônio, penugens e cascas de ovos (Cox *et al.*, 1990; Canson *et al.*, 1994; Gantois *et al.*, 2009). Considerando as aves



reprodutoras, após se tornarem portadores, podem disseminar *Salmonella* spp. tanto por via horizontal como vertical durante a produção primária, e, nesse estágio, foi sugerido que sua dispersão poderia ocorrer por toda a cadeia produtiva (Gast & Holt, 1998; Ferrari *et al.*, 2019).

Os artrópodes e outros insetos estão espalhados universalmente nas unidades de produção e são numerosos nos galpões de produção. Há evidências que tenham um papel ativo no transporte e dispersão de vários patógenos na avicultura incluindo *Salmonella* spp. (Retamales *et al.*, 2011). A amostragem desses animais é uma importante ferramenta no estudo da ecologia e da correta implementação de métodos de controle. O inseto cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) é reconhecido como uma praga na avicultura mundial (Oliveira *et al.*, 2019), por ser vetor de várias doenças. No entanto, há poucos estudos dos demais artrópodes e seu potencial de contaminação e dispersão de *Salmonella* spp. nos plantéis de aves de produção.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CARACTERIZAÇÃO DA BACTÉRIA

Em 1880, Eberth descreveu a presença de bacilos em gânglios linfáticos e baço de indivíduo com febre tifóide, que denominou *Bacillus typhosus* (Rahman *et al.*, 2018), mas que o primeiro isolamento de *Salmonella* spp. foi conseguido por Gaffky, em 1884. Em 1885, Salmon & Smith, isolaram de intestino de porcos a bactéria considerada o agente etiológico da cólera suína, por isso, denominada de “*Bacillus choleraesuis*” (Le Minor, 1994). Entre os anos de 1888 e 1899 foram isoladas cepas causadoras de doenças em diferentes espécies animais. E os estudos de Schotmüller, Bryon e Kayser, demonstraram que agentes diferentes poderiam causar a febre tifóide (Rahman *et al.*, 2018). Em 1900, Lignieres propôs o nome *Salmonella lignieres*, 1900 para o gênero, em homenagem ao bacteriologista veterinário americano Salmon, nome reconhecido em 1934 pelo Committe of the International Society for Microbiology (Evangelopoulou *et al.*, 2010).

Com o uso de antissoros foram diferenciados isolados em sorotipos específicos e Kauffmann, propôs que fossem considerados uma espécie diferente (Su & Chiu, 2007). A opinião científica da época, dizia que a taxonomia e a nomenclatura do

gênero *Salmonella* dificultava o reconhecimento da importância destes organismos em saúde pública (Borman *et al.*, 1944, Evangelopoulou *et al.*, 2010). No entanto, apenas em janeiro de 2005 a Judicial Commission of the International Committee on the Systematics of Prokaryotes aprovou a nomenclatura utilizada atualmente (Tindal *et al.*, 2005; Su & Chiu, 2007, Evangelopoulou *et al.*, 2010). O gênero *Salmonella* hoje é dividido em duas espécies: *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*, sendo que *Salmonella enterica* possui seis subespécies (Ryan *et al.*, 2017).

Ao longo dos anos a nomenclatura sofreu várias modificações, e atualmente métodos baseados em biologia molecular podem ser utilizados na classificação. De acordo com o último suplemento publicado pelo Instituto Pasteur, o gênero *Salmonella* possui 2.637 sorotipos, com 1.586 pertencentes à *S. enterica* subsp *enterica*, 522 sorotipos em *S. enterica* subsp *salamae*, 102 sorotipos em *S. enterica* subsp *arizonae*, 338 sorotipos em *S. enterica* subsp *diarizonae*, 76 sorotipos em *S. enterica* subsp *houtenae*, 13 sorotipos em *S. enterica* subsp *indica* e 22 sorotipos à *S. bongori* (Issenhuth-Jeanjean *et al.*, 2014). Dentre os 2.547 sorotipos de *S. enterica*, 62,3% pertencem a subsp *enterica*, que apresenta sorotipos causadores de doença em humanos e animais, como os sorotipos *Enteritidis* e *Typhimurium* (Grimont & Weill, 2007).

Historicamente, os nomes dos sorotipos de *Salmonella* foram instituídos devido a doenças associadas à infecção, ou área geográfica de seu isolamento, ou habitats típicos. Entretanto, isto ocorre com os sorotipos da subespécie *enterica*, enquanto nas demais subespécies são denominados com uma fórmula antigênica. É possível se referir a um sorotipo omitindo o epíteto específico e o nome da subespécie; como por exemplo, *Salmonella* Typhimurium, que se refere à *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Typhimurium (Cianflone, 2008).

*Salmonella* são bacilos Gram negativos, que pertencem a família *Enterobacteriaceae*, não formam esporos, são oxidase negativa, catalase positiva, aeróbios facultativos (Ryan *et al.*, 2017; Guyassa & Dima, 2022), mesófilos com crescimento ótimo entre 35°C e 37°C, mas com capacidade de crescer em temperaturas entre 2°C e 47°C (Le Minor, 1994). Em geral, produzem ácido sulfídrico (H<sub>2</sub>S), descarboxilam a lisina e a ornitina e não hidrolisam a uréia (Grimont & Weill, 2007). A maioria das espécies são móveis possuindo flagelos peritríquios com exceção de *Salmonella enterica* sorotipo Gallinarum biotipo Gallinarum (*S. Gallinarum*) e *Salmonella enterica* sorotipo Gallinarum biotipo Pullorum (*S. Pullorum*).

O procedimento sorológico identifica e separa as cepas bacterianas em diferentes grupos conforme a sua composição antigênica. A classificação antigênica de *Salmonella* utiliza três tipos de proteínas de superfície: antígenos somáticos O, antígenos flagelares H e o antígeno capsular K de virulência Vi (Nataro *et al.*, 2011). O grupo é determinado pelos antígenos somáticos, que determinam seis soro grupos: A, B, C1, C2, D e E e são designados através de números arábicos. O sorotipo ou sorovar é definido pelos antígenos flagelares H e são designados por letras minúsculas do alfabeto, e, por haver mais sorotipos de *Salmonella* do que letras do alfabeto, a letra z é utilizada com números agregados ( $z_1, z_2, z_3$ ), e podem ocorrer em duas fases (fase 1 e fase 2). A maioria dos sorotipos exibem a expressão de antígeno flagelar difásico por expressar alternadamente dois genes, *fliC* (fase 1) e *fliB* (fase 2) que codificam flagelinas de diferentes antigenicidades. Métodos de sorotipagem de *Salmonella* reconhecem 63 antígenos flagelares de fase 1 e 37 de fases 2, embora o último nem sempre esteja presente (Guyassa & Dima, 2022). Os antígenos de fase 1 são responsáveis por caracterizar alguns sorotipos e os da fase 2 são mais comuns a diversos sorotipos (Campos, 2005). A diferença no antígeno flagelar pode ajudar na diferenciação de certas cepas, como por exemplo *S. Infantis* e *S. Virchow*, ambas do Grupo C1, com primeira fase flagelar H:r, entretanto *S. Infantis* apresenta na segunda fase flagelar os antígenos H:1,5 enquanto *S. Virchow* na segunda fase flagelar os antígenos H:1,2. Também há o antígeno capsular Vi, mas ocorre somente em *S. Typhi*, *S. Paratyphi* e *S. Dublin* (Ryan *et al.*, 2017).

A identificação tradicional de *Salmonella* é feita através de testes bioquímicos seguidos de soro tipificação, entretanto em alguns casos podem existir cepas sem os antígenos O ou mesmo sem ambos antígenos O e H. Os anticorpos específicos do antissoro reagem com a proteína presente na superfície bacteriana e ocorre uma aglutinação quando essa possuir o antígeno correspondente. Essa reação antígeno-antissoro é a responsável pela classificação de *Salmonella* em grupos e sorotipos específicos que constam no Esquema Kauffman-White-LeMinor (WHO, 2007). Além disso, o método tradicional requer tempo para sua realização em laboratório de referência, e os resultados demoram para serem recebidos, portanto dificultando as decisões para o controle do plantel (Charlton, *et. a.*, 2005). Esse tempo justifica-se pois essa metodologia tradicional, e a mais usada descrita pela norma ISO 6579-1 de 2017, tem como etapas um pré-enriquecimento com Água Peptonada Tamponada incubada entre 34°C e 38°C por 18h, enriquecimento em Agár Rappaporte-Vassiliadis

Semi- Sólido Modificado (MSRV) e incubado a 42°C por 24h ou Caldo Tetracionado com novabiocina, incubado a 37°C por 24h. Inoculação em meio seletivo para *Salmonella* que pode ser Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) ou qualquer um meio seletivo complementar ao Ágar XLD e incubado a 37°C por 24h. As colônias isoladas e presuntivas para *Salmonella* são cultivadas e confirmadas por séries bioquímicas e testes sorológicos. Dessa forma, métodos moleculares, como a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR), contribuíram para a tipificação de cepas com variação fenotípica como a falta de antígenos detectáveis (Hoorfar *et al.*, 2000). Essa técnica pode ser usada aliada com a metodologia tradicional, fazendo um pré-enriquecimento similar ao da ISO 6579, adaptada antes ao uso da PCR como uma triagem e posteriormente isolamento da bactéria, para assim saber o sorotipo da *Salmonella*, quando encontrada na amostra (Piknova *et al.*, 2001).

## 2.2 TRANSMISSÃO E DOENÇA NAS AVES

Em um plantel de frangos pode ocorrer a entrada de diferentes sorotipos de *Salmonella* por transmissão vertical ou horizontal (Liljebjelke *et al.*, 2005).

A transmissão vertical ocorre a partir de lotes de matrizes, pela infecção do trato reprodutor e passagem ao ovo em formação, acarretando o nascimento de pintos infectados (Thiagarajan *et al.*, 1994; Wales & Davies, 2020).

Embora o reservatório primário de *Salmonella* seja o trato intestinal da ave (Lopes, 2016), a transmissão horizontal pode ocorrer de diferentes maneiras:

- a) no nascedouro pelo mecônio, penugens e cascas de pintinhos infectados (Wales & Davies, 2020)
- b) pela ração contaminada com matérias primas de origem animal ou ingredientes de origem vegetal contaminados (Berger *et al.*, 2010; Magossi *et al.*, 2019);
- c) por roedores, pássaros e insetos que podem contaminar o milho e a ração em seu armazenamento (Crumrine *et al.*, 1971);
- d) pela transmissão de uma ave a outra pelo consumo de água, ração, cama ou poeira contaminada presente no sistema de ventilação (Lee *et al.*, 2019; Pal *et al.*, 2021; Dunn *et al.*, 2022);
- e) pela contaminação do solo ao redor do aviário (Lee *et al.*, 2019);
- f) por insetos, roedores e outros animais infectados (Liebana *et al.*, 2003).

Os ovos e a carne de frango estão entre os principais alimentos envolvidos na transmissão de doença aos humanos, pois, dependendo da virulência bacteriana as aves são portadoras assintomáticas. O controle de *Salmonella* spp. nos plantéis avícolas é difícil e complexo, uma vez que este microrganismo pode permanecer no solo do aviário, sem matéria orgânica, por até oito meses (Davies & Breslin, 2003). O genoma de *Salmonella* spp. apresenta inúmeros genes de virulência com capacidade de escapar de medicamentos antimicrobianos, desinfetantes e do sistema imunológico (Randall et al, 2008; Wang et al., 2020; Chaudari et al., 2023).

Diferentes sorotipos de *Salmonella* spp. podem contaminar as aves, e a morbidade depende da idade, do sorotipo envolvido, do manejo do galpão, do estado nutricional das aves, da presença de infecções concorrentes e da linhagem genética (Sadler et al., 1969; Smith & Tucker, 1980; Bumstead & Barrow, 1993; Guillot et al. 1995, Shivaprasad, 2000; Calenge et al., 2010; Gast et al., 2019). *Salmonella* spp. nas aves de produção podem causar diferentes enfermidades, ocorrendo sinais clínicos variáveis dependendo do sorotipo envolvido.

O sorotipo Gallinarum apresenta dois biotipos: o Pullorum e o Gallinarum (Christensen et al., 1993). Estes são sorotipos adaptados ao hospedeiro que infectam aves da Ordem Galliformes, principalmente as aves domésticas (*Gallus gallus*), mas também ocorrem surtos em perus (Martinaglia, 1929; Beyaz et al., 2010), faisões (Belding, 1955; Pennycott & Duncan, 1999) e codornas (Awaad et al., 1981; Buchholz & Fairbrother, 1992), assim como, em aves de vida livre como a gralha (*Corvus frugilegus*) e o pombo (*Columba palumbus*) (Harbourne, 1955), pato real (*Anas platyrhynchos*) (Buchholz & Fairbrother, 1992), periquitos (*Melopsittacus undulatus*) (Tunca et al., 2012). A presença de anticorpos para S. Gallinarum foi encontrada em papagaio verdadeiro (*Amazona aestiva*) (Deem et al., 2005), em pombos selvagens (*Zenaida asiática* e *Zenaida macroura*) (Espinosa-Argüelles et al., 2010), em Ibis de pescoço amarelo (*Theristicus caudatus*) (Sousa et al., 2010).

Estes biotipos de *Salmonella* representam patógenos de grande importância em aves de produção por causar doença sistêmica, com alta mortalidade. O biotipo Pullorum pode ser transmitido verticalmente, é o causador da pulorose aviária, uma infecção aguda que afeta as aves logo após a eclosão ou nas primeiras semanas de vida (Wales & Lawes, 2023). A transmissão também pode ocorrer no incubatório e na

granja pela ração e água contaminada (Kebede *et al.*, 2019). *S. Pullorum* pode provocar a morte de até 90% do lote, no entanto, as aves sobreviventes, tanto machos como fêmeas, podem se tornar portadoras e responsáveis pela persistência deste sorotipo no plantel (Foster *et al.*, 2021). As aves portadoras de *S. Pullorum* apresentaram diminuição gradual do número de bactérias no baço e no fígado, enquanto nas fêmeas este declínio foi interrompido no início da maturidade sexual, ocorrendo um aumento significativo no número de bactérias presentes no baço, dentro de macrófagos, em consequência da diminuição da resposta de células T. Em galinhas adultas *S. Pullorum* pode persistir por muitos meses no baço e no trato reprodutivo ocorrendo a transmissão vertical para os ovos, resultando em 10% de ovos infectados (Shivaprasad, 2000; Wigley *et al.*, 2001; Wigley *et al.*, 2005). Os sinais clínicos como depressão, sonolência, anorexia, aves amontoadas, asas caídas, desidratação, respiração difícil, penas eriçadas, fraqueza e aderência de fezes na cloaca ocorrem nas aves, sendo um sinal clínico característico a diarreia de fezes aquosas e brancas (Geetha & Palanive, 2018). As lesões macroscópicas nem sempre são visualizadas, mas estrias hemorrágicas no fígado normalmente amarelado podem ocorrer na ave recém nascida. Os filhotes, que morrem mais tarde, podem apresentar manchas necróticas acinzentadas de 1 a 2 mm de tamanho no fígado, manchas brancas elevadas no coração e no baço. As galinhas portadoras apresentam alguns folículos ovarianos com forma irregular e pedunculados, o oviduto pode estar comprometido com múltiplos pequenos abscessos. Nos machos, os testículos podem estar atrofiados com espessamento da túnica e múltiplos pequenos abscessos. Artrite também pode ocorrer nas aves (Kebede *et al.*, 2019). Aves infectadas experimentalmente apresentara fígado hemorrágico, congesto, com focos necróticos, pericardite, focos necróticos no coração, pulmões congestos, edematosos e de cor marrom, gema não absorvida e coagulada, baço aumentado com congestão e rim aumentado. Microscopicamente, ocorre miocardite e as lesões apresentam um leve infiltrado de linfócitos e heterofilos no epicárdio que se estendem ao miocárdio. As lesões hepáticas se caracterizam por leve necrose multiocel dos hepatócitos com infiltrado de heterofilos, com poucos linfócitos e macrófagos (Dhillon *et al.*, 2001; Haider *et al.*, 2012).

