

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Isolamento e caracterização fenotípica e genotípica de
Salmonella sp. em vísceras de frangos**

Camila Silva de Carvalho Costa

Orientador: Prof^ª Dr^ª Cíntia Silva Minafra e Rezende

GOIÂNIA

2017

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

Nome completo do autor: Camila Silva de Carvalho Costa
Título do trabalho: Isolamento e caracterização fenotípica e genotípica de *Salmonella* sp. em vísceras de frango

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Camila S. de C. Costa
Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:

Antônio S. Viana de Rezende
Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 20 / 08 / 18

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente
- Submissão de artigo em revista científica
- Publicação como capítulo de livro
- Publicação da dissertação/tese em livro

²A assinatura deve ser escaneada.

CAMILA SILVA DE CARVALHO COSTA

**Isolamento e caracterização fenotípica e genotípica de
Salmonella sp. em vísceras de frangos**

Dissertação apresentada junto à
Escola de Veterinária e Zootecnia
da Universidade Federal de Goiás
para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração:
Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos

Linha de pesquisa:
Controle de Qualidade em Alimentos

Orientador:
Prof^ª. Dr^ª. Cíntia S. Minafra e Rezende- EVZ/UFG

Comitê de orientação:
Dr^ª. Dunya Mara Cardoso Moraes – EVZ/UFG
Prof^ª. Dr^ª. Maria Auxiliadora Andrade – EVZ/UFG

GOIÂNIA
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Silva de Carvalho Costa, Camila

Isolamento e caracterização fenotípica e genotípica de *Salmonella* sp. em vísceras de frangos [manuscrito] / Camila Silva de Carvalho Costa. - 2017.
40, XL f.

Orientador: Profa. Dra. Cintia Silva Minafra e Rezende; co orientadora Dra. Maria Auxiliadora Andrade; co-orientador Dr. Dunya Mara Cardoso Moraes.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2017.

Bibliografia.

Inclui tabelas, lista de figuras.

1. antimicrobianos. 2. frangos. 3. genes de virulência. 4. genes de resistência. 5. vísceras. I. Silva Minafra e Rezende, Cintia, orient. II. Título.

CDU 639.09

1 ATA NÚMERO 476 DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE
2 PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
3 DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Às 14h00min do dia 31/07/2017, reuniu-se na sala
4 de defesas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, a Comissão Julgadora infra
5 nomeada para proceder ao julgamento da Defesa de Dissertação de Mestrado apresentado (a) pelo
6 (a) Pós-Graduando (a) **Camila Silva de Carvalho Costa**, intitulada: "*Pesquisa de Salmonella sp.*
7 *em vísceras comestíveis e não comestíveis de aves*", apresentado para obtenção do Título de Mestre
8 em Ciência Animal, junto à Área de Concentração: **Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de**
9 **Alimentos**, desta Universidade. O Presidente da Comissão Julgadora, **Profa. Dra. Cíntia Silva**
10 **Minafra e Rezende**, iniciando os trabalhos, concedeu a palavra ao (a) candidato (a) **Camila Silva**
11 **de Carvalho Costa** para exposição em **quarenta** minutos do seu trabalho. A seguir, o senhor
12 Presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os quais passaram a
13 arguir o (a) candidato (a), durante o prazo máximo de **vinte** minutos, assegurando-se ao mesmo
14 igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição, que se desenvolveu
15 nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando o
16 (a) candidato (a) **Aprovado (a) ou Reprovado (a):**

17 Profa. Dra. Cíntia Silva Minafra e Rezende (Orientador (a))

Aprovada

18 Dr. Válder Ferreira Félix Bueno

APROVADA

19 Profa. Dra. Clarice Gebara Muraro Serrate Cordeiro Tenório

aprovada

20 Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o(a) candidato(a) **Camila Silva de**
21 **Carvalho Costa**, *HABILITADA* [(Habilitado(a) ou não Habilitado(a))] pelo(s)
22 motivo(s) abaixo exposto(s):

23 *Isolamento e caracterização fenotípica*
24 *e genotípica de Salmonella sp em*
25 *vísceras de frangos*

26

27

28

29

30

31

32

33

Dedico este trabalho aos meus
queridos pais e avós.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me iluminar e abençoar durante as etapas do mestrado, permitindo a conclusão desta pós-graduação de forma vitoriosa.

Agradeço, em especial, meus pais Ivan de Carvalho Costa e Cleide Aparecida da Silva Costa pelo apoio, pelo amor incondicional, por sempre acreditarem em mim e pela presença constante durante todo este período inclusive durante as viagens para as coletas das amostras.

A toda a minha família e ao meu namorado Wanderley Mendes Junior pela torcida, pelas palavras de incentivo, pelos momentos de descontração e por sempre estarem presentes na minha vida.

A minha querida psicóloga Cândida Ivete Arantes Borges por todo o suporte, amizade, carinho e tempo dedicados a mim tornando cada dificuldade e frustração um desafio possível de ser vencido, agradeço imensamente.

A minha orientadora Cíntia Silva Minafra e Rezende pela dedicação, paciência, ensinamentos, conselhos e o carinho concedidos a mim durante todo este período, muito obrigada.

As minhas co-orientadoras Prof. Maria Auxiliadora Andrade e Dunya Mara Cardoso de Moraes que foram essenciais, agradeço pelo suporte prestado, pelas ideias, pelo conhecimento compartilhado e por me acompanharem e ajudarem durante todo o experimento.

Agradeço, ainda, pela oportunidade de conviver diariamente com pessoas especiais que me ajudaram muito, me ensinaram e proporcionaram muito momentos divertidos e leves: Amanda Vargas Teles, Cristyene Gonçalves Benicio, Ursula Nunes Rauecker, Maria Nazaré Lopes, Maria Auxiliadora Leão.

Agradeço ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento pelo apoio e atenção concedidos a mim e ao projeto, as empresas que permitiram as coletas e também ao CNPQ pelo apoio financeiro concedido, e a Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia e ao Programa de Pós-graduação pela receptividade.

“Cause we're the masters of our own fate
We're the captains of our own souls”

(Lust for life- Lana Del Rey)

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO.....	1
2-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1- <i>Salmonella</i> sp.: Características e Classificação	2
2.2- Ocorrência de <i>Salmonella</i> sp. em vísceras de aves.....	3
2.3- Vias de transmissão: horizontal/vertical.....	4
2.4- Suscetibilidade e resistência.....	5
2.5- Genes de virulência e resistência	7
3-OBJETIVOS.....	9
4-METODOLOGIA.....	10
4.1-Amostragem e local de análise	10
4.2- Bacteriologia convencional	10
4.3-Suscetibilidade aos antimicrobianos	11
4.4-Detecção dos genes.....	12
5- RESULTADOS.....	14
6- DISCUSSÃO	16
7- CONCLUSÃO	21
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Sorovares de <i>Salmonella</i> sp. identificados em vísceras comestíveis de frangos	14
TABELA 2 - Suscetibilidade dos isolados aos antimicrobianos.....	14
TABELA 3- Genes de virulência e resistência identificados nos isolados.....	15

RESUMO

Salmonella sp. em alimentos de origem avícola representa grande problema para a saúde pública mundial. As vísceras de aves também podem ser contaminadas com o micro-organismo sendo potencial veiculador deste patógeno. Neste contexto objetivou-se com este trabalho investigar a ocorrência de *Salmonella* sp. em vísceras comestíveis e não comestíveis de frangos de corte, bem como perfil de suscetibilidade a bases antimicrobianas, presença de genes de virulência (*invA*, e *spvC*) e resistência (*sul1* e *blaTEM*). As coletas ocorreram em dois frigoríficos onde foram obtidas 405 amostras, sendo 150 corações, 150 fígados e 105 vesículas biliares. Deste total, sete amostras (1,73%) foram positivas. Os sorovares encontrados foram *Salmonella* Minnesota e *Salmonella* Swarzengrund. Na avaliação da susceptibilidade aos antimicrobianos foram testados 10 princípios antimicrobianos. Os maiores percentuais de resistência foram observados frente à gentamicina (100%), ciprofloxacina (100%), enrofloxacina (100%) e florfenicol (100%), seguidos de ampicilina, doxiciclina, tetraciclina (71%) e amoxicilina (57%). Todos os isolados foram sensíveis a sulfametoxazol+trimetoprim. O gene *invA* foi identificado em todos os isolados. O gene *spvC* foi identificado em 50% dos isolados de *S.* Minnesota. Quanto aos genes de resistência, observou-se *blaTEM* em todos os isolados. O gene *sul1* foi detectado em quatro dos sete isolados. Pelos resultados, identifica-se que *S.* Minnesota e *S.* Swarzengrund de origem aviária apresentaram genes que habilitam à invasão e resistência a antimicrobianos, bem como fenotipicamente expressaram resistência a nove bases de antimicrobianos testados.