O biotipo Gallinarum pode causar doença em ave de qualquer idade, a morbidade independe da idade e é alta, enquanto a mortalidade pode variar de 10 a

90% dependendo da virulência da bactéria (Shivaprasad, 2000). O curso da doença pode ser agudo ou crônico, nas aves jovens o fígado, o baço e os rins podem estar hipertrofiados, congestionados, enquanto em infecções subagudas ou crônicas ocorrem hipertrofia de fígado e baço com descoloração e múltiplos focos brancos (Shivaprasad, 2000). *S. Gallinarum* pode ser eliminada nas fezes por um período de semanas e nas linhagens mais resistentes além de 14 semanas após a infecção (Smith, 1955; Berchieri *et al.*, 2001). No tifo aviário agudo há uma anemia hemolítica grave com perda de mais de 70% do total de eritrócitos circulantes. A modificação do eritrócito *in vivo* pela endotoxina leva à sua eliminação pelos macrófagos com subsequente desenvolvimento de anemia hemolítica (Kebede *et al.*, 2019).

Como a doença provocada pelo biotipo *Gallinarum* se assemelha com a febre tifóide humana, causada por *Salmonella Typhi*, a doença passou a ser denominada de tifo aviário e os biotipos *Gallinarum* ou *Pullorum* foram classificados como salmonela tifóide, enquanto os demais sorotipos que podem afetar as aves foram denominados de salmonela paratifóide (Berchieri, 2001).

As aves de produção podem ser portadoras de diferentes sorotipos de *Salmonella spp.*, o que é um risco de transmissão aos humanos. *Salmonella Enteritidis* (SE) se destaca, pois a partir da década de 80 ocorreram inúmeros surtos de toxinfecção alimentar humana por este sorotipo, se tornando um problema em saúde pública (Rodrigues *et al.*, 1990; Scuderi *et al.*, 1996; Passaro *et al.*, 1996; De Almeida *et al.*, 2000), e continua sendo um dos sorotipos mais importantes de salmonelose humana (EFSA, 2020) e persiste nos plantéis avícolas ou em produtos derivados de aves dos diferentes continentes (Yu *et al.*, 2021; Ansari-Lari, 2022; Mechesso *et al.*, 2022; Sadiq 2022 *et al.*, 2022; Stilz *et al.*, 2022; Bloomfield *et al.*, 2023; Shen *et al.*, 2023; Moghadam *et al.*, 20323; Ndlovu *et al.*, 2023). Os ovos e a carne de frango estão entre os principais alimentos envolvidos na transmissão de doença aos humanos. Outro sorotipo de relevância em saúde pública é o *Typhimurium*, pois é prevalente nos Estados Unidos, Canadá e Europa (Rajashekara *et al.*, 1999). Este sorotipo possui cepas com genoma variável, definido por fagotipagem (DT) sendo que algumas infectam diferentes hospedeiros, por exemplo, a cepa DT104, enquanto outras restringem o hospedeiro, como as cepas DT2 e DT99 que infectam pombos (Rabsch *et al.*, 2002). Em humanos a doença se limita a uma gastroenterite e a invasão sistêmica é rara (Hohmann, 2001). No entanto, a partir do relato de Gilks *et al.* (1990)

de isolamento de *Salmonella* Typhimurium causando doença sistêmica em adultos HIV positivos, no Kenia, outros casos de infecções sistêmicas por *S. Typhimurium*, com resistência a diferentes antimicrobianos, foram descritos em países da África subsaariana. Estes ocorreram de forma epidêmica existindo 20-25% de casos fatais (Feasey *et al.*, 2012 Park *et al.*, 2021;). Estudo do genoma destas cepas definiu que a sequência tipo 313 (ST313) era responsável por estas infecções (Kingsley *et al.*, 2009). Esta variante de *Salmonella* Typhimurium não é específica ao hospedeiro, pintinhos foram experimentalmente infectados e após três dias da infecção apresentaram invasão em fígado e baço (Parsons *et al.*, 2013), mas a severidade da infecção dependia da linhagem genética da ave (Lacharme-Lora *et al.*, 2019). *Salmonella* Typhimurium ST313 não está restrita ao continente africano, pois foi isolada no Brasil (Almeida *et al.*, 2017), na Inglaterra e País de Gales (Ashton *et al.*, 2017), na Índia (Jacob *et al.*, 2019). Outra cepa de grande importância em saúde pública é a *S. Typhimurium* monofásica ou *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo 4,[5],12:i:- (Ken-ichi Lee *et al.*, 2014).

Outros sorotipos de *Salmonella enterica* que devem ser cuidadosamente monitorados são *S. Derby*, *S. Agona*, *S. Infantis*, e *S. Kentucky* (Ferrari *et al.* 2019).

Aves silvestres podem se infectar com *Salmonella* spp. e desenvolver doença, muitas vezes fatais. O sorotipo Typhimurium provocou a morte de *grosbeak* (*Hesperiphona vesperlina*) e pintassilgo-pinheiro (*Spinus pinus*) (Locke *et al.*, 1973), de corvo americano (*Corvus brachyrhynchos*) (Daoust, 1978), de arara azul (*Anodorhynchus hyacinthinus*) (Menão *et al.*, 2000), de canários (*Serinus canaria*) (Madadgar *et al.*, 2009); de arara azul e de arara dourada (*Ara ararauna*), de pardais (*Passer domesticus*) (Faddoul *et al.*, 1966; Wobeser *et al.*, 1969; Connolly *et al.*, 2006; Alley *et al.*, 2015), de pardal montês (*Passer montanus*) (Fukui *et al.*, 2014), de ave de rapina (Gargiulo *et al.*, 2018). Estas aves podem ser portadoras e veicular este sorotipo para as aves de produção, o ambiente e o homem (Shivaprasad, 2000; Hernandez *et al.*, 2012; Lawson *et al.*, 2014; Alley *et al.*, 2015; Matias *et al.*, 2015).

Outros sorotipos da subespécie *enterica* de *Salmonella* causaram a morte de aves de vida livre (Kocabiyik *et al.*, 2006; Millán *et al.*, 2004; Saidenberg *et al.*, 2021), sendo que estas podem ser portadoras destas cepas bacterianas (Smith *et al.*, 2002; Reche *et al.*, 2003; Borrelli *et al.*, 2013; Janecko *et al.*, 2015; Hidasi *et al.*, 2015;



Jurado-Tarifa *et al.*, 2016; Martín-Maldonado *et al.*, 2019; Dos Santos *et al.*, 2020; Tardone *et al.*, 2020; Cardoso *et al.*, 2021).

*Salmonella enterica* que pertenciam às demais subespécies também causaram a morte de aves silvestres como a *S. subsp arizonae* (Orós *et al.*, 1997); a *S. subsp salamae* (Krawiec *et al.*, 2015; Gargiulo *et al.*, 2018) e *S. subsp houtenae* (Phillips *et al.*, 1978; Millán *et al.*, 2004, Van Andel *et al.*, 2015).

### 2.3 ARTRÓPODES COMO VETORES DE *SALMONELLA* spp.

Os artrópodes estão universalmente presentes em unidades de produção avícola e geralmente são numerosos em lotes de aves de postura, já que o galpão oferece condições favoráveis para esses animais durante todo o ano, como a temperatura, substratos fecais, e longo ciclo de produção (Wales, *et al.*, 2010).

Dentro do filo Arthropoda, as classes mais significantes para um levantamento epidemiológico são a Insecta e a Arachnida. Os besouros e moscas nas formas larvais e adultas foram os principais alvos de investigações de zoonoses (Wales *et al.*, 2010). Em estudos em galpões de frango de corte, *Salmonella* sobreviveu em besouros por um período maior do que 2 semanas entres os ciclos de recria e produção (Hazeleger, *et al.*, 2008). Estudo já mostraram que as moscas domésticas podem adquirir *Salmonella* spp. pela ração, esterco e lixo, e além disso, insetos adultos podem transmitir a bactéria entre si e transmissões verticais já foram também demonstradas (Thomson *et al.*, 2021; Bertelloni *et al.*, 2023).

As moscas pertencem à Ordem Diptera e sua presença na produção avícola está principalmente relacionada ao esterco de aves e outros meios/substratos que favorecem o desenvolvimento de grandes populações. Em ambientes avícolas, as espécies de moscas são distintamente sinantrópicas (Nichols, 2005), ou seja, relacionados com os seres humanos e seu ambiente. Como consequência, a sua erradicação é impossível e a redução em níveis aceitáveis é objetivo viável na granja. As espécies mais comuns são *Musca domestica*, *Fannia canicularis*, *Ophyra aenescens*, *Hermetia illucens*, *Muscina stabulans* (Sparagano *et al.*, 2018). As moscas podem ser vetores passivos ou ativos, são responsáveis pela transmissão de *Salmonella* spp. (Jones *et al.*, 1991; Olsen & Hammack, 2000; Holt *et al.*, 2007; Choo

*et al.*, 2011; Blazar *et al.*, 2011; Deakpe *et al.*, 2018; Thomson *et al.*, 2020; Bertelloni *et al.*, 2023), estes insetos também podem veicular outras bactérias, fungos, protozoários e helmintos (Banjo *et a.*, 2005; Förster *et al.*, 2010; Deakpe *et al.*, 2018; Issa, 2019).

Além de moscas e besouros, também há estudos com carrapatos, ácaros (Wales, *et al.*, 2008) e outros estudos que citam também baratas como possíveis fonte de contaminação (Devi e Murray, 1991).

Os estudos realizados com insetos das ordens Orthoptera, Polydesmida, Scolopendromorpha e Scutigermorpha não encontraram *Salmonella* na microbiota intestinal (Wales, *et al.*, 2010). Na ordem Lepidoptera estudos mostraram a ausência de *Salmonella* spp. na microbiota intestinal (Eski *et al.*, 2018; Voirol *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2020), mas a presença de *Salmonella enterica*, foi encontrada em larva de bicho da seda (*Antheraea assamensis*), mas em apenas 1% de todos os gêneros presentes em sua microbiota (Gandotra *et al.*, 2018).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVO GERAL**

Detectar *Salmonella* spp. em diferentes artrópodes presentes no entorno de granjas de aves de produção de São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 3.2.1. Coletar e armazenar os artrópodes (besouros, mosca doméstica, grilos, mariposas, borboletas) que se encontravam mortos no entorno dos aviários.
- 3.2.2. Isolar *Salmonella* spp. das diferentes Ordens de insetos coletadas.
- 3.2.3. Determinar o sorotipo de *Salmonella* spp. isolada por meio da reação de aglutinação com antissoros específicos.

3.2.4. Observar se há influência dos índices pluviométricos com a incidência de artrópodes nas unidades estudadas.

3.2.5. De acordo com os resultados obtidos, enfatizar a importância do nível de biossegurança nas unidades avícolas.

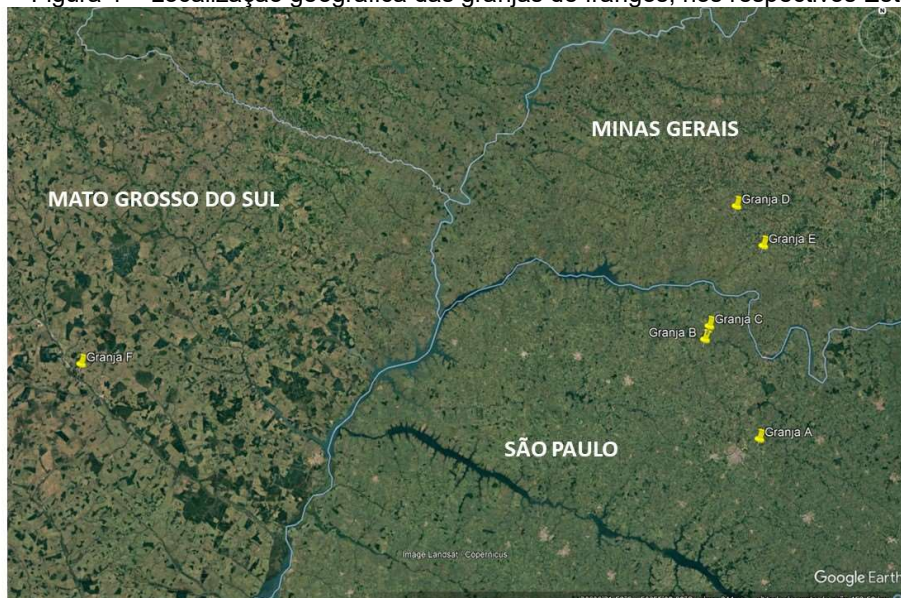
## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. COLETA DE AMOSTRAS

Os artrópodes utilizados neste estudo foram coletados em seis (06) granjas de frangos reprodutores, que foram chamadas de Granja A, B, C, D, E e F (GrA, GrB, GrC, GrD, GrE e GrF). Três (03) granjas se localizam na região noroeste do Estado de São Paulo (granjas A, B e C), duas (02) no sudoeste de Minas Gerais (granjas D e E), e uma (01) no nordeste do Estado de Mato Grosso do Sul (Granja F) como mostrado na figura 1. Os animais foram coletados entre janeiro de 2015 a dezembro de 2022.

As amostras analisadas eram somente de *pool* de artrópodes, porém foram excluídas para esse estudo todas as amostras de cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*), por se tratar de uma espécie que já conta com vários estudos nessa área. Nos *pools* enviados e analisados, não foi possível discriminar exatamente quais os artrópodes contidos em cada amostra, levando-se em conta para isso estudo prévio da prevalência das espécies contidas em cada granja analisada.

Figura 1 – Localização geográfica das granjas de frangos, nos respectivos Estados.



Fonte: *Google Earth* (2023).

Legenda: Mapa com as regiões dos estados de SP, MG e MS.

Os insetos foram coletados na parte externa e ao redor dos galpões das seis (06) granjas de criação de aves reprodutoras. Essas coletas fazem parte do controle de biossegurança, para a prevenção de enfermidades, o monitoramento e o controle de doenças estabelecidas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Todos os artrópodes coletados já estavam mortos e foram processados em um laboratório de controle de qualidade, especializado nesse tipo de amostras do setor avícola.