Palavras-chave: antimicrobianos, frangos, genes de virulência, genes de resistência, vísceras.

ABSTRACT

Salmonella sp. in food of poultry origin represents a major problem for world public health. The viscera of broilers can also be contaminated with the microorganism being the potential carrier of this pathogen. In this context, the objective of this work was to investigate the occurrence of *Salmonella* sp. in edible and inedible viscera of broilers, the presence of virulence genes (*invA*, and *spvC*) and resistance genes (*sul1* and *bla_{TEM}*), as well as susceptibility profile to antimicrobial bases. The samples were collected in two slaughterhouses where 405 samples were obtained, 150 hearts, 150 livers and 105 biliary vesicles. Of these, seven samples (1.73%) were positive. The serovars found were *Salmonella* Minnesota and *Salmonella* Swarzengrund. Antimicrobial principles were tested for susceptibility to antimicrobials. The highest percentages of resistance were observed for gentamicin (100%), ciprofloxacin (100%), enrofloxacin (100%) and florfenicol (100%), followed by ampicillin, doxycycline, tetracycline (71%) and amoxicillin (57%). All isolates were sensitive to sulfamethoxazole + trimethoprim. The *invA* gene was identified in all isolates. The *spvC* gene was identified in 50% *S. Minnesota*. Regarding the resistance genes, *bla_{TEM}* was identified in all isolates. The *sul1* gene was detected in four of the seven isolates. From the results, *S. Minnesota* and *S. Swarzengrund* of avian origin have genes that enable invasion, as well as phenotypically express resistance to nine antimicrobial bases tested.

Keywords: antibiotics, broiler, virulence gene, resistance genes, viscera.

1.INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Salmonella* são consideradas patógenos de veiculação alimentar, compondo um grupo de agentes etiológicos de grande circulação mundial, independente da classificação quanto ao desenvolvimento dos países em que foram reportadas¹. Historicamente, é válido referenciar que o primeiro registro de surto descrito, data de 1888, ocasião em que 59 pessoas foram contaminadas após a ingestão de carne crua contaminada, na Alemanha².

Dados recentes explicitam que casos isolados de contaminação e surtos têm ocorrido em diferentes continentes, sendo que, em países cujo sistema de vigilância e controle de plantéis configuram efetividade, há diminuição do número de pessoas acometidas, havendo divergência para países que não têm os mesmos sistemas implantados³.

No contexto da veiculação de bactérias em alimentos de origem avícola, há risco representado pela presença de *Salmonella* sp., uma vez que há histórico de exposição em ambiente de criação e possível propagação em plantéis, seus produtos e subprodutos. Desta forma, a contínua pesquisa de *Salmonella* sp. ao longo do processo de criação em produção de alimentos é importante para o controle e prevenção da doença, ressaltando-se que independentemente de qual sorovar seja identificado, o risco existe e há prejuízo à segurança alimentar^{4,5}. Por tais, considerações e por haver maior investigação de *Salmonella* sp. em carcaças e ovos, quando avaliados produtos avícolas, as vísceras comestíveis não devem ser negligenciadas e precisam ser consideradas como potenciais fontes de veiculação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Salmonella* sp.: Características e Classificação

Dentre as espécies do gênero, *Salmonella enterica* é a maior causa de gastroenterites em seres humanos em todo o mundo, cuja veiculação é alimentar¹. Cerca de 99% dos isolados clínicos do patógeno encontrado em animais de sangue quente são sorovares que compõe as subespécies de *Salmonella enterica*, menos de 1% dos isolados clínicos encontrados correspondem a espécie *Salmonella bongori* que é mais comumente isolada de animais de sangue frio⁶.

A salmonelose possui epidemiologia complexa, difícil controle e apresenta prevalência diferente nas diversas regiões do Brasil e do mundo. Por meio de estudos epidemiológicos percebeu-se que existe uma dinâmica ao longo das décadas onde alguns sorovares vão ocupando o lugar de outros. Durante alguns anos os sorovares *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium ocuparam posição de destaque no percentual de isolados de aves, entretanto em algumas regiões já ocorre substituição destes sorovares por *Salmonella* Minnesota, por exemplo¹.

O gênero *Salmonella* está inserido na família *Enterobacteriaceae* e recebeu este nome em homenagem ao cientista Daniel Elmer Salmon que descreveu a doença pela primeira vez em 1885. As bactérias do gênero têm características que compõe expressivo aparato quanto à virulência. Um dos exemplos, é a estrutura da membrana externa das proteínas que atuam na adesão e invasão do epitélio intestinal⁷.

Essas bactérias apresentam características bioquímicas que requerem diagnóstico laboratorial com maior detalhamento e necessidade de atenta observação, assim como necessidade de associação de ensaios para detecção e posterior identificação⁸.

Cerca de 2.659 sorovares já foram identificados neste gênero, divididos entre duas espécies: sendo 2637 sorovares pertencentes a espécie *Salmonella enterica* e apenas 22 sorovares pertencentes a espécie *Salmonella bongori*. A espécie *Salmonella enterica* é ramificada em seis subespécies: *Salmonella enterica* subespécie *enterica* (1.586 sorovares), *Salmonella enterica* subespécie *salamae* (522 sorovares), *Salmonella enterica* subespécie *arizonae* (102 sorovares), *Salmonella enterica* subespécie *diarizonae* (338 sorovares), *Salmonella enterica* subespécie *houtenae* (76 sorovares) e *Salmonella enterica* subespécie *indica* (13 sorovares)⁹.

A distribuição das bactérias em sorovares ocorre de acordo com as reações sorológicas observadas na expressão de antígenos de superfície somáticos (O), flagelares (H) e de virulência (Vi) proposta pelo esquema Kaufmann-White¹⁰.

Os antígenos O são lipopolissacarídeos estáveis presentes na membrana celular ao aquecimento, resistentes ao álcool e ácidos diluídos. Antígenos H são proteínas associadas aos flagelos peritríquios de salmonelas móveis, instáveis ao aquecimento, e podem ser expressas em uma de duas fases. Na fase 1 os antígenos H são específicos e associados a identidade imunológica de sorovares particulares. Os antígenos de fase 2 não são específicos e contém diferentes subunidades protéicas que podem ser compartilhadas por vários sorovares¹¹. Como mencionado, pode-se observar que os antígenos, explicitam muitas características relevantes quanto à capacidade de adaptação e virulência.

2.2 Ocorrência de *Salmonella* sp. em vísceras de aves.

Dentre os fatores que favorecem e contribuem ao aumento da susceptibilidade de infecção por *Salmonella* sp., pode-se citar sua capacidade de disseminação entre indivíduos (aves e lotes) e qualquer situação estressante (seja pela alteração da alimentação entre as fases de vida, bem estar e ambiência, manejo e até por situações críticas como superlotação).

As situações comuns de estresse durante o ciclo de produção induzem a alterações importantes no organismo das aves, que por decorrência, fragilizam o sistema imune das aves. Mudanças na integridade e funcionamento normal da Bursa de Fabricius interferem na produção de imunoglobulinas. Além disso, estimulam o sistema nervoso a interagir rapidamente com o sistema gastroentérico, influenciando na qualidade da barreira imunológica local. Este fato permite que bactérias patogênicas migrem para a mucosa intestinal seguindo-se de processo inflamatório, diminuindo a absorção de nutrientes e favorecendo a infiltração de patógenos. É observado também a queda na atividade dos macrófagos e dos níveis de IgG contribuindo para a maior disseminação de *Salmonella* sp. em fígados de aves que já estavam contaminadas com o micro-organismo¹².

O estresse afeta negativamente o sistema imunológico das aves comprometendo sua performance e habilidade de combater infecções bacterianas. O estresse térmico, por exemplo, comum em regiões quentes aumenta os níveis séricos de corticosterona nas aves. Este hormônio liberado em situações de estresse pode desregular a resposta imunológica sendo prejudicial a saúde dos animais¹³. Assim sendo, a mucosa intestinal que representa a primeira barreira de

defesa do organismo contra a *Salmonella* sp., pode tornar-se menos responsiva, favorecendo a disseminação da bactéria entre órgãos. Após a invasão acredita-se que estas bactérias são transportadas, por meio de macrófagos e células dendríticas via sistema linfático, para o fígado e o baço¹⁴. Órgãos ou vísceras são importantes rotas de disseminação da bactéria, mesmo havendo ativação do sistema de defesa.

2.3 Vias de transmissão: horizontal/vertical

Salmonella sp. compõe um grupo de micro-organismos altamente adaptados às mais diferentes condições ambientais¹⁵.