Os artrópodes foram acondicionados em bolsas estéreis de 532mL (Whirl-Pak® Bolsa Nasco Esterilizada – REF B01065) que não continham nenhum tipo de meio de cultura para transporte, e acondicionados em caixas térmicas refrigeradas para manter a temperatura entre 4°C e 10°C. Após a chegada ao laboratório, foram macerados (esmagados), inteiros e dentro da própria bolsa estéril de forma manual pressionando os animais contra a bancada para que suas vísceras pudessem ser expostas. Estudo prévio do próprio laboratório, demonstrou que a maceração contribuía para uma melhor detecção e isolamento do patógeno de interesse após uma maior exposição das vísceras com o meio de cultivo utilizado. Nenhum tipo de desinfecção prévia ou outra manipulação foi realizada para não comprometer um dos objetivos desse estudo que era mostrar se os artrópodes poderiam carregar *Salmonella* spp. ou não.

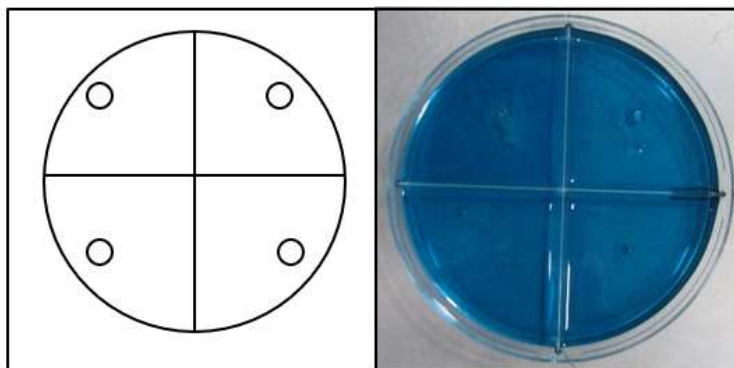
#### 4.2. PREPARO E CULTIVO DAS AMOSTRAS PARA A DETECÇÃO E ISOLAMENTO DE *SALMONELLA* spp.

Para a recuperação de *Salmonella* spp. presente nas amostras coletadas foram utilizados os “Métodos Oficiais para Análises Microbiológicas de Enfermidades Avícolas”, conforme as recomendações do MAPA (MAPA, 2006) e pela ISO 6579:2000, com modificações e limite de detecção de 100 UFC/25g e 100% de acurácia relativa (Piknová *et al.*, 2002). As modificações constam no Procedimento Operacional Padrão (POP) validado pelo Dr. Doug Waltman, do Laboratório de Avicultura da Georgia e apresentado na Conferência WPD em 2010.

No primeiro dia, denominado pré-enriquecimento, para o inóculo, que pesava cerca de 13g cada, foi utilizada a proporção de 1:10 entre a amostra e o meio de cultura, assim, as amostras foram inoculadas em 130ml de Água Peptonada Tamponada a 1% (BPW) (Oxoid-CM0509) ou Caldo Tetracionado (TT) (Oxoid-CM067) com adição de 1,3ml de uma solução aquosa de Verde Brilhante 0,1% e 2,6ml de solução de Iodo e Iodeto de potássio (Iodo 30%, Iodeto de potássio 25%). Em seguida, as amostras em BPW foram incubadas a 42°C, e aquelas em TT foram mantidas a 37°C pelo período mínimo de 18 horas e máximo de 24 horas.

No segundo dia, as amostras foram transferidas com micropipetas, para placas quadripartidas contendo ágar semissólido modificado Rappaport-Vassiliadis (MSRV) (Oxoid-CM0910), com adição de suplemento seletivo MSRV (Oxoid-SR0161), sempre respeitando a proporção de 1:100. O local da inoculação e a configuração das placas se encontram na figura 2. As placas com meio semissólido foram incubadas a 42°C, por 18-24 horas em estufa com controle de umidade, de forma a impedir que os meios semissólidos ressecassem.

Figura 2. Esquema e placa de Ágar Modificado Rappaporte-Vasiliadis (MSRV) com os locais de inoculação.

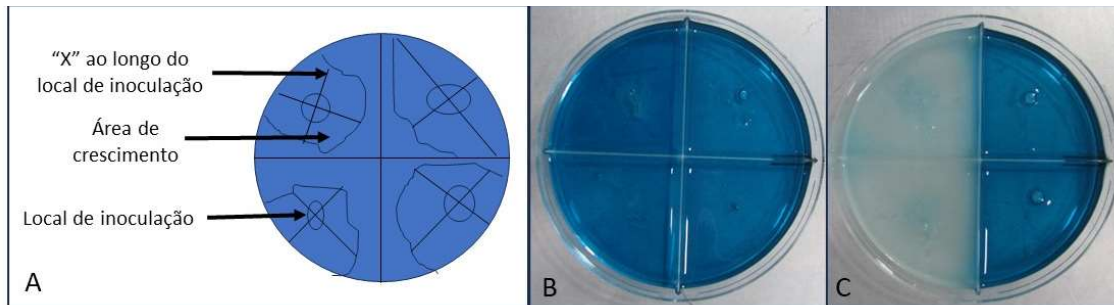


Fonte: Santos, Márcio Flávio Gereti dos (2023).

No terceiro dia de teste, em fluxo laminar, foi coletado de cada quadrante da placa de MSRV uma alíquota para a realização de PCR em tempo real (qPCR). A coleta para a extração de DNA foi realizada utilizando uma alça estéril de 1 $\mu$ L para cada quadrante, e esse conteúdo foi adicionado em microtubos de 1,5mL contendo 400 $\mu$ L de água ultra pura tratada com DEPC (ThermoFisher Scientific - Product N°.750023). Cada microtubo recebeu o conteúdo dos quatro quadrantes, resultando em um *pool* com quatro alíquotas. O local do inóculo foi marcado com um "X", a figura 3 mostra este procedimento. Ao final da coleta de material para a reação de PCR, as placas foram retornadas para a estufa a 42°C.

Os microtubos foram incubados por 10 minutos a 100°C utilizando blocos térmicos, durante esse processo o calor desnatura as proteínas e rompe as ligações de hidrogênio do DNA, liberando-o no meio de extração. Em seguida, os microtubos foram colocados a -20°C por 5 minutos para evitar a reassociação do DNA, e centrifugados a 18000 x g por 2 minutos para separar os resíduos celulares e outras impurezas que possam estar presentes na amostra. O sobrenadante resultante dessa centrifugação foi utilizado como amostra de DNA na reação de PCR em tempo real.

Figura 3. Placas de Ágar Modificado Rappaporte-Vasiliadis (MSRV) inoculadas.



Fonte: Santos, Márcio Flávio Gereti dos (2023). (A) Placa esquemática mostrando local de inoculação, área de crescimento e coleta em “X” para a extração de DNA. (B) Placa real com os inóculos em todos os quadrantes. (C) Placa real dos controles negativos (lado direito superior e inferior) e positivos (lado esquerdo superior e inferior) após 18h de incubação.

Para a detecção de DNA de *Salmonella* nas amostras de insetos, foram utilizados dois pares de oligonucleotídeos, que permitiram a detecção de *Salmonella* spp. e *Salmonella* Enteritidis na mesma reação, de acordo com os trabalhos de Hoofar *et al.* (2000) e Charlton *et al.* (2005), com modificações. A tabela 1, apresenta os oligonucleotídeos utilizados neste estudo.

Tabela 1 - Oligonucleotídeos para detecção de DNA de *Salmonella* spp. (Sall) e *Salmonella* Enteritidis (SE) utilizados na qPCR.

Oligo	Gene	Sequência dos Oligos (5'→3')	Pb	Tm do oligo	Tm do Fragmento	Concentração Final
Sall-Fw	<i>invA</i>	GAGCGGAGGACAAATCCATA	119	54,3°C	84°C± 1°C	5µM
Sall-Rv	<i>invA</i>	CGATTTGAAGGCCGGTATTA	119	52,5°C	84°C± 1°C	5µM
SE- Fw	<i>Sdf1</i>	5' TTG ATG TGG TTG GTT CGT CAC T 3'	293	56,8°C	80°C± 1°C	10µM
SE-Rv	<i>Sdf1</i>	5' TCC CTG AAT CTG AGA AAG AAA AAC TC 3'	293	55,0°C	80°C± 1°C	10µM

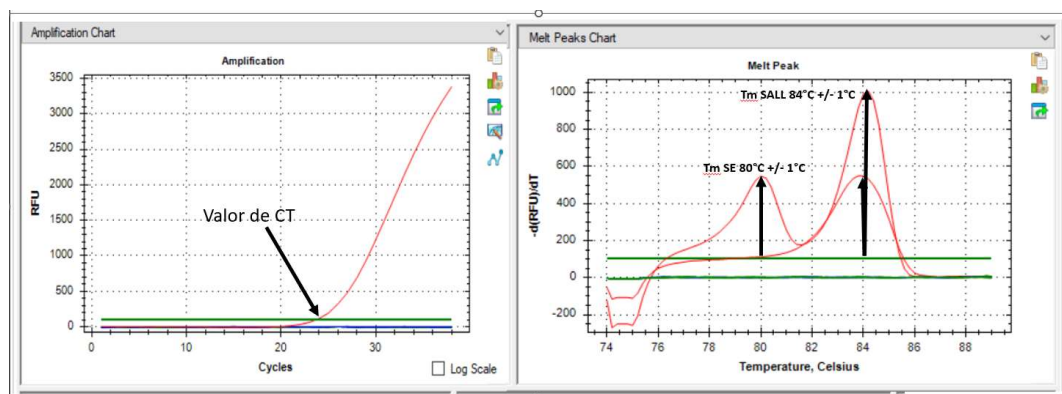
Fonte: Hoofar *et al.* (2000); Charlton *et al.* (2005).

A reação da qPCR foi realizada seguindo os protocolos definidos pelos protocolos do kit SsoFast™ *EvaGreen*® *Supermix* (Biorad Laboratories – Catalog#172-5202), utilizando o intercalante de DNA SYBR Green. A reação foi realizada no termociclador *Biorad CFX96 Thermal Cycle* (*Biorad Laboratories, Montreal, Quebec*). O ciclo se iniciou com a ativação da enzima a 95°C durante 3 minutos, em seguida uma etapa de desnaturação do DNA a 95°C por 10 segundos, hibridização e extensão das fitas a 62°C e uma etapa a 72°C por 10s. As etapas de

desnaturação, hibridização e extensão foram repetidas por 40 ciclos, e a reação foi concluída com uma etapa de *Melt Curve* (curva de desnaturação de DNA) com gradiente de temperatura de 74°C a 89°C e incrementos de 0,3°C por 3s. Para todos os testes foram utilizados os controles positivos: a) uma amostra de DNA purificado de *Salmonella enterica subsp. enterica* Enteritidis (ATCC 13076) para a validação da PCR, b) a amostra de *S. Coeln* (Grupo C: 1,4,[5],12;y:1,2), um isolado de campo que foi eleito e padronizado como controle do processo de cultivo. Em cada reação se utilizou dois tipos de controle negativo: a) o meio BPW ou TT para se verificar a boa prática de laboratório e possíveis contaminações cruzadas, b) água ultra pura livre de nuclease que foi utilizada para a extração de DNA das amostras presentes no MSR.V.

As reações foram consideradas positivas quando apresentaram amplificação de DNA ocorrendo uma interseção entre uma curva de amplificação e uma linha de limite ou Ct (*Cycle Threshold*) e temperatura de hibridização ou Tm (*Melt Temperature*) estabelecida. Para o Ct foi considerado como ponto de corte um RFU de 100, e para a Tm também como ponto de corte um  $-d(\text{RFU})/dt$  de 100. De acordo com o fragmento esperado para *S. Enteritidis* a Tm era de 80°C  $\pm$ 1°C e para *Salmonella* spp. a Tm era de 84°C  $\pm$ 1°C.

Figura 4. Gráficos de Amplificação de DNA (Ct) e Curva de Melting (Tm) dos controles positivos e negativos.



Fonte: Santos, Márcio Flávio Gereti dos (2023). Através do software *Bio-Rad CFX Maestro* (versão 2.3). Valores de Ct e Tm dos fragmentos de DNA amplificados nos controles internos positivos para *Salmonella* spp. (Tm: 84°C) e *Salmonella* Enteritidis (Tm: 80°C e 84°C).

Todas as amostras consideradas positivas na qPCR foram subcultivadas em placas contendo meios seletivos específicos para *Salmonella* spp. Diferentes meios

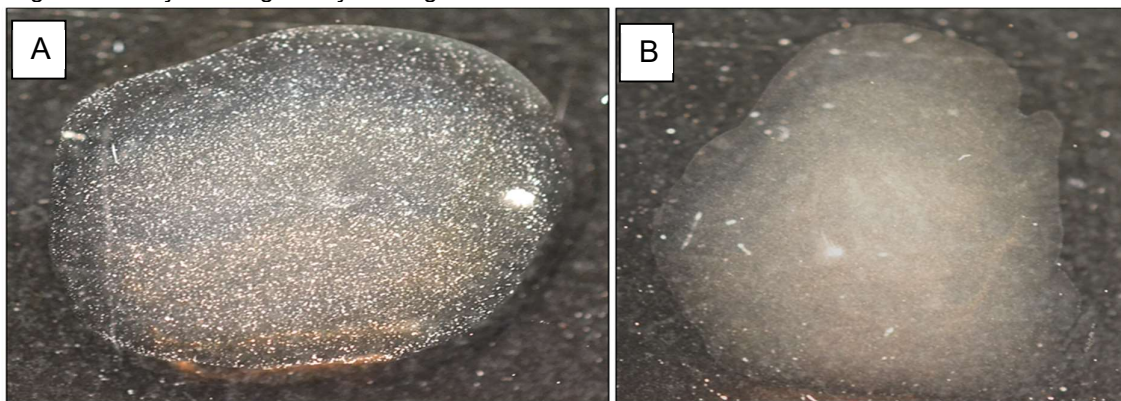


de cultivo foram utilizados, ou seja, o meio cromogênico ágar brilliance™ *Salmonella* (Oxoid-CM1092), com adição de suplemento seletivo de *Salmonella* (Oxoid-SR0194E), o ágar verde brilhante (Oxoid-CM0263) e o ágar xilose-lisina-tergitol 4 (XLT4) (Oxoid-CM1061B) com adição do suplemento seletivo XLT-4 (Oxoid-CMSR0237). Esses meios foram incubados à 37°C por 18 a 24 horas.

No quarto dia, de acordo com a morfologia das colônias que cresceram nos meios seletivos, aquelas suspeitas de *Salmonella* spp., foram semeadas em placa contendo Ágar Nutriente (Oxoid-CM0003) e incubadas à 37°C por 18 a 24 horas.