As rotas favoráveis à contaminação por *Salmonella* sp. nos diferentes elementos da cadeia de alimentos compreendem vários eventos desde a produção primária até a intenção de uso do consumidor final. Esta contaminação pode ocorrer em diferentes momentos desde a criação de animais em granjas, durante o processamento nos abatedouros-frigoríficos, na distribuição de produtos alimentícios no comércio e a na forma de preparação e ingestão dos alimentos pelos consumidores. Neste contexto as estratégias de monitoramento, prevenção e controle de disseminação de doenças provenientes de alimentos devem compreender todas as etapas percorridas desde a “fazenda ao garfo”¹⁶.

. A transmissão horizontal ocorre através da rota fecal-oral ou aerógena, por meio da água, roedores, pássaros selvagens, seres humanos, manipulação de aves contaminadas durante o processamento de alimentos, durante o transporte de lotes para o abate, no ambiente das granjas e principalmente nos alimentos fornecidos para os animais. Além disso, algumas variáveis podem favorecer a contaminação das aves, como a idade e estado fisiológico dos animais, a sobrevivência da bactéria ao passar por barreiras gástricas, a competição com bactérias presentes no intestino com possível viabilidade na colonização¹⁷.

Por sua vez, a transmissão vertical, da ave contaminada para a progênie, exerce importante papel na disseminação do micro-organismo na cadeia avícola. *Salmonella* produz infecção persistente nas aves e quando presente nos ovários, a transmissão transovariana ocorre quando os ovos em desenvolvimento nas aves se infectam no oviduto. A bactéria migra para dentro da gema antes da deposição da casca¹⁸.

2.4 Suscetibilidade e resistência

A resistência das bactérias aos antibióticos é um grande problema na saúde pública mundial e envolve a maioria dos patógenos e das drogas existentes para tratamento de quadros infecciosos, afetando a geração existente e futuramente as que virão¹⁹. A resistência antimicrobiana pode ocorrer naturalmente ao longo do tempo, usualmente por mudanças genéticas, embora o uso inadequado de medicamentos aceleram esse processo.

Neste cenário, a resistência intrínseca relacionada à fisiologia ou à anatomia dos micro-organismos, como a baixa permeabilidade do envelope celular, produção de enzimas que inativam drogas, presença de sistemas de efluxo que diminuem a concentração do medicamento no interior da célula bacteriana, ou ausência de conexão entre o antimicrobiano e o patógeno, não é a principal preocupação em relação à saúde dos homens e dos animais. Esse tipo de resistência é inerente a algumas espécies de bactérias e essas características não são afetadas pelo uso de medicamentos²⁰.

A maioria dos micro-organismos resistentes a antibióticos surgiram como resultado de alterações genéticas, seja por meio de mutações ou pela troca de materiais genéticos com bactérias de diferentes espécies. As mutações genéticas ocorrem devido a ação de um fator de estresse, como por exemplo um medicamento, quando age sobre populações de bactérias, todas as que são susceptíveis são eliminadas, mas as resistentes não. Por pressão de seleção, as bactérias resistentes vão sobreviver e se multiplicar e após um período de tempo a população original que era susceptível será substituída pela população resistente. Falhas na utilização de medicamentos para combater patógenos durante o tratamento das enfermidades, favorecem e aumentam o risco de complicações, além de contribuir com a possibilidade das bactérias se adaptarem a droga e sobreviverem ao invés de morrer²¹.

Mutações genéticas ocorrem devido a alterações espontâneas no *locus* no cromossomo microbiano que controla a susceptibilidade a um determinado alvo dos antibióticos. Apesar dessa alteração ser transmissível verticalmente para outras bactérias a probabilidade de sua ocorrência é baixa: cerca de 1 célula em 10^7 a 10^{10} células bacterianas ocorre esse tipo de alteração²².

A maior preocupação da resistência bacteriana aos antibióticos ocorre através da transferência de genes. Esses sistemas permitem a troca de material genético extra cromossômico entre as bactérias, tanto vertical quanto horizontal. A transferência horizontal de genes desempenha um papel relevante na aceleração da propagação da resistência aos antibióticos. Pode ocorrer entre cepas da mesma espécie ou entre espécies bacterianas diferentes

ou compartilhando o mesmo nicho ecológico, expandindo as oportunidades de genes determinantes de resistência passar de cepas não patogênicas para cepas patogênicas¹⁹.

Dentre as formas de trocas de material genético de modo horizontal, ou seja entre bactérias diferentes, a forma mais comum e efetiva é a troca de plasmídios por conjugação. Plasmídios são moléculas circulares de DNA extra cromossômico capazes de se replicar de forma independente. A transmissão dos plasmídios ocorre com a formação do pilus, estrutura tubular protéica, que conecta temporariamente a bactéria doadora e a bactéria receptora permitindo a passagem desses fragmentos de DNA. Cópias dessas moléculas permanecem na bactéria doadora que ao se multiplicar transmite verticalmente a resistência para sucessivas linhagens da colônia bacteriana²³.

As bactérias também podem adquirir genes de resistência por meio do processo de transposição utilizando *transposons* ou *integrons*. *Transposons* são fragmentos de DNA especializados que carregam genes de resistência que não são capazes de se replicarem sozinhos, mas podem se mover ao longo do genoma facilitando a migração do gene de resistência, como por exemplo do cromossomo para o plasmídio. A resistência bacteriana a nível cromossomal também pode ser disseminada horizontalmente já que os genes de resistência estão normalmente localizados nos *transposons*. Os *integrons* também podem carrear vários genes de resistência. Não podem se mover sozinhos mas podem codificar mecanismos para capturar nova resistência a antibióticos e ativá-los dentro e fora dos *integrons*, aumentando assim substancialmente a mobilidade horizontal dos genes de resistência antimicrobiana²⁴.

A transdução é outro mecanismo de transmissão de genes de resistência entre micro-organismos e ocorre por meio de um vetor, na maioria das vezes vírus bacteriófagos capazes de infectar bactérias. Esse é o terceiro mecanismo de transferência genética de genes e acontece com a passagem direta de DNA livre de uma bactéria, geralmente inativa, para outra. A bactéria receptora incorpora o DNA recebido em seu genoma²³.

O aumento da incidência de salmoneloses em humanos com tratamento mais difícil se dá pelo aparecimento de sorovares resistentes a diversas drogas, principalmente *S. Typhimurium*, que tem sido isolada de vários alimentos de origem animal em todo o mundo²⁵. A alta prevalência de bactérias resistentes na indústria alimentícia ocorre provavelmente pelo uso em excesso de antimicrobianos mais comuns com fins terapêuticos, profiláticos ou como promotores de crescimento¹⁹.

2.5 Genes de virulência e resistência

A expressão de genes especializados e a coordenação do comportamento das bactérias em relação ao ambiente é mediada em resposta a população de células presentes no meio em que esses micro-organismos estão inseridos²⁶⁻²⁸. Embora as bactérias estejam se comunicando por diferentes sistemas, constata-se que a sinalização dependente da densidade celular é considerada um comportamento usual entre os micro-organismos²⁹, como ocorre no mecanismo de *quorum sensing* (QS).

O QS é um processo de comunicação entre células bacterianas por meio da produção e difusão de pequenas moléculas químicas ou sinalizadoras, através das membranas celulares. O QS pode ser dividido basicamente em quatro etapas: 1- produção de moléculas sinalizadoras pela célula bacteriana; 2- liberação ativa ou passiva dessas moléculas para o meio extracelular; 3- detecção de sinalizadores por intermédio de receptores específicos, presentes na membrana celular bacteriana; 4- alterações na regulação gênica de microrganismos envolvidos no processo³⁰. As moléculas de sinalização são chamadas de autoindutores (AI) e acumulam-se no ambiente extracelular, sendo produzidas de acordo com a densidade de células existentes^{5,6}. Já foram identificados 4 tipos de moléculas AIs: autoindutor tipo 1 (AI 1), autoindutor tipo 2 (AI 2), autoindutor tipo 3 (AI 3) e peptídios autoindutores (AIPs)³¹.

A produção de fatores de virulência como a formação de biofilmes está relacionada a ao sistema QS³², que é utilizado tanto por bactérias Gram-negativas quanto por Gram-positivas³³. Os biofilmes são grupos de bactérias envoltas por uma proteção extracelular que permite a elas desfrutar de diversas vantagens como: maior resistência a agentes antimicrobianos, dificultando a sua eliminação do ambiente³⁴, além de permitir a troca de material genético e cooperação metabólica³⁵. A partir do aumento da densidade celular, favorecida pelos biofilmes, ocorre a regulação gênica em resposta as moléculas AIs liberadas no ambiente, iniciando ações de ativação ou depressão de determinados genes³⁶.

Um estudo realizado em 2010, demonstrou que o desenvolvimento de biofilme por *S. Enteritidis* em aço inoxidável, ocorreu na presença de diversos metabólitos produzidos por *Hafnia alvei*, além de estimular a redução da atividade metabólica com estabilização do biofilme. Contudo, nenhuma resposta foi manifestada por *S. Enteritidis* quanto a utilização de vários outros componentes sintéticos com propriedades químicas similares às produzidas pela *H. alvei*, bactéria psicotrófica associada a alimentos de origem animal.³⁷

Em um estudo recente utilizando-se epinefrina, foi observado que a mobilidade bacteriana da *S. Typhimurium* foi aumentada consideravelmente, demonstrando que este

hormônio está apto a se associar com os AI produzidos pela bactéria, ativando assim os genes responsáveis pela motilidade³⁸. Moléculas AI tipo 3, sistema ainda pouco compreendido, são responsáveis por induzir a expressão de genes em *S. Typhimurium*. O receptor QseC, que é uma proteína, transmembrana, interage o seu domínio sensorial periplasmático com o AI 3 e os hormônios epinefrina e norepinefrina, presente nos mamíferos³⁹. Este sistema foi descrito pela primeira vez na expressão de genes na bactéria Gram-negativa *E. coli* enterohemorrágica O157:H7. O QseC homólogo da *S. Typhimurium* possui 87% das mesmas sequências identificadas na *E. coli* EHEC's QseC⁴⁰, além disso a QseC de uma variante mutante desta *Salmonella* pode ser complementada com o gene da QseC da *E. coli*, demonstrando que a *sensor quinase*, receptor adrenérgico bacteriano, destes dois microrganismos são funcionalmente intercambiáveis⁴¹.

Por tais apontamentos, pode-se observar que a presença de *Salmonella* sp. em alimentos de origem animal é de grande impacto na saúde pública. Independentemente do sorovar identificado as informações relativas à virulência e resistência aumentam o rol de indicadores epidemiológicos, quer sejam temporais ou não. Entender combinações fenotípicas e genotípicas e a forma como as bactérias interagem entre si, elucidando a natureza da contaminação em plantéis e humanos. O gene *spvC* refere-se a plasmídeo de virulência e pode estar relacionado à capacidade da bactéria persistir em órgãos extra intestinais e disseminar-se. Acredita-se que inicialmente não esteja envolvido na interação do patógeno e a mucosa intestinal⁴².

Frente às informações apresentadas, a pesquisa de genes de virulência *invA*⁴² (invasividade) contribui com informações quanto à capacidade de invadir. Os genes *blaTEM* e *sul1* referem-se à resistência observada às classes de β -lactâmicos e sulfonamidas, respectivamente^{43,44}, com dados divergentes para presença em sorovares de *Salmonella* sp. Particularmente por este motivo, é importante pesquisar a presença dos genes em isolados, como fator relevante à epidemiologia do patógeno.

3.OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi a pesquisar *Salmonella* sp. em vísceras comestíveis e não comestíveis de frangos de corte abatidos, caracterizar o perfil de suscetibilidade a antimicrobianos e verificar a presença de genes de virulência e resistência a antimicrobianos de interesse para a avicultura comercial e terapêutica humana.

4.METODOLOGIA

4.1 Amostragem e local de análise

As amostras foram obtidas em dois abatedouros-frigoríficos registrados no Serviço de Inspeção Federal, entre os meses de outubro e dezembro de 2016. Foram realizadas seis visitas, três em cada estabelecimento. Um total de 405 amostras divididas em 150 fígados, 150 corações e 105 vesículas biliares foram obtidas e analisadas individualmente.

Cada órgão foi considerado uma unidade amostral, sendo retirado após a evisceração e inspeção pelos agentes, desde que classificados como próprios para consumo. Foram embalados, armazenados, para análise individual, considerando-se as proporções para o peso encontrado quando da primeira diluição em caldos de pré-enriquecimento.

As coletas foram realizadas nos primeiros lotes abatidos em cada dia de visita em torno de cinco a seis horas da manhã. As vísceras foram selecionadas para coleta de forma aleatória considerando um intervalo entre uma e outra de 45 segundos, desde que não tivessem sido separadas pelos agentes de inspeção. Cada víscera após a evisceração foi acondicionado em sacos plásticos estéreis e seguiram o destino descrito anteriormente.

Após o término da coleta, todas as vísceras foram acondicionados em caixa térmica com gelo reciclável e encaminhadas ao laboratório para execução dos ensaios analíticos. A pesquisa foi realizada no Laboratório de Bacteriologia (LB) e no Laboratório de Diagnóstico Molecular (LDM) do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ).

4.2 Bacteriologia convencional

O processamento das amostras foi realizado no mesmo dia da coleta de acordo com o Anexo I, Capítulo XV, da Instrução Normativa N°62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 26 de agosto de 2003⁴⁵, que aplica-se a amostras de alimentos de origem animal, rações e ingredientes.

As amostras de coração e fígado foram transferidas individualmente do saco plástico para placa de petri de vidro e trituradas manualmente uma a uma com ajuda de pinça e tesoura estéril. Após a trituração, o conteúdo foi disposto no saco plástico de origem e pesado, isto para que não houvesse ruptura dos sacos plásticos. Seguiu-se a proporção 1:10 massa/volume para as amostras, conforme o estabelecido pela Normativa⁴⁵.

As amostras em água peptonada a 1% foram incubadas a 37°C por 18 a 20 horas. Após este prazo as amostras foram homogeneizadas e 1mL foi transferido para 9 mL de caldo Selenito-Cistina (SC) e 1mL para 10mL de caldo Rappaport Vassiliadis (RV) posteriormente incubação a 37°C por 24 horas. Após este período com auxílio de alça de níquel-cromo esterilizadas uma alíquota foi retirada dos caldos e foram plaqueadas por esgotamento em ágares XLT4, Hektoen e Verde Brilhante (VB), incubadas invertidas a 37°C por 24 horas. As colônias que apresentaram características morfológicas de *Salmonella* sp. foram transferidas para tubos com tríplice açúcar ferro (TSI) e incubados a 37°C por 24 horas. As culturas sugestivas foram submetidas as provas bioquímicas de: urease, vermelho de metila, motilidade, teste do malonato e lisina descarboxilase. Quando as provas bioquímicas eram compatíveis com *Salmonella* sp., considerou-se isolado positivo para *Salmonella*. Posteriormente, uma alíquota foi plaqueada em ágar nutriente e estocada sob refrigeração a 4°C, para posterior envio a Laboratório referência com a finalidade de proceder a sorotipagem.

4.3 Suscetibilidade a antimicrobianos

O perfil de susceptibilidade a antimicrobianos foi determinado pelo método de Difusão em Disco de acordo com NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS) de 2002⁴⁶, com modificações. As bases elencadas foram gentamicina (10 µg), ampicilina (10 µg), amoxicilina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), enrofloxacina (5 µg), doxiciclina (30 µg), tetraciclina (30 µg), sulfametoxazol+trimetoprim (25 µg) e florfenicol (30 µg).

As amostras estocadas em ágar nutriente foram estriadas em ágar VB e incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período foram selecionadas duas unidades formadoras de colônias por placa que foram transferidas para tubos com TSI e posteriormente incubados a 37°C por 24 horas. Os isolados com características de *Salmonella* sp. foram transferidos com auxílios de uma alça de níquel-cromo para 5mL de caldo Casoy. O caldo foi incubado até turvar a 0.5 na escala MacFarland, a temperatura de 37°C. Posteriormente com um suabe estéril umedecido no caldo, retirando-se o excesso pressionando o suabe contra as paredes do tubo, o inóculo foi esfregado em várias direções diferentes sobre a superfície de uma placa de petri com ágar Mueller-Hilton, até formar uma camada uniforme e homogênea. Após 15 minutos, aguardando a absorção do inóculo pelo meio, foram depositados os discos de antibióticos sobre a superfície inoculada com auxílio de uma pinça estéril.

Os discos foram levemente pressionados para melhor aderência ao meio e mantidos a uma distância de 3cm um do outro. As placas foram incubadas na posição invertida por 18 a 24 horas à 37°C. Após este período leu-se os halos de inibição que foram formados nas placas com auxílio de uma régua. A interpretação dos resultados obtidos foi realizada de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo (CLSI, 2017)⁴⁷.

4.4 Detecção dos genes

Antes do processo de extração de DNA, os isolados estocados em ágar nutriente, foram submetidos a um novo enriquecimento bacteriano sendo transferidos para 2mL de caldo CS e incubados a 37°C por 24 horas. Após este período a extração do DNA foi realizada por meio do kit de extração da marca Quiagem.