Então, no quinto dia de teste, se realizou a caracterização das colônias positivas de acordo com o esquema de classificação Kauffman-White-Le Minor (WHO, 2007) com o uso de antissoros para antígenos somáticos e flagelares. Nestes testes, as amostras foram coletadas com alças estéreis descartáveis de 1µL e misturadas a 5µL de antissoros polivalentes somáticos (Poly A-S+vi, OMA, OMB, OMC) e polivalentes flagelares (Poly-H, HMA, HMB, HMD) (*Statens Serum Institute* – Copenhagen, Dinamarca) utilizando lâminas de microscópio. Para determinarmos os sorotipos específicos também foram utilizados antissoros monovalentes somáticos (O:4 = Grupo B; O:6,7,8 = Grupo C1,C2,C3; O:9=Grupo D1, por exemplo) e monovalentes flagelares (H:i, H:d, H:g,m, H:l,v, por exemplo). O laboratório conta com aproximadamente 88 tipos de antissoros, entre somáticos (O) e flagelares (H), esse número garante a possibilidade de soro tipificação de mais de 200 sorotipos de *Salmonella*. A figura 5 mostra uma reação de aglutinação

Figura 5. Reação de Aglutinação antígeno-antissoro.



Fonte: Santos, Márcio Flávio Gereti dos (2023). Reação Positiva (A) e (B) Reação Negativa.

Quando não foi possível a identificação de algum antígeno somático (O) ou flagelar (H), uma série bioquímica foi realizada para a confirmação de *Salmonella* spp.,

para se verificar a possibilidade de ser alguma cepa sem flagelos (imóveis), ou seja, dos biotipos Gallinarum ou Pullorum, ambas pertencentes ao Grupo D.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período do estudo um total de 3.181 amostras de *pool* de animais pertencentes ao Filo Arthropoda foram recebidas das granjas A, B, C, D, E, e F. Dentro dos artrópodes coletados, foram obtidos alguns espécimes da Classe Insecta, das seguintes Ordens: Coleoptera (besouros), Diptera (mosca doméstica), Orthoptera (grilos) e Lepidoptera (mariposas e borboletas). Também foram coletados espécimes representantes de miriápodos, sendo eles pertencentes Classe Chilopoda – Scutigermorpha (centopeias) e Scolopendromorpha (lacraias) e da Classe Diplopoda – Polydesmida (piolho-de-cobra) (Rupert & Barnes, 2005).

O método padronizado e validado utilizou a triagem pela técnica de PCR em tempo real com método de microbiologia tradicional para o isolamento de *Salmonella* spp. As amostras que não apresentaram amplificação de DNA, foram consideradas negativas, enquanto aquelas que apresentaram amplificação de DNA foram consideradas suspeitas e o processo microbiológico tradicional foi realizado. As amostras somente foram consideradas positivas para *Salmonella* spp. após a soro tipificação feita com antígenos somáticos e flagelares e nomeadas de acordo com o Esquema Kauffman-White de Identificação de *Salmonella*.

Os resultados mostraram que 12,54% (n=399) das amostras se apresentaram positivas. Embora a GrA tenha enviado um número menor de *pool* de artrópodes (n=30), existiram cinco (05) amostras positivas ou 16,67%, ou seja, quando comparada com as demais granjas esta porcentagem foi bastante alta. As granjas B, C, D e F enviaram, respectivamente, 318, 841, 748 e 325 *pools* de insetos e apresentaram 19,50%, 14,63%, 18,32% e 11,38% amostras positivas, respectivamente. A GrE foi a unidade que mais enviou amostras (n=919) e foi o local com menos resultados positivos observados, com 3,80% dos artrópodes recebidos. Esses dados estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Resumo dos resultados das unidades.

Granja	Amostras (n)	Artrópodes Negativos	Artrópodes Positivos	% Positivos
A	30	25	5	16,67
B	318	256	62	19,50
C	841	718	123	14,63
D	748	611	137	18,32
E	919	884	35	3,80
F	325	288	37	11,38
<b>TOTAL</b>	3181	2782	399	12,54

Fonte: Santos, (2023).

Legenda: Número de amostras, artrópodes negativos e positivos e percentual total de positivos para *Salmonella* spp. por granja no período entre 2015 e 2022.

Na tabela 3 é possível se visualizar o ano de 2016 como sendo o com maior prevalência de amostras positivas (22%), mesmo sendo um dos anos com número menor de amostras analisadas (n=263). Diferente de 2019 que foram recebidas 165 amostras a menos do que em 2019, e, mesmo assim, apresentou o percentual mais baixo de *pool* de artrópodes positivos para *Salmonella* spp. (7%). Esses resultados podem ser consequência do treinamento de todas as equipes das granjas, que iniciou em 2015 e rotineiramente já estavam enviando amostras para o laboratório. A tabela 4 apresenta o número de amostras recebidas por ano e por granja.

Tabela 3 – Incidência de positivos por ano.

Ano	Número de amostras (n)	Nº positivos / % Positivos
2015	469	84 / 18
2016	263	57 / 22
2017	151	28 / 19
2018	296	32 / 11
2019	438	30 / 7
2020	471	56 / 12
2021	525	42 / 8
2022	568	68 / 12

Fonte: Santos, (2023).

Legenda: Percentual do número de amostras positivas de *pool* de artrópodes por ano.

Tabela 4 – Resultados totais de cada unidade nos anos estudados. Número de amostras, artrópodes positivos e percentual total de positivos para *Salmonella* spp. por granja e ano no período entre 2015 a 2022.

Ano	GrA NºAmostras/ Positivos	GrB NºAmostras /Positivos	GrC NºAmostras /Positivos	GrD NºAmostras/ Positivos	GrE NºAmostras/ Positivos	GrF NºAmostras/ Positivos	% Positivos ano
2015	0/0	12/2	390/54	38/26	8/0	21/3	18
2016	4/0	23/13	56/6	87/29	35/9	58/0	22
2017	7/1	19/7	8/1	84/17	14/2	19/1	19
2018	3/0	28/2	80/18	98/9	69/3	18/2	11
2019	3/0	35/2	49/8	119/13	217/5	15/1	7
2020	4/1	48/8	95/14	113/15	189/6	22/13	12
2021	2/0	90/14	113/14	95/8	187/1	38/5	8
2022	7/3	63/14	50/8	114/20	200/9	134/12	12
Total	30/5	318/62	841/123	748/137	919/35	325/37	3.181/12,54

Fonte: Santos, (2023).

Legenda: Número de amostras, artrópodes positivos e percentual total de positivos para *Salmonella* spp. por granja e ano no período entre 2015 e 2022.

Também é possível se observar que no decorrer dos anos, o número de amostras coletadas aumentou em quase todas as granjas, com alguma variação

inferior em alguns casos. Na GrC, onde a amostragem começou (projeto piloto), e por isso as pessoas estavam treinadas a mais tempo conhecendo a importância dos artrópodes como veículos de *Salmonella* spp., o número de amostras começou bastante alto (n=390) em 2015, ocorrendo um alto número de amostras positivas (n=54). Dessa forma, conhecendo a incidência de *Salmonella* spp. houve um aumento do nível de biossegurança e possivelmente isso explicaria a diminuição no número de animais coletados nos anos de 2017 a 2019, mas nos anos de 2020 e 2021 hipoteticamente, houve um aumento inesperado na coleta desses animais.

A GrA, é a que apresentou o menor número de amostras em comparação com as demais granjas, uma possível explicação para isso é que essa granja fica mais próxima de área urbana apresentando um número menor de artrópodes no seu ambiente. No entanto, essa é a unidade que apresentou uma porcentagem de 16,67% amostras positivas durante o período de estudo, sendo a terceira granja com maior incidência, fato que pode ser decorrente da proximidade dessa unidade com propriedades vizinhas, que possuem aves e outros animais em suas dependências, podendo colaborar com a contaminação desses artrópodes.

Nesse trabalho foram encontrados 67 sorotipos diferentes. Em sete (07) cepas não foi possível a identificação correta (1,75%), duas (02) cepas apresentavam o fenótipo de colônia rugosa (0,6%), ou seja, auto aglutinantes impossibilitando a classificação, e em cinco (05) cepas (1,25%) foram identificadas apenas com os antígenos somáticos e flagelares polivalentes, não sendo possível a identificação do sorotipo. A tabela 5 mostra estes resultados.

Tabela 5 – Sorotipos encontrados nas granjas.

Sorotipo	Grupo	GrA	GrB	GrC	GrD	GrE	GrF	TOTAL
S. Newport	C2-C3	0	4	5	19	4	1	10,5%
S. Oraniemburg	C1	0	6	11	4	0	1	7,0%
S. Infantis ou S. Virchow	C1	0	4	12	3	0	1	6,4%
S. Javiana	D1	0	6	4	9	0	0	6,1%
S. Saintpaul ou S. Sandiego	B	0	2	6	4	1	1	4,5%
S. Miami ou S. Panama ou S. Javiana	D1	0	1	1	7	2	2	4,1%
S. Panama	D1	0	2	1	3	5	0	3,5%
S. Miami	D1	0	1	0	1	1	8	3,5%
S. Minnessotta	L	0	1	0	9	0	0	3,2%
S. Idikan	G	0	1	0	9	0	0	3,2%
S. Cerro	K	0	0	0	0	3	6	2,9%
S. Hadar ou Glostrup	C2-C3	0	4	0	1	3	0	2,5%
S. Infantis ou S. Bareilly	C1	0	0	3	0	1	4	2,5%
S. Muenchen	C2-C3	0	0	0	6	1	0	2,2%
S. Muenchen ou S. Newport	C2-C3	0	0	0	4	2	0	1,9%
S. Madelia	H	1	2	1	0	0	1	1,6%
7:PolyH	C1	0	1	2	1	0	1	1,6%
S. Mbandaka	C1	1	0	0	2	0	2	1,6%
S. Abaetetuba	F	0	4	0	0	0	1	1,6%
S. Schwarzengrund	B	0	0	0	4	0	1	1,6%
S. Rubislaw	F	0	0	0	4	0	0	1,3%
S. Bovismorbificans	C2-C3	0	0	0	0	0	4	1,3%
S. Sandiego	B	0	0	2	0	2	0	1,3%
S. Infantis	C1	0	0	1	1	0	1	1,0%
S. Othamarschen ou S. Oraniemburg	C1	0	2	1	0	0	0	1,0%
S. Saphra	I	0	0	0	3	0	0	1,0%
S. Senftenberg	E4	1	0	0	1	1	0	1,0%
30:i	N	1	0	1	0	0	1	1,0%

4,5,12:i	B	0	0	0	3	0	0	1,0%
6,8:e,h	C2-C3	0	3	0	0	0	0	1,0%
PolyA-S+Vi:PolyH	?	0	0	1	2	0	0	1,0%
S. Corvallis	C2-C3	0	1	0	0	0	1	0,6%
S. Give	E1	0	1	0	1	0	0	0,6%
S. Kentucky	C2-C3	0	2	0	0	0	0	0,6%
S. Norwich	C1	0	0	1	0	0	1	0,6%
S. Othamarschen	C1	0	1	1	0	0	0	0,6%
S. Poona	G	0	2	0	0	0	0	0,6%
S. Rugosa	?	0	0	0	2	0	0	0,6%
7	C1	0	0	2	0	0	0	0,6%
16:PolyH	I	0	0	0	1	1	0	0,6%
4,5,12:PolyH	B	0	0	0	1	1	0	0,6%
8:PolyH	C2-C3	0	1	1	0	0	0	0,6%
9,12:PolyH	D1	0	1	0	0	0	1	0,6%
S. Adelaide	O	0	1	0	0	0	0	0,3%
S. Agona	B	0	0	0	1	0	0	0,3%
S. Alachua ou Ila	O	0	1	0	0	0	0	0,3%
S. Anatum	E	0	0	1	0	0	0	0,3%
S. Ball	B	0	0	0	1	0	0	0,3%
S. Djibout	J	0	0	0	0	0	1	0,3%
S. Enteritidis	D1	0	0	0	0	1	0	0,3%
S. Havana	G	0	0	0	0	0	1	0,3%
S. Morehead	N	0	0	1	0	0	0	0,3%
S. Muenchen ou S. Anatum	C2-C3	0	0	0	1	0	0	0,3%
S. Oraniembrug ou S. Othamarschen	C1	0	1	0	0	0	0	0,3%
S. Panama ou S. Javiana	D1	0	0	1	0	0	0	0,3%
S. Saintpaul ou S. Sandiego ou S. Heidelberg	B	0	0	0	1	0	0	0,3%
10:7	E1	0	0	1	0	0	0	0,3%
11:i	F	0	0	1	0	0	0	0,3%
13,22,23:z	G	0	0	0	1	0	0	0,3%
13,22,23:PolyH	G	0	1	0	0	0	0	0,3%

16;Z4:z23	I	0	0	0	0	1	0	0,3%
19:PolyH	E4	0	0	1	0	0	0	0,3%
30;l:z28	N	0	0	1	0	0	0	0,3%
40:PolyH	R	0	0	1	0	0	0	0,3%
6,14,25:PolyH	H	1	0	0	0	0	0	0,3%
6,8:d	C2-C3	0	0	1	0	0	0	0,3%
7:5	C1	0	1	0	0	0	0	0,3%
7:G:m:t	C1	0	0	0	1	0	0	0,3%
8:e,h	C2-C3	0	0	0	0	1	0	0,3%
OME:PolyH	?	0	0	0	0	1	0	0,3%
OMG:HMA	?	0	0	1	0	0	0	0,3%

---

Fonte: Santos, (2023).

Legenda: Número total e percentual total de sorotipos encontrados por granja.

Em uma das amostras foi isolada e identificada *S. Enteritidis* (Grupo D1), um sorotipo amplamente estudado, que já se mostrou bastante persistente em ambientes e artrópodes em granja de aves reprodutoras, o fago tipo 4 dessa *Salmonella* (PT4) pode persistir no solo por 8 meses, e esse sorotipo já foi encontrado em larvas e animais adultos de besouros e centopeias (Davies e Breslin, 2003). É um sorotipo endêmico em alguns países e faz parte do controle sanitário e de programas de governo, como o Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) do MAPA, que declara este sorotipo como sendo de notificação obrigatória em plantéis de aves de produção. Além de *S. Enteritidis*, há outros três sorotipos que possuem a mesma exigência, sendo eles: *S. Typhimurium* (Grupo B), *S. Gallinarum* (Grupo D), e *S. Pullorum* (Grupo D).

O sorotipo 4,[5],12:i-, conhecido como *S. Typhimurium* monofásica, também foi isolada em três dos *pools* de artrópodes estudados, primeiramente reportado nos anos 80s com um aumento na sua prevalência no final dos anos 90s em humanos e animais (Fernandes *et al.*, 2022), este sorotipo é de grande relevância e tem sido um dos sorotipos emergentes na avicultura, que também foi descrito como um sorotipo de



grande importância em saúde pública por causar doença em humanos (Sun *et al.*, 2020). *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, e *S. Typhimurium* monofásica já foram descritas como os três sorotipos mais comumente reportados em 2017 de acordo com a Autoridade de Segurança Alimentar Europeia (EFSA, 2018).

Foi encontrado também *S. Senftenberg*, amplamente difundida nas aves, equipamentos, ingredientes e linha de produção, devido ao fato que esse sorotipo pode, entre outros fatores, apresentar resistência a altas temperaturas quando comparado a outros sorotipos como *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, *S. Mission*, *S. Montevideo* e *S. California*, assim como resistência a desinfetantes por ter capacidade de formação de biofilmes. Esse sorotipo pode ser considerado como um bom alvo de investigações futuras (Sestak, 2013).

De todos os resultados obtidos, em 13,1% dos isolados só foi possível encontrar os grupos somáticos, em algumas amostras foram encontradas também as proteínas flagelares, mas novas investigações seriam necessárias para se estabelecer os sorotipos dessas amostras. Uma pequena parte dos resultados presuntivos de isolados de *S. enterica* podem ter a falta dos antígenos somáticos O ou podem ter a falta de ambos antígenos O e H. Alguns laboratórios podem apresentar próximo de 10% de cepas que precisam de verificações mais profundas a nível de espécie (Hoorfar, J; Ahrens, P; Radstrom, P, 2000).

Nenhuma amostra se tratava de *Salmonella* imóvel (*S. Gallinarum* e *S. Pullorum*) ambas do Grupo D, a primeira causadora da febre tifóide, a segunda causadora da pulrose, ambas consideradas sorotipos adaptados ao hospedeiro, causando doenças nesses animais e raramente em humanos (Ferrari, *et al.*, 2019). Ambas foram erradicadas em muitos países, principalmente nos que possuem galpões fechados e bom gerenciamento da produção, mas em outros países seguem sendo um grande problema, como em países na América do Sul que é o caso do Brasil, onde ainda há a presença dos dois sorotipos (Zanetti, *et al.*, 2019). Ou em outros locais do mundo como mostra o estudo que indicou *Salmonella* grupo D como sendo o maior grupo encontrado e *S. Pullorum* como sendo o sorotipo mais comum em aves doentes ou com aparência saudáveis na China central (Wang, *et al.*, 2020).

Dentre os isolados, os sorotipos *S. Newport*, *S. Oranienburg*, *S. Infantis* ou *S. Virchow*, *S. Javiana*, *S. Saintpaul* ou *S. Sandiego*, se mostraram os mais prevalentes nos ambientes amostrados. Observa-se a maior presença de *Salmonella* Grupo C

(C1, C2 e C3) perfazendo um total de 23,9% das amostras positivas, seguidos do Grupo D1 (6,1%) e Grupo B (4,5%). Na tabela 6 se encontram estes resultados.

Tabela 6 – Prevalência dos sorotipos isolados.

Sorotipo	Grupo	Prevalência
S. Newport	C2-C3	10,5%
S. Oranienburg	C1	7%
S. Infantis ou Virchow	C1	6,4%
S. Javiana	D1	6,1%
S. Saintpaul ou S. Sandiego	B	4,5%

Fonte: Santos, (2023).

Legenda: Sorotipos, grupos e prevalência.

O sorotipo mais prevalente no estudo foi *S. Newport* com 10,5% do total de amostras positivas de *pool* de artrópodes, o que vai de encontro com estudos recentes de meta-análise que aponta que o sorotipo mais prevalente na Ásia, América Latina, Europa e África como sendo *S. Enteritidis* (Ferrari, *et al.*, 2019). Entre 2004 e 2020 a *S. Newport* ficou entre os 10 sorotipos mais identificados em infecções de origem humana no estado de São Paulo, ficando em sexto lugar no isolados de sangue, fezes e urina (Fernandes, *et al.*, 2022).

Ambas *S. Newport* e *S. Javiana* apareceram entre os dez sorotipos mais encontrados nesse mesmo estudo realizado entre 2004 a 2020, e mostraram um grande aumento nos casos de isolados em humanos (Fernandes, *et al.*, 2022).

A *Salmonella* Oranienburg, que foi o segundo sorotipo mais encontrado nesses artrópodes, já foi descrito como sendo formador de biofilme em superfícies de casca de ovos, indicando sua habilidade de sobrevivência em ambientes com condições físicas e químicas adversas, com isso apresentando potencial risco de saúde pública (Babu, *et al.*, 2018).

Outro sorotipo encontrado que também é de grande relevância é a *S. Infantis* (Grupo C1), que aqui apareceu em aproximadamente 6,4% dos casos positivos e tem sido reportada também em humanos, outros ambientes de granjas de avicultura e comidas em geral. Essa *Salmonella* aparece como sendo uma das mais frequentes e é uma das 15 mais isoladas de fonte humanas. (Kipper, *et al.*, 2022). Surtos causados

por *S. Infantis* também tem sido associados a comidas para pets, e os principais reservatórios animais são aves e porcos. É uma *Salmonella* muito comum também em um grande número de países e conhecido como um sorotipo bastante invasivo especialmente para crianças (Santos *et al.*, 2022).

Os meses de outubro a fevereiro de todos os anos estudados, foram os que apresentaram o maior número de amostras, com uma média de 369 *pools* nesses cinco meses. Tais meses também foram os que mais apresentaram resultados positivos para *Salmonella*, sendo a maior positividade nos meses de Janeiro e Fevereiro, cada um com 20% das amostras. Isso pode estar relacionado com o fato de que em outubro/novembro se inicia o período da revoada dos insetos e outros artrópodes para acasalamento e dispersão, quando ocorre as primeiras chuvas em outubro e fenômeno que termina com as última chuvas de maio, com maior intensidade em outubro (Medeiros, 2000).

Durante esse período o número desses animais aumenta extremamente, e os adultos, durante a cópula, ocupam quase completamente todo e qualquer tipo de vegetação que exista nas áreas onde estão (Oliveira *et al.*, 2013). Sabe-se que em regiões como Mato Grosso do Sul, algumas espécies apresentam maiores número de adultos entre novembro e janeiro, existindo maior incidência em dezembro, coincidindo com o período chuvoso (Oliveira & Malaguido, 2004). Esses fatos podem explicar a razão de maiores números de *pools* enviados e número de amostras positivas. A partir do mês de junho, os números de artrópodes começam a diminuir consideravelmente, assim como o percentual de *pools* positivos para *Salmonella*, chegando a agosto e setembro como os meses que apresentaram a menor taxa de amostras coletadas, coincidindo com o fato de esses meses serem um dos mais secos dos anos. Mais interessante é o fato de que em agosto nenhuma amostra foi positiva para *Salmonella*. A tabela 7 mostra estes resultados.

Tabela 7 – Incidência de positivos por mês.

<b>Mês</b>	<b>Número amostras (n)</b>	<b>% Positivos</b>
Janeiro	217	20
Fevereiro	249	20
Março	186	13
Abril	207	12
Maiο	241	11
Junho	215	6
Julho	183	7
Agosto	159	0
Setembro	144	3
Outubro	392	15
Novembro	579	13
Dezembro	409	17
<b>TOTAL</b>	<b>3181</b>	

Fonte: Santos, (2023).

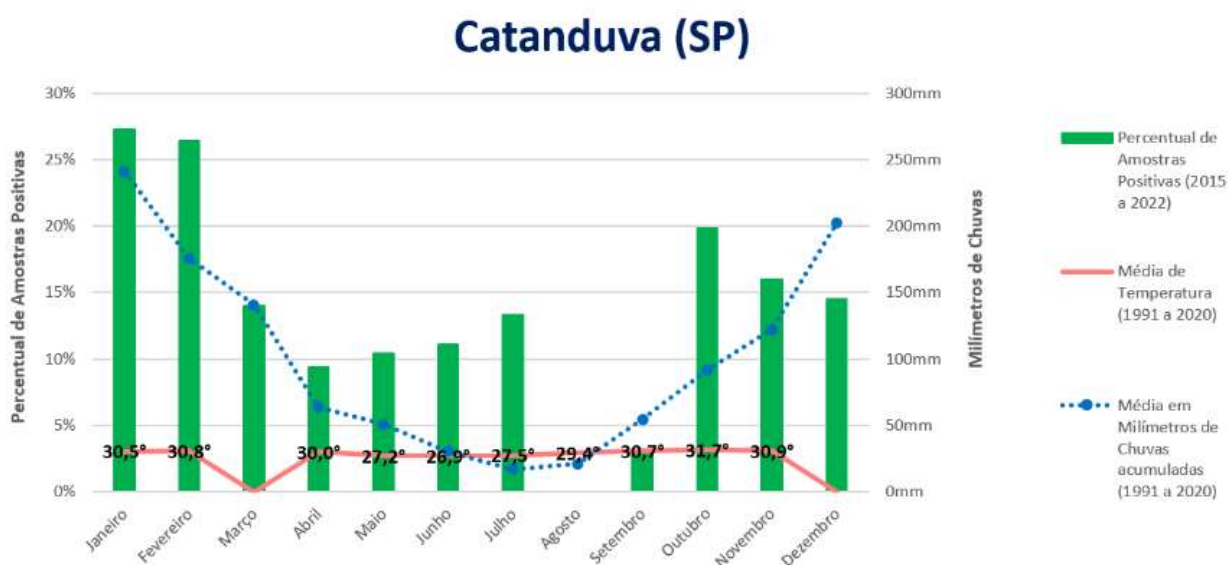
Legenda: Percentual de pool de artrópodes positivos por mês. Cada mês representa o total de amostras considerando todos os anos desde 2015 até 2022.

Outro fato relacionado a essa maior incidência de amostras positivas reside no fato de que além das chuvas e da revoada, a temperatura desempenha um papel fundamental no ciclo de vida dos artrópodes e principalmente nos insetos. Foi demonstrado por Chernaki & Almeida (2001), que na fase de ovo, larva e pupa de insetos chamados cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*), quanto maior a temperatura, mais rápido é o ciclo de vida desses animais, variando de 70,1 dias na fase larval a 22°C, até a 18,6 dias em temperatura de 31°C. E que o maior percentual de sobrevivência desses animais está em condições de temperaturas mais altas, variando de 66,7% em temperaturas de 22°C para 86,7% a 31°C durante a mesma fase da vida. Esse fato também pode explicar que nas granjas das regiões estudadas, por possuírem uma média anual de temperatura próxima de 30,0°C, esses animais possuem uma atividade maior em comparação a outras regiões do Brasil com temperaturas mais amenas.

Com base nas informações contidas no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2023), no período de 1991 a 2020, na cidade de Catanduva/SP

que fica a 57 Km da GrA, a 113 Km da GrB, e 133 Km da GrC, os regimes de chuvas foram maiores nos meses de novembro a março, com uma média de 176,5mm nesses meses, diminuindo consideravelmente nos demais meses do ano, pois entre abril a outubro a média é de 47,0mm. As temperaturas médias também acompanham as mesmas tendências com médias de 30,7°C de novembro a março, e de abril a outubro é de 28,6°C (INMET). Essa variação pode ser vista no gráfico 1 que também apresenta as médias de amostras nessas granjas.

Gráfico 1 - Regime de temperatura e chuvas em Catanduva-SP e número de amostras positivas.



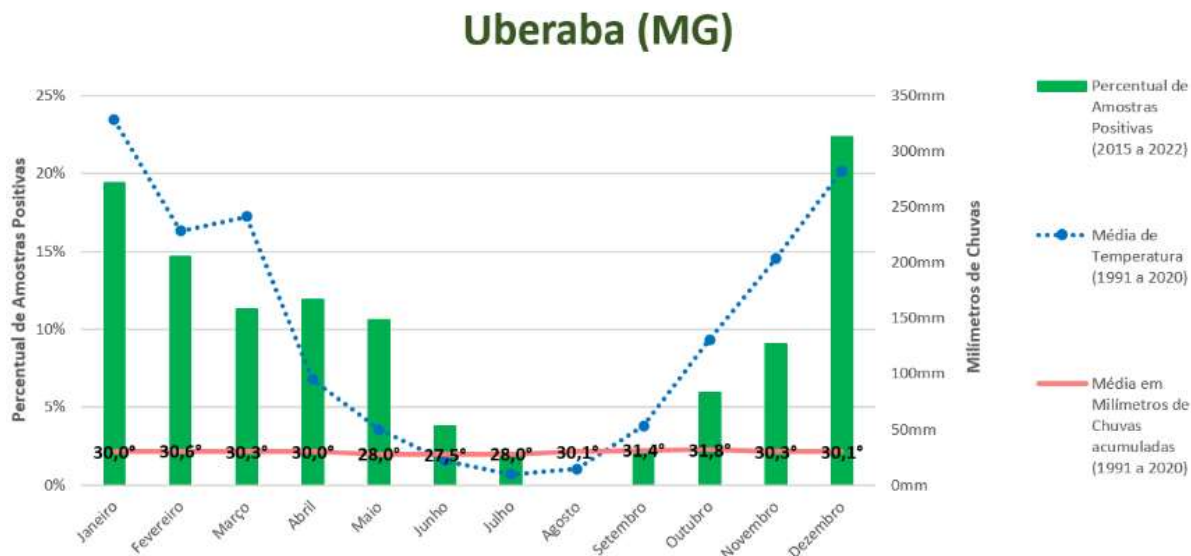
Fonte: Elaborado pelo autor, (2023). Soma das temperaturas médias entre os anos de 1991 e 2020, assim como, a soma de médias de chuvas acumuladas neste período, em cada mês do ano, na cidade de Catanduva (SP). E média do número de amostras positivas coletadas entre 2015 e 2022 nas granjas A, B e C localizadas nesta região.

No mês de agosto de todos os anos estudados, não houve envio de amostras, por isso, nos gráficos não constam essa informação. Algumas medições do INMET também não constam no site oficial, como acontece para a temperatura no mês de março.

Também de acordo com este Instituto, no mesmo período de anos, os meses de novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março são os meses que mais mostraram precipitação acumulada, com uma média de 256,7mm de chuva na cidade de Uberaba/MG, localizada 180 km da GrE e a 207 Km da GrD. Já os meses de abril a outubro são os com menores médias de precipitação com 53,5mm de chuva nos

mesmos meses. As temperaturas médias, também são mais amenas nos meses de maio a julho, com uma média de 27,8°C, enquanto nos meses de agosto a abril a média é de 30,5°C. O gráfico 2 apresenta estes resultados.