Os ensaios da reação em cadeia pela polimerase (PCR) em tempo real para detecção dos genes de virulência *invA* e plasmidial *spvC* e genes de resistência *sul1* e *bla_{TEM}* de *Salmonella* sp. foram realizadas^{43-48, 50}. Os eluatos obtidos a partir das amostras extraídas foram utilizados para realização de PCR em tempo real empregando o sistema TaqMan®. O volume adotado foi de 20µL sendo 4,6µL de água mili-Q, 10µL de Máster Mix (1x), 2µL de mix de IPC(10x), 04µL de IPC DNA(50x) e 1µL de oligonucleotídeos iniciadores (concentração de 30mM) e sonda (concentração de 10mM) acrescentando 2µL de amostras de DNA. Como controle interno da reação em um dos poços da placa foi utilizado o IPC DNA com reagente bloqueador de IPC (*negative control blocked IPC LIFE®*) e outro com IPC DNA sem bloqueador. As amostras foram submetidas ao ensaio de presença e ausência em termociclador StepOne Plus (*Applied Biosystems*) nas condições: pré PCR a 60°C por 30 segundos seguida de 95°C por 10 minutos, 40 ciclos a 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto e 60°C por 30 segundos para extensão.

Para detecção dos genes pela PCR em tempo real empregou-se o sistema TaqMan®, utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores para os genes:

- *invA* F 5'-AACGTGTTTCCGTGCGTAAT-3'

R5-TCCATCAAATTAGCGGAGGC-3

Sonda FAM-TGGAAGCG- CTCGCATTGTGG-BHQ

-*spvC* F5'- AATGAACTACGAAGTGGGCG-3'

R 5'- TCAAACGATAAAACGGTTCCTC-3'

sonda FAM-ATGGTGGCGAAATGCAGAGACAGGC-BHQ;
-*sul1*- F 5'- TCCTGACCCTGCGCTCTATC-3'
R 5'-TGCGCTGAGTGCATAACCA-3'
sonda ROX-ATTGCTGAGGCGGACTGCAGGC-BHQ;
-*bla_{TEM}*- F 5'-CTGGATCTCAACAGCGG-3'
R 5'- CAACACGGGATAATACCGC-3'
sonda FAM-AGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCG-BHQ

Foram feitos alguns ajustes no equipamento para se adequar aos filtros disponíveis, nos quais ROX foi substituído por FAM (490- 520 nm) e BHQ por TAMRA. Os resultados foram analisados pelo programa StepOne Software v2.1(*Applied Biosystems*), adotando-se o grau de confiança de 95%.

5 RESULTADOS

Do total de 405 amostras analisadas, sete foram positivas para *Salmonella* sp. conforme demonstrado na Tabela 1. De acordo com a sorotipificação identificou-se dois sorovares.

Tabela 1. Sorovares de *Salmonella* sp. identificados em vísceras comestíveis de frangos

Categoria	Número (%) positivo)	Procedência		Sorovares	
		A	B	<i>S. Schwarzengrund</i>	<i>S. Minnesota</i>
Coração	150 (2)	1	2*	-	3
Fígado	150 (2,67)	0	4*	1	3
Vesícula Biliar	105 (0)	0	0	-	-
Total	405 (1,73)	1	6	1	6

Pelos resultados, observa-se que os isolados foram provenientes de sete diferentes lotes e de vísceras a serem destinadas à alimentação humana. Em corações identificou-se *Salmonella* Minnesota e em fígados *Salmonella* Minnesota e *Salmonella* Schwarzengrund.

Os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos podem ser visualizados na Tabela 2.

Tabela 2- Suscetibilidade dos isolados às bases de antimicrobianos.

Agentes antimicrobianos	Grau de suscetibilidade		
	Resistente	Sensibilidade Intermediária	Sensível
Aminoglicosídeos			
Gentamicina 10µg*	7/7	-	-
Penicilinas			
Ampicilina 10µg	5/7	-	2/7
Amoxicilina 10µg	5/7	-	2/7
Quinolonas			
Ciprofloxacina 5µg	7/7	-	-
Enrofloxacina 5µg	7/7	-	-
Tetraciclina			
Doxiciclina 30µg	5/7	-	2/7
Tetraciclina 30µg	5/7	-	2/7
Inibidores das vias de folato			

Sulfametoxazol+ trimetoprim 25 µg	-	-	7/7
Anfenicóis			
Florfenicol 30µg	2/7	-	-

Por sua vez, as pesquisas de genes mostraram que os genes *invA* e *spvC* foram detectados. Quanto ao gene *sul1*, dos sete isolados, apenas quatro apresentaram este gene, em três amostras de fígado e uma de coração todas relacionadas a *Salmonella* Minnesota. Para o gene *bla*_{TEM}, todos os isolados o apresentaram. Os resultados da pesquisa de genes estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3- Genes de virulência e resistência identificados nos isolados

Sorovares	n	Gene de resistência			
		<i>invA</i>	<i>spvC</i>	<i>sul1</i>	<i>bla</i> _{TEM}
<i>Salmonella</i> Schwarzengrund	1	1/1	-	-	1/1
<i>Salmonella</i> Minnesota	6	6/6	3/6	4/6	6/6

6 DISCUSSÃO

O consumo de carne e vísceras de aves sem cozimento adequado ou contaminadas por *Salmonella* sp. durante a preparação de alimentos compõem situações de risco que aumentam a probabilidade de infecções em humanos⁴⁹. Certamente, as questões comportamentais e os hábitos, nem sempre compõem o principal sentido quando avaliada a disponibilidade do alimento. No entanto, os estudos mais recentes quanto ao tipo de mercado a que se destinam determinadas matrizes alimentares, não têm descartado as preferências dos consumidores, por entenderem que este quesito define a avaliação do risco e exposição ao risco a alimentos contaminados.

Neste estudo, 1,73% do total de amostras analisadas foram positivas para *Salmonella* sp., sendo que o órgão de maior contaminação foi o fígado, seguido do coração. Este resultado é bem inferior se comparado com a pesquisa realizada por Elghany et al.⁵⁰ que identificou 34% das amostras avaliadas como positivas. Embora o fígado também teve destaque como a segunda víscera mais contaminada pela bactéria. Os valores percentuais para bactérias patogênicas, não atrela-se à quantificação e sim à ocorrência ou não do micro-organismo, neste caso preocupante.

Segundo Scallan et al.⁵¹, patógenos que são ubiqüitários, como no caso da *Salmonella* sp., presentes no meio ambiente e com potencial zoonótico são potencialmente influenciados por mudanças climáticas, o que se observa claramente durante o ano, principalmente em países com estações do ano bem definidas.

A variabilidade em relação à frequência de isolamento de *Salmonella* sp., em diferentes estudos, pode ser atribuída às diferenças geográficas, além das condições higiênico-sanitárias do abatedouro e à possibilidade de contaminação cruzada dos produtos nos diferentes estágios do abate de aves⁵². Além destas informações, pode-se afirmar que o ensaio analítico com bacteriologia convencional, bem como a forma como as amostras foram colhidas, estocadas, transportadas e analisadas seguiu o padrão de ensaios internacionais, não podendo ter oferecido influência para a identificação da frequência de isolamento.

Na Tailândia, um estudo conduzido por Jaowapa et al.⁵³, o índice de contaminação por *Salmonella* sp. em moelas, corações e fígados foi de 86%. Na Etiópia, Molla et al.⁵⁴, expuseram que 34% dos fígados analisados estavam contaminados. Na Argentina, Favier et al.⁵⁵, identificaram resultado similar ao encontrado neste estudo, onde 3% das amostras analisadas estavam contaminadas com *Salmonella* sp., o que confirma a temporalidade definida também por Acar et al.⁵⁶.

As maiores fontes de contaminação de moelas e fígados podem ser atribuídas a grande manipulação dessas vísceras e a contaminação por conteúdo intestinal e durante a evisceração das aves⁵². Ressalta-se que durante a obtenção das amostras, não houve ruptura de vísceras que comprometesse a qualidade da amostra.

A presença da bactéria nas áreas de abate, quer seja em carcaças, em suabes de equipamentos, em vísceras destinadas ao consumo ou não, pode estar atribuída ao risco de favorecer a contaminação cruzada. Frequentemente relata-se a ocorrência deste tipo de contaminação por *Salmonella* sp. proveniente de equipamentos, utensílios e mãos dos manipuladores com subsequente contato com carcaças e outros produtos avícolas⁵⁷.

Um estudo conduzido por Minharro et al.⁵⁸ obteve como resultado que órgãos com alterações visíveis como pericardite e perihepatite tiveram maior número de amostras positivas para *Salmonella* sp. em comparação aos órgãos com aparência normal, no caso da presente pesquisa todos os órgãos coletados não apresentavam alterações visuais, por já ter ocorrido a evisceração e o separação do órgão por lesão identificada.

Outro fator a considerar, é que o menor percentual de vísceras contaminadas nesta pesquisa pode estar relacionado às condições higiênicas dos estabelecimentos no qual foram realizadas as coletas e ao processo automatizado, o que permite menor manipulação das vísceras dificultando assim a contaminação do ambiente. Os percentuais identificados, apesar de terem valores mais baixos, não isentam a afirmação de que a víscera é imprópria para o consumo.