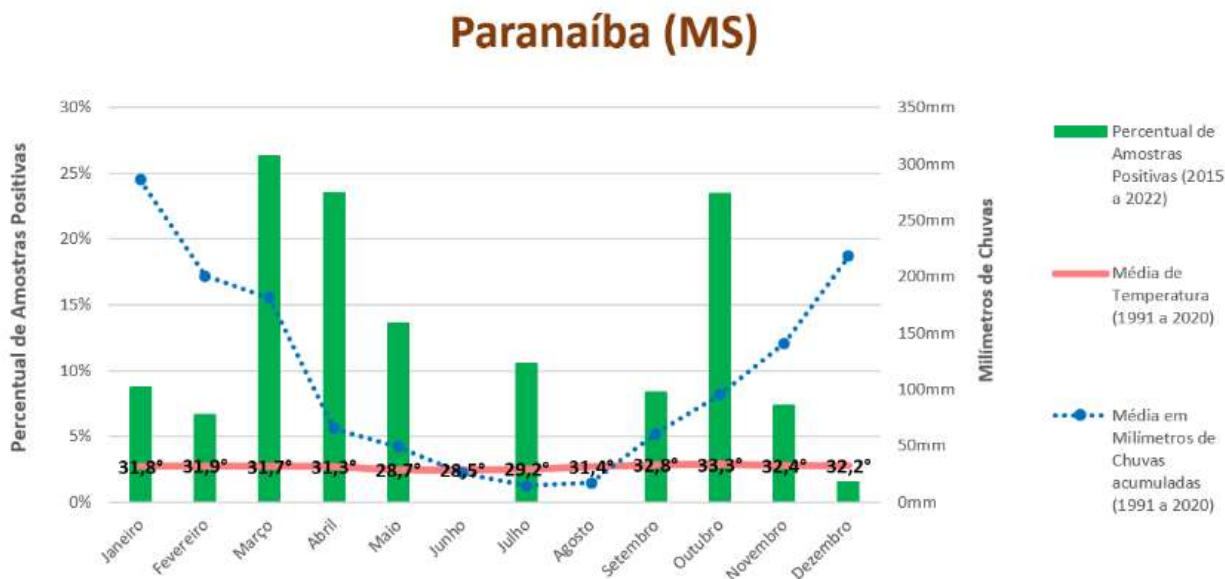
Gráfico 2 – Regime de temperatura e chuvas e o número de amostras positivas para Uberaba.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2023). Soma de temperaturas médias entre os anos de 1991 e 2020, e médias de chuvas acumuladas neste período na cidade de Uberaba (MG), em cada mês do ano. E média do número de amostras positivas coletadas entre 2015 e 2022 nas granjas D e E localizadas no Estado de MG.

Já na cidade de Paranaíba/MS, localizada a 215Km da GrF, os maiores índices pluviométricos, de acordo com o INMET, foram nos meses de novembro a março com precipitação acumulada média de 205,4mm, e de abril a outubro a média foi de 46,7mm. E a temperatura média de 28,8°C de maio a julho, e de 32,1°C nos meses de agosto a abril. Estes resultados se encontram no gráfico 3.

Gráfico 3. Regime de temperatura e chuvas e o número de amostras positivas para Paranaíba.



Fonte: Elaborado pelo autor, (2023). Soma de temperaturas médias entre os anos de 1991 e 2020, e médias de chuvas acumuladas na cidade de Paranaíba (MS), em cada mês do ano. E média do número de amostras positivas coletadas entre 2015 e 2022 na granja F localizada no Estado de MS.

Apesar da variação das temperaturas médias nos três locais medidos são serem tão significantes, mantendo quase a mesma média mensal, como demonstrado anteriormente, apenas um pequeno aumento nesse parâmetro pode significar um grande aumento no sucesso de sobrevivência e diminuição do tempo de ciclo de vida dos artrópodes. Esse fato ajudaria no aumento do número de indivíduos e maior dispersão em locais de produção avícola, aliado aos períodos chuvosos que começam em outubro/novembro, período em que começam também as revoadas para acasalamento desses animais.

A biossegurança no sistema de produção avícola considera diversas medidas que tem o papel fundamental de gerenciar e diminuir os riscos de introdução e disseminação de enfermidades nas granjas. Essas medidas incluem diferentes ações e dentre elas o controle de pragas, que além de roedores e outros animais também incluem insetos e outros pequenos artrópodes. Devido ao seu estilo e ciclo de vida, os insetos podem ser facilmente contaminados por bactérias, se tornando vetores mecânicos de microrganismos potencialmente patogênicos (Bertelloni, *et al.*, 2023).

Devido à escassez de estudos, informações sobre a distribuição e persistência de *Salmonella* spp. entre artrópodes presentes em granjas se concentram principalmente em moscas e pequenos besouros (Wales, *et al.*, 2010). Faltando mais

estudos sobre outros pequenos artrópodes presentes em granjas de produção para entendermos melhor a dinâmica e atividades desses animais.

No entanto, conforme mostrado no presente estudo, outros artrópodes também são carreadores dessa bactéria, e mais estudos devem ser realizados, pois não está completamente claro o papel desses animais como sendo vetores para a transmissão de *Salmonella* spp. é necessário se fazer uma correlação entre artrópodes positivos e os lotes de aves contaminados com o mesmo sorotipo dos artrópodes.

Os resultados obtidos mostram que o ambiente externo aos galpões apresenta um risco em potencial para a contaminação de *Salmonella* spp. nas aves. Dessa forma, as medidas de biossegurança, o controle desses animais e outras pragas realmente devem ser colocadas em prática todos os dias, gerenciadas e mantidas como uma dos principais fatores para evitar a entrada de patógenos nas granjas de aves de produção.

## 6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados mostrados, os artrópodes em questão realmente podem ser considerados veículos passivos de *Salmonella*. Inclusive de sorotipos importante causadores de doença no homem (*S. Newport*, *S. Infantis*, *S. Javiana*, *S. Typhimurium* monofásica).

Os regimes pluviométricos colaboram com o maior número de artrópodes encontrados e também de positivities nessas amostras.

A biossegurança dos sistemas de produção avícola deve ser bastante alta para evitar que esses animais possam entrar nos galpões e serem possíveis fonte de contaminação nos lotes de produção.

Esse trabalho é pioneiro e um dos poucos da área existentes no Brasil. O estudo realizado com artrópodes sendo veículos e/ou vetores de enfermidades no setor avícola baseia-se muito em espécies mais conhecidas, como é o caso de moscas, cascudinhos, e alguns outros besouros. As observações contidas aqui podem abrir discussões e estudos futuros para uma epidemiologia mais assertiva na disseminação de *Salmonella* por tais agentes no setor de produção avícola.



## REFERÊNCIAS

ABPA, Associação Brasileira de Proteína Animal Disponível em: <https://abpa-br.org/>. Acesso em: 10 de Julho de 2023.

ALBUQUERQUE; ITO, KATAYAMA, N.M; MIYAJI, C.I. Estudo da ocorrência de salmonelas em ingredientes, rações e suaves de pó colhidos em uma fábrica industrial de ração. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, p. 324-326, 1999.

ALMEIDA, F., *et al.* Genotypic diversity, pathogenic potential and the resistance profile of Salmonella Typhimurium strains isolated from humans and food from 1983 to 2013 in Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, v. 64, n. 11, p. 1395-1407, 2015.

ALLEY, M. R.; CONNOLLY, J. H.; FENWICK, S. G., *et al.* An epidemic of salmonellosis caused by Salmonella Typhimurium DT160 in wild birds and humans in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 50, n 5, p. 170-176, 2015.

ALMEIDA, F.; SERIBELLI, A. A.; DA SILVA, P., *et al.* Multilocus sequence typing of Salmonella Typhimurium reveals the presence of the highly invasive ST313 in Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 51, p. 41-44, 2017.

ANSARI-LARI, M., Hosseinzadeh, S., Manzari, M., & Khaledian, S. (2022). Survey of Salmonella in commercial broiler farms in Shiraz, southern Iran. **Preventive Veterinary Medicine**, 198, 105550.

ASHTON., *et al.* Public health surveillance in the UK revolutionises our understanding of the invasive Salmonella Typhimurium epidemic in Africa. **Genome Medicine**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2017.

ASSESSMENT, JOINT ECDC-EFSA RAPID OUTBREAK. Multi-country outbreak of Salmonella Enteritidis infections linked to eggs, fourth update. 2020.

AXTELL, R. C.; ARENDS, J. J. Ecology and management of arthropod pests of poultry. **Annual Review of Entomology**, v. 35, n. 1, p. 101-126, 1990.

AWAAD., *et al.* Some epidemiological aspects of Salmonella gallinarum infection in Japanese quail (*Coturnix coturnix Japonica*). **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B**, v. 28, n. 9-10, p. 704-712, 1981.

BABU, Uma S. *et al.* In vivo and in vitro evaluation of tissue colonization and survival capacity of Salmonella Oranienburg in laying hens. **Poultry science**, v. 97, n. 9, p. 3230-3235, 2018.

BANJO, A. D.; LAWAL, O. A.; ADEDUJI, O. O. Bacteria and fungi isolated from housefly (*Musca domestica* L.) larvae. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n. 8, p. 780-784, 2005.

BELDING, R. C. The incidence of *Salmonella Pullorum* in wild pheasants in southern Michigan. **Poultry Science**, v. 34, n. 6, p. 1441-1444, 1955.

BERCHIERI, J. A.; MURPHY, C. K.; MARSTON, K.; BARROW, P. A. Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: Effect of bacterial and host genetic background. **Avian Pathology**, v. 30, n. 3, p. 221-231, 2001.

BERCHIERI JR, A. *et al.* Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: effect of bacterial and host genetic background. **Avian pathology**, v. 30, n.3, p. 221-231, 2001.

BERCHIERI, J. A.: NETO, O. C. F. Salmoneloses. **Doença das Aves**. 2. Ed. Campinas FACTA, 2009. 436p.

BERGER, C. N., *et al.* Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. **Environmental microbiology**, 12(9), 2385-2397, 2010.

BERKLEY, J.A.; LOWE, B. S.; MWANGI, I., *et.al.* Bacteremia among children admitted to a rural hospital in Kenya. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, p. 39–47, 2005.

BERTELLONI, F. *et al.* House flies (*Musca domestica*) from swine and poultry farms carrying antimicrobial resistant Enterobacteriaceae and *Salmonella*. **Veterinary Sciences**, v.10, n.2, p. 118, 2023.

BEYAZ, L.; ATASEVER, A.; AYDIN, F., *et.al.* Pathological and clinical findings and tissue distribution of *Salmonella Gallinarum* infection in turkey poults. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v. 34, n. 2, Article 1, 2010. <https://doi.org/10.3906/vet-0707-1>.

BLAZAR, J.; ALLARD, M.; LIENAU, E. K. Insects as vectors of foodborne pathogenic bacteria. **Terrestrial Arthropod Reviews**, v. 4, n. 1, p. 5-16, 2011.

BORELLI, L.; FIORETTI, A.; RUSSO, T. P., *et.al.* First report of *Salmonella enterica* serovar Infantis in common swifts (*Apus apus*). **Avian Pathology**, v. 42, n. 4, p. 323-326, 2013. DOI: 10.1080/03079457.2013.799262

BORMAN, E. K.; STUART, C. A.; WHEELER, K. M. Taxonomy of the family Enterobacteriaceae. **Journal of Bacteriology**, v. 48, p. 351-367, 1944.

BUCHHOLZ, P. S.; FAIRBROTHER, A. Pathogenicity of *Salmonella pullorum* in northern bobwhite quail and mallard ducks. **Avian Diseases**, v. 36, n. 2, p. 304-312, 1992.

BUMSTEAD, N.; BARROW, P. Resistance to *Salmonella gallinarum*, *S. pullorum*, and *S. enteritidis* in inbred lines of chickens. **Avian Diseases**, p. 189-193, 1993.

CALENGE, F. *et al.* Genetic control of resistance to salmonellosis and to *Salmonella* carrier-state in fowl: a review. **Genetics Selection Evolution**, v. 42, n. 1, p. 1-11, 2010.

CAMPOS, L. C. **Microbiologia**, 4 ed. Atheneu, São Paulo. 2005.

CANSON, J. A.; COX, N. A.; BAILEY, J. S. Transmission of *Salmonella typhimurium* during hatching of broiler chicks. **Avian Diseases**, v. 38, p. 583-588, 1994.

CARDOSO, M. D.; SANTOS, A. F. D. M.; RODRIGUES, M. D. S., *et. al.* *Salmonella* spp. profiles isolated from seabird samples from the Brazilian coast. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 193, 2021. doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105413.

CHARLTON, B. R. *et al.* Comparison of a *Salmonella* Enteritidis-specific polymerase chain reaction assay to delayed secondary enrichment culture for the detection of *Salmonella* Enteritidis in environmental drag swab samples. **Avian diseases**, v. 49, n.3, p. 418-422, 2005.

CHEN, B.; DU, K.; SUN, C., *et.al.* Gut bacterial and fungal communities of the domesticated silkworm (*Bombyx mori*) and wild mulberry-feeding relatives. **The ISME Journal**, v. 12, n. 9, p. 2252-2262, 2020.

CHERNAKI, A. M.; ALMEIDA, L. M. Exigências térmicas, período de desenvolvimento e sobrevivência de imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 365-368, 2001.

CHOO, L. C.; SALEHA, A. A.; WAI, S. S.; FAUZIAH, N. Isolation of *Campylobacter* and *Salmonella* from houseflies (*Musca domestica*) in a university campus and a poultry farm in Selangor, Malaysia. **Trop. Biomed**, v. 28, n. 1, p. 16-20, 2011.

CHRISTENSEN, J. P.; OLSEN, J. E.; BISGAARD, M. Ribotypes of *Salmonella enterica* serovar *Gallinarum* biovars *gallinarum* and *pullorum*. **Avian Pathology**, v. 22, n. 4, p. 725-738, 1993.

CONNOLLY, J. H.; ALLEY, M. R.; DUTTON, G. J.; ROGERS, L. E. Infectivity and persistence of an outbreak strain of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT160 for house sparrows (*Passer domesticus*) in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 54, n.6, p. 329-332, 2006.

COX, N. A.; BAILEY, J. S.; MAULDIN, J. M.; BLANKENSHIP, L. C. Research Note: Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. **Poultry Science**, v. 69, p. 1606-1609, 1990.

COX, N. A. *et al.* Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. **Poultry science**, v. 69, n.9, p. 1606-1609, 1990.

CRIPPEN, T. L.; SHEFFIELD, C. L.; ESQUIVEL, S. V., *et al.* The acquisition and internalization of *Salmonella* by the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, v. 9, n. 1, p. 65-72, 2009.

CRIPPEN, T. L.; ZHENG, L.; SHEFFIELD, C. L., *et al.* Transient gut retention and persistence of *Salmonella* through metamorphosis in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, n. 5, p. 920-926, 2012.

CRIPPEN, T. L.; SHEFFIELD, C. L.; BEIER, R. C.; NISBET D. J. The horizontal transfer of *Salmonella* between the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and poultry manure. **Zoonoses and Public Health**, v. 65, n. 1, e23-e33, 2018. Doi: 10.1111/zph.12404.

CRUM-CIANFLONE, N. F. Salmonellosis and the gastrointestinal tract: more than just peanut butter. **Current gastroenterology reports**, v. 10, n. 4, p. 424-431, 2008.

CRUMRINE, M. H.; FOLTZ, V. D.; HARRIS, J. O. Transmission of *Salmonella montevideo* in wheat by stored-product insects. **Applied Microbiology**, v. 22, n. 4, p. 578-580, 1971.

DAOUST, P. Y. Osteomyelitis and arthritis caused by *Salmonella typhimurium* in a crow. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 14, n. 4, p. 483-485, 1978.

DAVIES, R. H.; BRESLIN, M.. Persistence of *Salmonella enteritidis* Phage Type 4 in the environment and arthropod vectors on an empty free-range chicken farm. **Environmental Microbiology**, v.5, n. 2, p. 79-84, 2003.