Por outro lado, a informação de que a distribuição dos sorovares de *Salmonella* sp. varia ao longo do tempo⁵⁹ está relacionada com o fluxo de circulação do patógeno em planteis avícolas, podendo ocorrer variação, apesar da classificação de mais de 2.610 sorovares do gênero⁶⁰.

Em relação aos sorovares, comparando o presente estudo a outros, verificou-se que *S. Minnesota* e *S. Schwarzengrund* também foram identificados na pesquisa conduzida por Minharro S. et al.⁵⁸ em amostras de fígado (*S. Minnesota*) e coração (*S. Schwarzengrund*) também originárias do estado de Goiás. Entre 2009 e 2010, Voss-Rech et al.⁶¹ identificaram em amostras de *swabs* coletadas nos estados de Santa Catarina, Mato Grosso do Sul e do Paraná 19 sorovares diferentes, destes *S. Minnesota* teve a maior incidência em relação aos demais isolados representando 40,24% do total de amostras positivas e 86,8% das amostras provenientes do estado do Mato Grosso do Sul, enquanto *S. Schwarzengrund* representou apenas 4,87% do total de amostras positivas, este resultado é similar ao que foi encontrado nesta pesquisa onde *S. Minnesota* (85,71%) apresentou incidência muito maior do que *S. Schwarzengrund* (14,29%) das amostras analisadas. A menor ocorrência do sorovar β -

lactâmicos, também foi demonstrada na pesquisa de Pandini et al.⁶² representando 7,7% das amostras positivas isoladas de granjas avícolas no estado do Paraná. *S. Minnesota* foi considerado um dos sorovares mais prevalentes em granjas de frangos de corte na Bélgica, na última década⁶³.

Um quesito de grande importância refere-se ao fato da disseminação e propagação em órgãos intestinais e extra-intestinais. As características do patógeno, para adaptação a pequenas modificações do meio de invasão e instalação em nichos específicos, como órgãos em aves, define a capacidade de permanência da bactéria. Claramente esta adaptação pode ocorrer em função do genótipo do sorovar, como a presença do gene plasmidial *spcV* que está relacionado à capacidade de persistir em órgãos e definir virulência^{42,64}. Neste caso, o gene foi identificado no sorovar Minnesota, havendo clara contaminação de órgãos pela disseminação de *Salmonella* sp., fato que encontra suporte nas descrições de Cox et al.⁶⁵.

Em geral as salmoneloses são infecções que não necessitam da utilização de antibióticos. Entretanto, infecções causadas por bactérias com genes de resistência a antibióticos têm um importante impacto na saúde pública⁶⁶. A emergência de sorovares de *Salmonella* multirresistentes às terapias com antibióticos tem um grande impacto na saúde humana e indiretamente contribui para a disseminação de elementos de resistência a outros patógenos⁶⁷.

A alta prevalência de resistência antimicrobiana de isolados que têm como fonte alimentos traz muita preocupação e alerta às instituições de pesquisa e órgãos de fiscalização e regulamentação. Dos princípios testados neste estudo, ciprofloxacina, enrofloxacin, gentamicina e florfenicol, apresentaram 100% de resistência enquanto outros quatro antibióticos apresentaram 71,42% de resistência: amoxicilina, ampicilina, doxiciclina e tetraciclina.

Rassan et al.⁶⁸ em uma pesquisa realizada no Egito também encontraram 100% de resistência a ciprofloxacina, embora o mesmo foi constatado para os antibióticos ampicilina, ácido nalidíxico e a tetraciclina.

Em uma pesquisa realizada no estado de Tocantins, Minharro et al.⁵⁸ encontrou 100% de sensibilidade nos antibióticos: ciprofloxacina, doxiciclina, oxitetraciclina, tetraciclina e sulfametoxazol/Trimetoprim, em contraste com os resultados encontrados.

Voss-Rech et al.⁶¹ encontraram níveis de resistência a tetraciclina similares ao desta pesquisa, 65,8% das amostras foram resistentes. Wang et al. obtiveram 70,6% de resistência a tetraciclina em sorovares de *Salmonella* sp. isolados em províncias chinesas entre 2007 e 2012, com exceção do ano de 2009, resultado bem próximo do encontrado nesta pesquisa, contudo os

resultados de resistência para ampicilina (53,2%) e gentamicina (31,1%) foram inferiores aos encontrados nesta pesquisa⁶⁹.

A alta frequência de resistência a tetraciclina é esperada pois este antimicrobiano foi um dos primeiros antibióticos utilizados na produção animal⁷⁰. No Brasil, desde 1998 as tetraciclina foram proibidas de serem utilizadas como aditivos na produção de frangos, contudo ainda continuam sendo utilizadas de forma terapêutica o que contribui para a pressão de seleção de bactérias resistentes⁷¹.

O potencial de virulência das bactérias patogênicas é influenciado pela presença de genes de virulência e resistência antimicrobiana⁷². Apesar dos sorovares de *S. enterica* serem potencialmente patogênicos, há diferenças consideráveis em relação à virulência bacteriana expressa em humanos, fator que tem sido atribuído a ausência ou presença de plasmídios que carregam genes de virulência⁷³.

Todos os quatro genes analisados *invA*, *spvC*, *sul1* e *blaTEM* foram identificados.

Cabe ressaltar que o gene *invA*, identificado em todos os sorovares, é caracterizado como um gene conservado para o gene. Para o gene *spvC*, 3/6 (50%) *Salmonella* Minnesota o apresentaram. Em contraste, ADB-Elghany et al. encontraram 25,3% em carne e vísceras de aves, positivas para o gene *spvC*⁷⁴. O gene plasmidial *spvC* encontrado na *Salmonella* sp. aumenta o fator de crescimento da bactéria na célula do hospedeiro e afeta a sua interação em relação ao sistema imunológico do mesmo⁷⁵. Este tipo de resultado tem suporte nas afirmações de Heintz et al.⁷⁶, quando também não encontraram plasmídeos de virulência no sorovar Typhimurium de animais e humanos doentes.

Estudos mostram que a variabilidade para a presença do gene *spvC* é alta, Ling⁷⁷ identificou que apenas 15% das cepas apresentavam *spvC* dos 58 sorovares de *Salmonella* analisados, ainda, observou que existe variabilidade do gene quanto ao sorovar relacionado.

Referentes aos genes de resistência pesquisados, os resultados evidenciam a existência dos genes *sul1* (*Salmonella* Minnesota) e β -lactâmicos (*Salmonella* Minnesota e *Salmonella* Schwarzgrund), embora exista a informação de que genes de resistência a antibióticos possam ser silenciosos na *Salmonella* sp⁷⁸. Dos 45 isolados de *Salmonella* sp. Moraes⁷⁹ encontrou 90% de resistência ao antibiótico sulfametaxazol e 51% às sulfonamidas, embora em apenas 13,33% destes mesmos isolados foram identificados o gene *sul1* e não identificou o gene *blaTEM*. Em uma pesquisa realizada por Zishiri et al.⁸⁰ na África do Sul, de frangos provenientes do Brasil, o gene *sul1* teve a maior prevalência (83% das amostras).

Os dados do presente estudo refletem que há expressão de resistência a sulfonamidas e β -lactâmicos, pelos dois sorovares, sendo que a pesquisa deste gene nos isolados pode ser uma boa ferramenta para agrupamento de dados sobre resistência^{56,64,81-85}. Conforme dados de estudos relacionados a isolados da Bélgica, França e Brasil^{86,87}, há grande variabilidade para o gene *bla*TEM, bem como apresenta caráter de emergência, pela amplitude da resistência a β -lactâmicos que pode estar ocorrendo nos isolados brasileiros, salientando a importância de registrar conforme a região geográfica do país de ocorrência para sorovar e gene identificado. Neste sentido e atendendo as solicitações da Organização Mundial de Saúde, a pesquisa de resposta a suscetibilidade a antimicrobianos pode ser feita por meio dos recursos analíticos que estejam amparados no perfil fenotípico, bem como na pesquisa de genótipos circulantes.

7 CONCLUSÃO

Salmonella Minnesota e *Salmonella* Schwarzengrund foram identificados em vísceras comestíveis de frangos. O sorovar de maior frequência foi Minnesota. Identificou-se resistência em todos os isolados para ciprofloxacina, enrofloxacin, gentamicina e florfenicol. Os genes de virulência (*invA*) e resistência (*bla*TEM) foram identificados em 100% dos isolados. *Salmonella* Schwarzengrund não apresentou genes de virulência (*spvC*) e resistência (*su1*). *Salmonella* Minnesota apresentou os dois genes de virulência e os dois genes de resistência investigados. Os isolados configuram risco para doença em humanos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Majowicz SE, Musto J, Scallan E, Angulo FJ, Kirk M, O'Brien SJ, Jones TF, Fazil A, Hoekstra RM. The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. International Collaboration on Enteric Disease 'Burden of Illness' Studies. Clin Infect Dis. 2010;50(6):882-9.
2. Evangelista J. Tecnologia de alimentos. São Paulo, Atheneu. 2002;2.
3. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Eight Multistate Outbreaks of Human *Salmonella* Infections Linked to Live Poultry in Backyard Flocks (Final Update). *Salmonella* homepage. Outbreaks. 2016. Acesso em 05 de jun 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/salmonella/live-poultry-05-16/index.html>
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Doenças transmitidas por alimentos. Brasília: Ministério da saúde, 2015. [acesso em: 01 nov. 2016]. Disponível em: <http://u.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/09/Apresenta---o-dados-gerais-DTA-2015.pdf>
5. Tiwari R, Singh SP, Singh R. Study on prevalence of *Salmonella* serotypes among poultry and cattle in and around Patnagar. J Vet Pub HIth. 2014;12(2):85-88.
6. Bhunia AK. Foodborne microbial pathogens: Mechanisms and pathogenesis. United States of America: Springer Science + Business Media, LLC. 2008;201-215.
7. Berndt A. Chicken cecum immuneresponse to *Salmonella enterica* serovars of diferente levels of invasiveness. Infection and Immunity. 2007;75(12):5993-6007.
8. D'Aoust JY, Maurer J. *Salmonella* species. Food Microbiology. Fundamentals and Fontiers. Washington. ASM Press. 2007;(3):187-188.
9. Iseenhuth-Jeanjean S, Roggentin P, Mikoleit M, Guibourdenche M, DE Pinna E, Nair S, Fileds PI, Weill FX. Supplement 2008-2010 (n° 48) to the White-Kauffman-Le Minor scheme. Res Microbiol. 2014;165(7):526-30.
10. Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. Salmonella nomenclature. J Clin Microbiol. 2000;38(7):2465-2467.
11. Hu L, Kopecko DJ. Typhoid *Salmonella*. In Millotis, M. D. and Bier, J. W. (Eds.). International handbook of foodborne pathogens, 2003:151-165.
12. Gomes AVS, Quinteiro-Filho WM, Ribeiro A, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro ML, Baskeville E, Akamine AT, Astolfi-Ferreira CS, Ferreira AJP, Palermo-Neto J. Overcrowding stress decreases macrophage activity and increases *Salmonella* Enteritidis invasion in broiler chickens. Avian Pathol. 2014;43(1):82-90.
13. Quinteiro Filho WM, Gomes AVS, Pinheiro ML, Ribeiro A, Ferrazde-Paula V, Astolfi-Ferreira CS, Ferreira AJP, Palermo-Neto J. Heat stress impairs performance and induces intestinal inflammation in broiler chickens infected with *Salmonella* Enteritidis. Avian Pathol. 2012;41(5):421-427.

14. Chappell L, Kaiser P, Barrow P, Jones BMA, Johnston C, Wigley P. The immunobiology of avian systemic salmonellosis, *Veterinary. Immunology and Immunopathology*, Amsterdam. 2009.128(1-3):53-59.
15. Terzolo H. Bacteriological study of avian salmonellosis *S. pullorum*, *S. gallinarum*, *S. enteritidis* and *S. typhimurium* in Latin America. International Seminar on Avian Salmonellosis. Alberto R. Rio Janeiro. Brazil. 2011:28-30.
16. Zamora-Sanabria R, Alvarado AM. Preharvest Salmonella Risk Contamination and the Control Strategies. Current Topics in *Salmonella* and Salmonellosis. Mihai Mares. InTech. 2017. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/current-topics-in-salmonella-and-salmonellosis/preharvest-salmonella-risk-contamination-and-the-control-strategies>. Acesso: 25 de junho de 2017.
17. Bailey J.S., Stern, N.J., Fedorka-Cray P., Craven S.E., Cox N.A., Cosby D.E., Ladely S., Musgrove T.M. Sources and movement of *Salmonella* through integrated poultry operations: A multistate epidemiological investigation. *Journal of Food Protection*. 2001;64(11):1690-1697.
18. Poppe C, Johnson R, Forsberg C, Irwin R. *Salmonella* enteritidis and other *Salmonella* in laying hens and eggs from flocks with Salmonella in their environment. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 1992;56:226-232.
19. Capita R, Alonso-Calleja C. Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2013;53:11-48.
20. Rosenblatt-Farrell N. The landscape of antibiotic resistance. *Environ. Health Persp.* 2009;117(6): A245–A250).
21. WHO. World Health Organization. Antimicrobial resistance. Fact sheet N° 194. 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>. Data de acesso: 12 de maio de 2017.
22. Mulvey MR, Simor AE. Antimicrobial resistance in hospitals: How concerned should we be? *Can. Med. Assoc. J.* 2009;180(4): 408–415.
23. Alanis AJ. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Arch. Med. Res.* 2005;36(6): 697–705.
24. SCENIHR. Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. 2009. Disponível em: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_023.pdf
25. Threlfall EJ. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food and water-borne infection. *FEMS Microbiol Reviews*. 2002;26:141-148.
26. Bai AJ, Rai VR. Bacterial Quorum Sensing and Food Industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2011;10(3):183-193.
27. Singh BN, Singh BR, Singh RL, Prakash D, Sarma BK, Singh HB. Antioxidant and anti-quorum sensing activities of green pod of *Acacia nilotica* L. *Food Chem Toxicol*. 2009;47:778-786.

28. Rocha-Estrada J, Aceves-Diez A, Guarneros G, de la Torre M. The RNPP family of quorum-sensing proteins in Gram-positive bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010;87:913-923.
29. May AL, Eisenhauer ME, Coulston KS, Campagna SR. Detection and Quantitation of Bacterial Acylhomoserine Lactone Quorum Sensing Molecules via Liquid Chromatography-Isotope Dilution Tandem Mass Spectrometry. *Anal Chem.* 2011;84:1243-1252.
30. Ng WL, Bassler BL. Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annu Rev Genet.* 2009;43: 197–222.
31. Parsek MR, Val DL, Hanzelka BL, Cronan JE, Jr, Greenberg EP. Acylhomoserine-lactone quorum-sensing signal generation. *Proc.Natl. Acad. Sci.* 1999;96:4360–4365.
32. Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2001;55:165–99.
33. Shompole S, Henon KT, Liou LE, Dziewanowska K, Bohach GA, Bayles KW. Biphasic intra cellular expression of *Staphylococcus aureus* virulence factors and evidence for agr-mediated diffusion sensing. *Mol Microbiol* 2003;49:919–27.
34. Jefferson KK. What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiol. Lett.* 2004;236:163–173.
35. Chorianopoulos NG, Giaouris ED, Kourkoutas I, Nychas G-JE. Inhibition of the early stage of *Salmonella* enterica serovar Enteritidis biofilm development on stainless steel by cell-free supernatant of a *Hafnia* alveiculture. *Appl. Environ. Microbiol.*2010;76:2018–2022.
36. Sifri CD. Quorum Sensing: Bacteria Talk Sense. *Clinical Infectious Diseases.* 2008;47(8):1070–1076.
37. Worthington RJ, Richards JJ, Melander C. Non-Microbicidal Control of Bacterial Biofilms with Small Molecules. *Bentham Sci.* 2014;12(1);120-138.
38. Merighi MA, Carroll-Portillo A, Septer N, Bhatiya A, Gunn JS. Role of *Salmonella* enterica serovar Typhimurium two-component system PreA/PreB in modulating PmrA-regulated gene transcription. *J. Bacteriol.* 2006;188:141-149.
39. Sperandio V, Torres AG, Jarvis B, Nataro JP, Kaper JB. Bacteria host communication: the language of hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2003;100:8951-56.
40. Clarke MB, Sperandio V. Transcriptional regulation of flhDC by QseBC and sigma (FliA) in enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 2005;57:1734–1749.
41. Rasko DA, Moreira CG, Li R, Reading NC, Ritchie JM, Waldor MK, Williams N, Taussig R, Wei S, Roth M, Hughes DT, Huntley JF, Fina MW, Falck JR, Sperandio V. Targeting QseC signaling and virulence for antibiotic development. *Science.* 2008;321:1078-1080.
42. Amini K, Salehi TZ, Nikbakhht G, Ranjbar R, Amini J, Ashrafganjooei SB. Molecular detection of *invA* and *spcV* virulence genes in *Salmonella* Enteritidis isolated from human and animals in Iran. *African Journal of Microbiology Research.* 2010;21(4);2202-2210.