DE ALMEIDA, I.Z.C. *et al.* *Salmonella*: sorotipos identificados na região de São José do Rio Preto/SP, no período de 1990-1999. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 59, n. 1-2, p.33-7, 2000.

DEEM, S. L.; NOSS, A. J.; CUÉLLAR, R. L.; KARESH, W. B. Health evaluation off free-ranging and captive blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*) in the Gran Chaco, Bolívia. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 36, n. 4, p. 598-605, 2005.

DE FARIA, D. E. *et al.* Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte: 1. probióticos. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n. 1, p. 18-28, 2009.

DE LAS CASAS, E.; POMEROY, B. S.; HAREIN, P. K. Infection and quantitative recovery of *Salmonella Typhimurium* and *Escherichia Coli* from within the lesser mealworm, *Alphitobius Diaperinus* (Panzer). **Poultry Science**, v. 47, n. 6, p. 1871-1875, 1968.

DESPINS, J. L.; AXTELL, R.C.; RIVES, D.V. *et al.* Transmission of enteric pathogens of turkeys by darling beetle larva (*Alphitobius diaperinus*). **Journal of applied Poultry Research**, v. 3 (1), p. 61-65, 1994.

DEVI, S. J. N.; MURRAY, C. J. Cockroaches (*Blatta* and *Periplaneta* species) as reservoirs of drug-resistant salmonellas. **Epidemiology & Infection**, v. 107, n.2, p. 357-361, 1991.

DHILLON, A. S.; SHIVAPRASAD, H. L.; ROY, P., *et al.* Pathogenicity of Environmental Origin Salmonellas in Specific Pathogen-Free Chicks. **Poultry Science**, v. 80, n. 9, p. 1323–1328, 2001.

DIETRICH, J.; HAMMERL, J.A.; JOHNE, A. *et al.* Impact of climate change on foodborne infections and intoxications. **Journal of Health Monitoring**, v. 8, p. 78-92, 2023. DOI 10.25646/11403

D'SILVA, J.; STEVENSON, P. **Modern breeding technologies and the welfare of farm animals**. Compassion in World Farming Trust, 1995.

DUNN, L. L.; SHARMA, V.; CHAPIN, T. K., *et al.* The prevalence and concentration of *Salmonella enterica* in poultry litter in the southern United States. **Plos One**, doi.org/10.1371/journal.pone.0268231, 2022.

EFSA, European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority. Multi-country outbreak of Salmonella Enteritidis infections linked to eggs, third update – 6 February, 2020. doi:10.2903/sp.efsa.2020.EN-1799.

EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2021. The European Union one health 2020 zoonoses report. EFSA Journal, v. 19, n.12, 6971. doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6971.

ESKI, A.; DEMIR, I.; GÜLLÜ, M.; DEMIRBAG, Z. Biodiversity and pathogenicity of bacteria associated with the gut microbiota of beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Microbial Pathogenesis**, v. 121, p. 350–358, 2018.

ESPINOSA-ARGÜELLES, Á.; DE LA CRUZ-HERNANDÉZ, N. I.; INAFANTE-RODRÍGUEZ, F., *et al.* Seroprevalence of antibodies against Salmonella enterica subsp. enterica serovar Gallinarum-Pullorum in wild doves (*Zenaida asiatica* and *Zenaida macroura*) from the Northeast of Mexico. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 93, n.1, p. 77-79, 2010.

EVANGELOPOULU, G. D.; BOURRIEL, A.; SPYROU, V. A concise history of *Salmonella* spp. nomenclature. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 61, n. 4, p. 323–329, 2010.

FADDOUL, G. P.; FELLOWS, G. W.; BAIRD, J. A survey on the incidence of salmonellae in wild birds. **Avian Diseases**, v. 10, n. 1, p. 89-94, 1966.

FEASEY, N. A., *et al.* Invasive non-typhoidal salmonella disease: an emerging and neglected tropical disease in Africa. **The Lancet**, v. 379, n. 9835, p. 2489-2499, 2012.

FERNANDES, S.A., *et al.* *Salmonella enterica* serotypes from human nonhuman sources in Sao Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 2004-2020, v. 64, p.1-8, 2022.

FERRARI, R.G., *et al.* Worldwide epidemiology of Salmonella serovars in animal-based foods: a meta-analysis. **Applied and environmental microbiology**, v. 85, n. 14, p. e00591-19, 2019.

FOSTER, N., *et al.* Revisiting persistent Salmonella infection and the carrier state: What do we know? **Pathogens**, v. 10, n.10, p. 1299, 2021, 2021. doi.org/10.3390/pathogens10101299.

FÖSTER, M.; SIEVERT, K.; MESSLER, S.; KLIMPEL, S., *et al.* Comprehensive study on the occurrence and distribution of pathogenic microorganisms carried by

synanthropic flies caught at different rural locations in Germany. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 1164-1166, 2010.

FU, Y.; M'IKANATHA, N. M.; LORCH, J. M., *et al.* Salmonella enterica Serovar Typhimurium isolates from wild birds in the United States represent distinct lineages defined by bird type. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 88, n. 6, e01979-21, 2022.

FUKUI, D.; TAKAHASHI, K.; KUBO, M., *et al.* Mass mortality of Eurasian tree sparrows (*Passer montanus*) from Salmonella Typhimurium DT40 in Japan, winter 2008–09. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 50, n. 3, p. 484-495, 2014.

GANDOTRA, S.; KUMAR, A.; NAGA, K., *et al.* Bacterial community structure and diversity in the gut of the muga silkworm, *Antheraea assamensis* (Lepidoptera: Saturniidae), from India. **Insect Molecular Biology**, v. 27, n. 5, p. 603-619, 2018.

GANTOIS, I.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F., *et al.* Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. **FEMS Microbiol. Ver.**, v. 33, p. 718-738, 2020.

GARGIULO, A.; FIORETTI, A.; RUSSO, T. P., *et al.* Occurrence of enteropathogenic bacteria in birds of prey in Italy. **Letters in Applied Microbiology**, v. 66, n. 3, p. 202-206, 2018.

GAST, R. K.; HOLT, P. S. Persistence of *Salmonella* enteritidis from one day of age until maturity in experimentally infected layer chickens. **Poultry Science**, v. 77, p. 1759–1762, 1998.

GAST, R. K. *et al.* Contamination of eggs by *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. **Poultry Science**, v. 93, n.3, p. 728-733, 2014.

GEETHA, M.; PALANIVEL, K. M. A brief review on salmonellosis in poultry. *Int. J. Curr. Microbiol.* **Applied Science**, v. 7, n. 05, p. 1269-1274, 2018.

GILKS, C. F.; BRINDLE, R. J.; NEWNHAM, R. S., *et al.* Life-threatening bacteraemia in HIV-1 seropositive adults admitted to hospital in Nairobi, Kenya. **The Lancet**, v. 336, n. 8714, p. 545-549, 1990.

GOOGLE. **Google**

**Earth.**

Website:

[\(https://earth.google.com/web/search/S%3c3%a3o+Jos%3c3%a9+do+Rio+Preto,+SP/](https://earth.google.com/web/search/S%3c3%a3o+Jos%3c3%a9+do+Rio+Preto,+SP/)

[@-20.35255807.-50.48895391,497.0581487a,530140.70652768d,35y,0h,0t,0r/data=CigiJgokCWb1-BNsfjJAEWT1-BNsfjLAGU6GbEie7kBAIUe8ZQEFRFDA](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35255807/)). Consultado em: 22 de março de 2023.

GRIMONT, P.A.D. *et al.* Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. **WHO collaborating centre for reference and research on *Salmonella***, v. 9, p. 1-166, 2007.

GUILLOT, J. F. *et al.* Comparison of resistance of various poultry lines to infection by *Salmonella enteritidis*. **Veterinary Research**, v. 26, n.2, p. 81-86, 1995.

GUYASSA, C.; DIMA, C. A short review on *Salmonella* detection methods. **Microbiology Research International**, v. 10, n. 3, p. 32-39, 2022.

HAIDER, M. G.; CHOWDHURY, E. H.; AHMED, A. K. M.; HOSSAIN, M. M. Experimental pathogenesis of pullorum disease in chicks by local isolate of *Salmonella Pullorum* in Bangladesh. **Journal of the Bangladesh Agricultural University**, v. 10, n.1, p. 87-94, 2012.

HARBOURNE, J. F. The isolation of *Salmonella gallinarum* in wild birds. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v. 65, p. 250-254, 1955.

HAZELEGER, W. C. *et al.* Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae as potential vectors for the transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* serovar paratyphi B variant Java between successive broiler flocks. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 22, p. 6887-6891, 2008.

HERNANDEZ, S. M., *et al.* Epidemiology of a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium strain associated with a songbird outbreak. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 20, p. 7290-7298, 2012.

HIDASI, H. W., *et al.* Detection of *Salmonella enterica* in synanthropic birds in the metropolitan area of Goiania-GO. **Clinical Microbiology**, v. 4, n. 3, 6p, 2015. Doi: 10.4172/2327-5073.1000202. HOHMANN, E. L. Nontyphoidal salmonellosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 2, p. 263-269, 2001.

HOLT, P. S.; GEDEN, C. J.; MOORE, R. W.; GAST, R. K. Isolation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from houseflies (*Musca domestica*) found in rooms containing *Salmonella* serovar Enteritidis-challenged hens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 19, p. 6030-6035, 2007.



HOORFAR, J.; AHRENS, P.; RÅDSTROM, P. Automated 5' nuclease PCR assay for identification of *Salmonella enterica*. **Journal of clinical microbiology**, v. 38, n. 9, p. 3429-3435, 2000.

HUMPHREY, T.J.; BASKERVILL, A.; MAWER, S.; ROWE, B., *et al.* Salmonella Enteritidis phage type 4 from contents of intact eggs: a study involving naturally infected eggs. **Epidemiology & Infection**, v. 103, p.: 415–423, 1989.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – INMET, 2023. Banco de Dados Meteorológicos. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/>. Acesso em 01/07/2023

ISSA, R. *Musca domestica* acts as transport vector hosts. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 1, p. 1-5, 2019.

ISSENEHUTH-JEANJEAN, S., *et al.* Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. **Research in Microbiology**, v. 165, p. 526-530, 2014.

ISO, International Organization for Standardization. Microbiology: General guidance on methods for the detection of *Salmonella*. Geneva, ed. 3<sup>a</sup>, 1993, p. 16. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/12985.html>. Acesso: 19 de junho de 2023.

JACOB, J. J., *et al.* Genomic analysis of human invasive *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ST313 isolate B3589 from India. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 73, p. 416–424, 2019.

JANECKO, N., *et al.* Prevalence, Characterization and antibiotic resistance of Salmonella isolates in large corvid species of Europe and North America between 2010 and 2013. **Zoonoses and Public Health**, v. 62, n. 4, p. 292-300, 2014.

JACKSON, B.R.; GRIFFIN, P.M.; DANA COLE, K.A. *et al.* Outbreak-associated *Salmonella enterica* serotypes and Food Commodities, United States, 1998-2008. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19 (8), p. 1239-1244, 2013.

JONES, F. T.; AXTELL, R. C.; RIVES, D. V., *et al.* A survey of Salmonella contamination in modern broiler production. **Journal of Food Protection**, v. 54, n. 7, p. 502-513, 1991.

JURADO-TARIFA, E. *et al.* Genetic diversity and antimicrobial resistance of Campylobacter and Salmonella strains isolated from decoys and raptors. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 48, p. 14-21, 2016.

KAMPELMACHER, E. H. Poultry disease and public health. **British Poultry Science**, v. 28, n. 1, p. 3-13, 1987.

KARIUKI, S., *et al.* Characterisation of community acquired non-typhoidal Salmonella from bacteraemia and diarrhoeal infections in children admitted to hospital in Nairobi, Kenya. **BMC Microbiology**, v. 6: 101, 2006. doi: 10.1186-1471-2180-6-101.

KAUFFMANN, F. *et al.* Serological diagnosis of *Salmonella*-species. Kauffmann-White-Schema. **Serological diagnosis of salmonella-species. Kauffmann-White-Schema.**, 1972.

KEBEDE, D., *et al.* Review on Salmonella Gallinarum-Pullorum. **British Journal of Poultry Sciences**, v. 8, n. 1, p. 10-16, 2019.

KHAN, A.S.; PIERNEEF, R.E.; GONZALEZ-ESCALONA, N. *et al.* Molecular Characterization of *Salmonella* Detected along the Broiler Production Chain in Trinidad and Tobago. **Microorganisms**, v. 10, p. 1-18, 2022.

KIPPER, D.; MASCITTI, A.K.; DE CARLI, S.; CARNEIRO, A.M. *et al.* Emergence, Dissemination and Antimicrobial Resistance of the Main Poultry-Associated *Salmonella* Serovars in Brazil. **Veterinary Sciences**, v. 405 (9), p. 1-24, 2022. <https://doi.org/10.3390/vetsci9080405>

KOCABIYIK, A. L., *et al.* Isolation of Salmonella Enteritidis phage type 21b from a Eurasian eagle-owl (*Bubo bubo*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 42, n. 3, p. 696-698, 2006.

KRAWIEC, M., *et al.* Prevalence and genetic characteristics of Salmonella in free-living birds in Poland. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n.1, p. 1-10, 2015.

LACHARME-LORA, L.; OWEN, S. V.; BLUNDELL, R., *et al.* The use of chicken and insect infection models to assess the virulence of African Salmonella Typhimurium ST313. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 7, e0007540, 2019. [doi.org/10.1371/journal.pntd.0007540](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007540)

LAWSON, B., *et al.* Epidemiological Evidence That Garden Birds Are a Source of Human Salmonellosis in England and Wales. **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. e88968, 2014. doi:10.1371/journal.pone.0088968.

LEE, D.; TERTULIANO, M.; HARRIS, C.; VELLIDIS, G., *et al.* Salmonella survival in soil and transfer onto produce via splash events. **Journal of Food Protection**, v. 82, n. 12, p. 2023–2037, 2019.

LIEBANA, E.; GARCIA-MIGURA, L.; CLOUTING, C., *et al.* Molecular fingerprinting evidence of the contribution of wildlife vectors in the maintenance of *Salmonella* Enteritidis infection in layer farms. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, p. 1024–1029, 2003.

LILJEBJELKE, Karen A. *et al.* Vertical and horizontal transmission of *Salmonella* within integrated broiler production system. **Foodborne Pathogens & Disease**, v. 2, n. 1, p. 90-102, 2005.

LOCKE, L. N.; SHILLINGER, R. B.; JAREED, T. Salmonellosis in passerine birds in Maryland and West Virginia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 9, n. 2, p. 144-145, 1973.

LOPES, E. S., *et al.* Isolamento de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* de psittaciformes: relevância em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. e0602014, 2016.

MADADGAR, O., *et al.* Study of an unusual paratyphoid epornitic in canaries (*Serinus canaria*). **Avian Pathology**, v. 38, n. 6, p. 437-441, 2009.

MAGOSSI, G., *et al.* Evaluation of *Salmonella* presence in selected United States feed mills. **Microbiologyopen**, 8(5), e00711, 2019.

MARTINAGLIA, G. A note on *Salmonella gallinarum* infection of ten-day old chicks and adult turkeys. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 1, n. 3, p. 35-36, 1929.

MARTÍN-MALDONADO, B., *et al.* Wild Bonelli's eagles (*Aquila fasciata*) as carrier of antimicrobial resistant *Salmonella* and *Campylobacter* in Eastern Spain. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 67, 101372, 2019. doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101372.

MATIAS, C. A. R.; PEREIRA, I. A.; de ARAÚJO, M. S.; SANTOS, A. F.M., *et al.* Characteristics of *Salmonella* spp. isolated from wild birds confiscated in illegal trade markets, Rio de Janeiro, Brazil. **BioMed Research International**, Article ID 3416864, 7p, 2015. doi.org/10.1155/2016/3416864.

MECHESSO, A. F., *et al.* Antibiotic Resistance Profiles and Molecular Characteristics of bla CTX-M-15-Carrying *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis Isolates from Healthy and Diseased Chickens in Korea. **Foodborne Pathogens and Disease**, 19(10), 663-674, 2022.

MEDEIROS, M.O. **Influência de fatores climáticos na dinâmica populacional do percevejo castanho (*Atarsocoris brachiariae*)**. 2000. 95f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2000.

MENÃO, M. C., *et al.* Salmonella Typhimurium infection in hyacinth macaw (*Anodorhynchus hyacinthinus*). **Arquivos do Instituto Biológico (São Paulo)**, v. 67, p. 43-47, 2000.

MILLÁN, J., *et al.* Salmonella isolates from wild birds and mammals in the Basque Country (Spain). **Rev. Sci. Tech.**, v. 23, n. 3, p. 905-911, 2004.

NATARO, J. *et al.* *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*, *Manual of Clinical Microbiology*. 10<sup>a</sup> ed. Washington, DC., USA: **ASM Press**, 2011.

NICHOLS, G. L. Fly transmission of *Campylobacter*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 3, 361-364, 2005.

OLIVEIRA, C. M. Coró-da-soja-do-cerrado *Phyllophaga capillata* (Blanchard)(Coleoptera: Melolonthidae): aspectos bioecológicos. 2007.

OLIVEIRA, D.D.; SILVA, E.N. Salmonella em ovos comerciais: ocorrência, condições de armazenamento e desinfecção da casca. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, p. 665-661, 2000.

OLIVEIRA, D. G. P. de *et al.* Sampling methodology of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) population in poultry houses. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, 2019.

OLIVEIRA, L. J.; MALAGUIDO, A.B. Flutuação e distribuição vertical da população do percevejo castanho da raiz, *Scaptocoris castanea* Perty (Hemiptera: Cydnidae), no perfil do solo em áreas produtoras de soja nas regiões centro-oeste e sudeste do Brasil. **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 283-291, 2004.

OLIVEIRA, L. J, *et al.* Insetos que atacam raízes e nódulos da soja. **HOFFMANN-CAMPO, CB**, p. 75-144, 2013.

OLSEN, A. R.; HAMMACK, T. S. Isolation of Salmonella spp. from the housefly, *Musca domestica* L., and the dump fly, *Hydrotaea aenescens* (Wiedemann) (Diptera: Muscidae), at caged-layer houses. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 7, p. 958-960, 2000.

Oladapo, O.O, *et al.* A review of the International Organization for Standardization (ISO) guidelines for the detection of *Salmonella* from faeces. **Journal of Applied Veterinary Sciences**, v. 7, n. 4, p. 14-22, 2022.

ORÓS, J., *et al.* Simultaneous occurrence of *Salmonella arizonae* in a sulfur crested cockatoo (*Cacatua galerita galerita*) and iguanas. **Avian Diseases**, v. 42, n. 4, p. 818-823, 1997.

PAL, A., *et al.* Impact of poultry litter *Salmonella* levels and moisture on transfer of *Salmonella* through associated in vitro generated dust. **Poultry Science**, v. 100, 101236, 2021. doi.org/10.1016/j.psj.2021.101236.

PALMER, S.; PARRY, S.; PERRY, D.; SMITH, R. *et al.* The role of outbreaks in developing food safety policy: population based surveillance of *Salmonella* outbreaks in Wales 1986–98. **Epidemiologic Infection**, v. 125, p. 467–472, 2000.

PARK, S. E., *et al.* The genomic epidemiology of multi-drug resistant invasive non-typhoidal *Salmonella* in selected sub-Saharan African countries. **BMJ Global Health**, v. 6, n. 8, e005659, 2021. doi:10.1136/bmjgh-2021-005659.

PARSONS, B. N., *et al.* Invasive non-typhoidal *Salmonella typhimurium* ST313 are not host-restricted and have an invasive phenotype in experimentally infected chickens. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 10, e2487, 2013. doi:10.1371/journal.pntd.0002487.

PASSARO, D.J.; REPORTER, R.; MASCOLA, L. *et al.* Epidemic *Salmonella enteritidis* infection in Los Angeles County, California: The predominance of phage type 4. **West Journal of Medicine**, v. 165, p. 126-130, 1996.

PENNYCOTT, T.W.; DUNCAN, G. *Salmonella pullorum* in the common pheasant (*Phasianus colchichus*). **Vetrecord**, v. 144, p. 283-287, 1999.

PHILLIPS, J. *et al.* Isolation of *Salmonella houtenae* from a cockateel. **Avian Diseases**, p. 350-353, 1978.

PIKNOVA, L. *et al.* Detection of *Salmonella* in food, equivalent to ISO 6579, by a three-days polymerase chain reaction-based method. **Food control**, v. 13, n. 3, p. 191-194, 2002.

POPOFF, M.Y., BOCKEMTIHL, J.; HICKMAN-BRENNER, F.W. Supplement 1994 (n°38) to the Kauffmann-White scheme. **Research in Microbiology**, v. 146, p. 799-803, 1995

RABSCH, W., *et al.* *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and its host-adapted variants. **Infection and Immunity**, v. 70, p. 2249-2255, 2002.

RAHMAN, H. S.; MAHMOUD, B. M.; OTHMAN, H. H.; AMIN, K. A Review of History, Definition, Classification, Source, Transmission, and Pathogenesis of *Salmonella*: A Model for Human Infection. **Journal of Zankoy Sulaimani**, v. 20, n. 3-4, Part-A, 2018. Doi: 10.17656/jzs.10730.

RECHE, M. P., *et al.* Incidence of Salmonellae in Captive and Wild Free-Living Raptorial Birds in Central Spain. **J. Vet. Med. B**, v. 50, p. 42-44, 2003.

RODRIGUES, D. C., *et al.* International increase in *Salmonella enteritidis*: A new pandemic? **Epidemiology & Infection**, v. 105, n. 1, p. 21-27, 1990.

RUPPERT, E. E.; FOX, R.S.; BARNES, R.D. **Zoologia dos Invertebrados**. 7ª edição. São Paulo: Roca, 2005.

SADIQ, S., *et al.* Prevalence and molecular characterization of typhoidal and non-typhoidal *Salmonella* isolated from meat and environmental samples of retail shops of Lahore Punjab, Pakistan. **Veterinaria Italiana**, 58(4), 2022.

SADLER, W.W.; BROWNELL, J.R.; FANELLI, M.J. Influence of age and inoculum level on shed pattern of *Salmonella typhimurium* in chickens. **Avian Diseases**, v. 13, p. 793-803, 1969.

SANTOS, A.F.M.; AMPARO, L.F.V.; MACHADO, S.C.A.; DIAS, T.S., *et al.* *Salmonella serovars* associated with human salmonellosis in Brazil (2011-2020). **Research, Society and Development**, v. 11 (8), 2022.

SAIDENBERG, A. B., *et al.* *Salmonella* Newport outbreak in Brazilian parrots: Confiscated birds from the illegal pet trade as possible zoonotic sources. **Environmental Microbiology Reports**, v. 13, n. 5, p. 702-707, 2021.

SANTOS, L. R. *et al.* *Salmonella* Enteritidis isoladas de amostras clínicas de humanos e de alimentos envolvidos em episódios de toxinfecções alimentares, ocorridas entre 1995 e 1996, no estado do Rio Grande do Sul. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 102/103, p. 93-99, 2002.

SCUDERI, G., *et al.* Foodborne outbreaks caused by *Salmonella* in Italy, 1991-4. **Epidemiology & Infection**, v. 116, n. 3, p. 257-265, 1996.

SESTAK, L. **Avaliação da disseminação de *Salmonella* Senftenberg isoladas de diversos ambientes avícolas utilizando a técnica de Pulsed Field Gel**

**Electrophoresis.** 84f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo, 2013.

SHIVAPRASAD, H. L. Fowl typhoid and pullorum disease. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 19, n. 2, p. 405-424, 2000.

SNOEYENBOS, G. H.; MORIN, E. W.; WETHERBEEN, D. K. Naturally occurring *Salmonella* in "blackbirds" and gulls. *Avian Diseases*, v. 11, n.4, p. 642-646, 1967.

SMITH, H.W. Observations on experimental fowl typhoid. **Journal of Comparative Pathology.**, v. 65, p. 37–54, 1955.

SMITH, H. W. & TUCKER, J. F. The virulence of *Salmonella* strains for chickens: their excretion by infected chickens. **Journal Hygiene**, v. 84, p. 479-488, 1980.

SMITH, W. A.; MAZET, J. A.; HIRSH, D. C. *Salmonella* in California wildlife species: Prevalence in rehabilitation centers and characterization of isolates. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 33, n. 3, p. 228-235, 2002.

SOUSA, E.; WERTHER, K.; BERCHIERI, J. A. Assessment of Newcastle and infectious bronchitis pathogens, and *Salmonella* spp. in wild birds captured near poultry facilities. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia.**, v. 62, n. 1, p. 219-223, 2010.

SPARAGANO, O., *et al.* Arthropod pests in the poultry industry. **Pests and Vector-Borne Diseases in the Livestock Industry**, 611p., 2018. Doi.org/10.3920/978-90-8686-863-6.

STILZ, C. R., *et al.* *Salmonella* Enteritidis outbreaks associated with egg-producing farms not regulated by food and drug administration's egg safety rule. **Foodborne Pathogens and Disease**, 19(8), 529-534, 2022

SU, L.-H. & CHIU, C.-H. *Salmonella*: Clinical Importance and Evolution of Nomenclature. **Chang Gung Medical Journal**, v. 30, n. 3, p. 210-219, 2007.

SUN, H.; WAN, Y.; DU, P.; BAI, L. The Epidemiology of Monophasic *Salmonella* Typhimurium. **Foodborne Pathogens and Disease**, p. 1-11, 2020. DOI: 10.1089/fpd.2019.2676

TARDONE, R., *et al.* *Salmonella* in Raptors and Aquatic Wild Birds in Chile. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 56, n. 3, p. 707–712, 2020.

THIAGARAJAN, D.; SAEED, A. M.; ASEM, E. K. Mechanism of transovarian transmission of *Salmonella* enteritidis in laying hens. **Poultry Science**, v. 73, p.89-98, 1994.

THOMSON, Jessica L. et al. Cantaloupe facilitates *Salmonella* Typhimurium survival within and transmission among adult house flies (*Musca domestica* L.). **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 18, n. 1, p. 49-55, 2021.

TIMONEY, J.F.; SHIVAPRASAD, H.L.; BACKER R.C. *et al.* Egg transmission after infection of hens with *Salmonella* Enteritidis phage type 4. **Veterinary Record**, v. 125, p. 600-601, 1989.

TINDAL, J.B.; GRIMONT, D.A.P. GARRITY, M.G. *et al.* Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 521-524, 2005.

TUNCA, R., *et al.* Pathomorphological, immunohistochemical and bacteriological findings in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) naturally infected with *S. Gallinarum*, **Avian Pathology**, v. 41, n. 2, p. 203-209, 2012.

VAN ANDEL, M., *et al.* Investigation of mortalities associated with *Salmonella* spp. infection in wildlife on Tiritiri Matangi Island in the Hauraki Gulf of New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 63, n. 4, p. 235-239, 2015. DOI: 10.1080/00480169.2014.990065

VOIROL, *et al.* Bacterial Symbionts in Lepidoptera: Their diversity, transmission, and impact on the host. **Frontiers Microbiology**, v. 9, p. 556, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.00556.

WALES, A. & LAWES, J. JMM Profile: *Salmonella enterica* serovar Gallinarum, biovars Pullorum and Gallinarum. **Journal of Medical Microbiology**, v. 72, p. 001653, 2023. Doi 10.1099/jmm.0.001653.

WALES, A. D., *et al.* Review of the carriage of zoonotic bacteria by arthropods, with special reference to *Salmonella* in mites, flies and litter beetles. **Zoonoses Public Health**, v. 57, p. 299–314, 2010.

WANG, J. *et al.* A systematic review and meta-analysis of the sources of *Salmonella* in poultry production (pre-harvest) and their relative contributions to the microbial risk of poultry meat. **Poultry Science**, p. 102566, 2023.

WANG, M., *et al.* *Salmonella* virulence and immune escape. **Microorganisms**, 8(3), 407, 2020.



WANG, X., *et al.* Characterization of *Salmonella* spp. isolated from chickens in Central China. **Veterinary Research**, v. 16, p. 1-9, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02513-1>

WIGLEY, P.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; PAGE, K.L. *et al.* *Salmonella enterica* serovar Pullorum persists in splenic macrophages and in the reproductive tract during persistent, disease-free carriage in chickens. **Infection and Immunity**, v. 69, p. 7873-7879, 2001.

WIGLEY, P.; HULME, S.D.; POWERS, C. *et al.* Infection of the reproductive tract and eggs with *Salmonella enterica* serovar pullorum in the chicken is associated with suppression of cellular immunity at sexual maturity. **Infection and Immunity**, v. 73 (5), p. 2986-2990, 2005.

WOBESER, G. A. & FINLAYSON, M. C. *Salmonella typhimurium* Infection in house sparrows. **Archives of Environmental Health: An International Journal**, v. 19, n.6, p. 882-884, 1969.

Yu, X., *et al.* Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis isolated from broiler chickens in Shandong Province, China, 2013–2018. *Poultry Science*, 100(2), 1016-1023, 0

ZANETTI, N.S.; DE CARLI, S.; SOUZA, M.N.; LEHMANN, F.K.M. *et al.* Molecular Detection and Characterization of *Salmonella Gallinarum* from Poultry Farms in Brazil. **Poultry Science Research**, v. 28, p. 1335-1341, 2019. <http://dx.doi.org/10.3382/japr/pfz051>

ZANG, Y.; PENG, B.; HILLER, J. Climate variations and salmonellosis transmission in Adelaide, South Australia: a comparison between regression models. **International Journal of Biometeorology**, v. 52, p. 179-187, 2008. DOI 10.1007/s00484-007-0109-4

ZHENG, L.; CRIPPEN, T. L.; SHEFFIELD, C. L.; POOLE, T. L., *et al.* Evaluation of *Salmonella* movement through the gut of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 4, p. 287-292, 2012.