43. Pignato S, Coniglio MA, Faro G, Lefevre M, Weill FX, Giammanco G. Molecular Epidemiology of Ampicillin Resistance in *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* from Wastewater and Clinical Specimens. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2010;7(8):945-951.
44. Antunes P, Machado J, Sousa JC, Peixe L. Dissemination of sulfonamide resistance genes (sul1, sul2, and sul3) in portuguese *Salmonella enterica* strains and relation with integrons. *Am Soc Microbiol*. 2005; 49(2): 836–839.
45. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N°62 de 26 de agosto de 2003. Anexo I, Capítulo XV.
46. NCCLS- National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Bacterial from Animal*. 2002:81.
47. CLSI- Clinical And Laboratory Standards Institute. *Permanence standards for antimicrobial susceptibility testing*. M100. 2017:32.
48. Bugarel M, Granier AS, Weill FX, Fach P, Brisabois A. A multiplex real-time PCR assay targeting virulence and resistance genes in *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *BMC Microbiol*. 2011;(11)151:1-11.
49. FSIS/USDA. Compliance guideline for controlling *Salmonella* and *Campylobacter* in poultry. Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service. 2010;3.
50. Abd-elghany SM, Sallam KI, Abd-elkhalek A, Tamura T. Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from chicken meat and giblets. *Epidemiol. Infect*. 2015;143:997–1003.
51. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States – major pathogens. *Emerg Infect Dis*. 2011;17: 7–15.
52. Defra. UK National Control Programme for *Salmonella* in chickens (*Gallus gallus*) reared for meat (broilers) Disponível em: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/183080/salmonella-broilers.pdf Acesso em: 26 de maio de 2017.
53. Jaowapa J, Koowatananukul C, Daengprom K, Saitanu K. Occurrence of salmonellae in raw broilers and their products in Thailand. *Journal of Food Protection* 1994; 57: 808–810.
54. Molla B, Mesfin A. A survey of *Salmonella* contamination in chicken carcass and giblets in central Ethiopia. *Revue de Medecine Veterinaire* 2003; 154: 267–270.
55. Favier GI, Cecilia SM, Estrada L, Otero VL, Escudero ME. Prevalence, antimicrobial susceptibility and molecular characterization by PCR and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) of *Salmonella* spp. isolated from foods of animal origin in San Luis, Argentina. *Food Control* 2013; 29: 49–54.].
56. Acar S, Bulut E, Uner I, Kur M, Avsaroglu MD, Kirmarci HA, Tel YO, Zeyrek FY, Soyer Y. Phenotyping and genetic characterization of *Salmonella enterica* isolates from Turkey revealing arise of different features specific to geography. *International Journal of Food Microbiology*. 2017; 98:107.

57. Yildirim Y, Gonulalan Z, Pamuk S, Ertas N. Incidence and antibiotic resistance of *Salmonella* spp. on raw chicken carcasses. *Food Research International* 2011; 44: 725–728.
58. Minharro S, Nascimento CA, Galleti JP, Merisse TJ, Feitosa ACF, Santos HD, Dias FEF, Santana ES, Baldani CD, Andrade MA. Susceptibilidade antimicrobiana de sorovares de *Salmonella* sp. isolados de vísceras comestíveis e carcaças de aves abatidas no estado do Tocantins, Brasil. *Semina Ciências Agrárias*. 2015;36(4):2661-2670.
59. Hendriksen RS, Vieira AR, Karlsmose S, Wong DML, Jensen AB, Wegener HC, Aarestrup FM. Global monitoring of *Salmonella* serovar distribution from the World Health Organization global foodborne infections network country data bank: Results of quality assured laboratories from 2001 to 2007. *Foodborne Pathog Dis*. 2011;8:887-900.
60. Mezal EH, Stefanova R, Khan AA. Isolation and molecular characterization of *Salmonella* entérica serovar Javiana from food, environmental and clinical samples. *International Journal of food Microbiology*. 2013.164(1):113-118.
61. Voss-Rech D, Vaz, CSL, Alves L, Coldebella A, Leão JA, Rodrigues DP, Back A. A temporal study of *Salmonella enterica* serotypes from broiler farms in Brazil. *Poult Sci*. 2015;94(3):433-41.
62. Pandini JA, Pinto FGS, Muller JM, Weber LD, Moura AC. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. Isolados de aviários do Paraná, Brasil. *Arq. Inst. Biol*. 2014;20(4):1-6.
63. CODA-CERVA. *Salmonella* serotypes analysed at the CODA-CERVA 2013. Federal Public Service Health. Food Chain Security and Environment, Brussels, Belgium.
64. Lianou A, Nychas GJE, Koutsoumanis. Variability in the adaptive acid tolerance response phenotype of *Salmonella enterica* strains. *Food Microbiol*. 2017;62:99-105.
65. Cox NA, Richardson LJ, Buhr RJ, Northcutt JK, Bailey JS, Cray PF, Hiatt KL. 2007. Recovery of *Campylobacter* and *Salmonella* serovars from the spleen, liver and gallbladder, and ceca of six- and eight-week-old commercial broilers. *J Appl Poult Res* 16:477–480.
66. Zou M, Keelara S, Thakur S. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates from humans by antimicrobial resistance, virulence genes and pulsed field gel electrophoresis. *Foodborne Pathog Dis*. 2012;9:232-238.
67. Frye JG, Jackson CR. Genetic mechanisms of antimicrobial resistance identified in *Salmonella* entérica, *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. Isolated from U.S. food animals. *Front Microbiol*. 2013;(4)135:1-22.
68. Hassan Abdel-Rahim HA, Salam HSH, Abdel-Latef GK. Serological identification and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates broiler carcasses and humans stools in Beni-Suef, Egypt. Beni-Suef University. *J Basic Appl Sci*. 2016;(5)2:202-207.
69. Wang Y, Cao W, Alali WQ, Cui S, Li F, Zhu J, Wang X, Meng J, Yang B. Distribution and antimicrobial susceptibility of foodborne *Salmonella* serovars in eight provinces in China from 2007 to 2012 (except 2009). *Foodborne Pathog Dis*. 2017;20(20).

70. Muhammad M, Muhammad LU, Ambali AG, Mani AU, Azard S, Barco L. Prevalence of *Salmonella* associated with chick mortality at hatching and their susceptibility to antimicrobial agents. *Vet Microbiol.* 2010;140:131-135.
71. Lai J, Wu Co., Wu CH, Qi J, Wang Y, Wang H, Liu Y, Shen J. Serotype distribution and antibiotic resistance of *Salmonella* in food-producing animals in Shandong province of China, 2009-2012. *Int J Food Microbiol.* 2014;180:30-38.
72. Capuano F, Mancusi A, Capparelli R, Espesito S, Proroga YT. Characterization of drug resistance and virulotypes of *Salmonella* strains isolated from food and humans. *Foodborne Pathog Dis.* 2013;10:963-968.
73. Porwollik S, Boyd EF, Choy C, Cheng P, Florea L, Proctor E, McClelland M. Characterization of *Salmonella enterica* subspecies I genovars by use of microarrays. *J Bacteriol.* 2004;186:5883-5898.
74. ADB-Elghany, Sallam KI, ABD-Elkhalek, Tamura T. Occurrence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from chicken meat and giblets. *Epidemiol Infect.* 2015;143:997-1003.
75. Gulig PA, Danbara H, Guiney DG, Lax AJ, Norel F, Rhen M. Molecular analysis of spv virulence genes of the *Salmonella* virulence plasmids. *Molecular Microbiology.* 1993;7:823-830.
76. Heithoff DM, Shimp WR, Lau, PW, Badie G, Enioutina EY, Daynes RA, Byrne BA, House JK, Mahan MJ. Human *Salmonella* clinical isolates distinct from those of animal origin. *J App Environ Microbiol.* 2008;(74)6:1757-1766.
77. Ling JML. Rapid detection of food-borne pathogens in clinical specimens, food and environmental samples. *Hong Kong Med J.* 2009;(15)1:26-29.
78. Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock IJ, Woodward MJ. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. *J Antimicrob Chemother.* 2004;53:208-216.
79. Moraes D. Investigação bacteriológica e molecular de salmonella sp. em granjas de postura comercial. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Goiás. 2014.
80. Zishiri OT, Mkhike N, Mukaratirwa S. Prevalence of virulence and antimicrobial resistance genes in *Salmonella* spp. Isolated from commercial chickens and human clinical isolates from South Africa and Brazil. *Onderstepoort J Vet Res.* 2016;83(1).
81. Kilroy S, Raspoet R, Martel A, Bosseler L, Appia-Ayme C, Thompson A, Haesebrouck F, Ducatelle R, Immerseel FV. *Salmonella* Enteritidis flagellar mutants have a colonization benefit in the chicken oviduct. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2017;50:23-28.
82. Zou QH, Li RQ, Liu GR, Liu SL. Genotyping of *Salmonella* with lineage-specific genes: correlation with serotyping. *Int J Infect Dis.* 2016;49:134-140.

83. Meng H, Zhang Z, Chen M, Su Y, Li L, Miyoshi S, Yan H, Shi L. Characterization and horizontal transfer of class 1 integrons in *Salmonella* strains isolated from food products of animal origin. *Int J Food Microbiol*. 2011;149:274-277.
84. Hsu YM, Tang CY, Lin H, Chen YH, Chen YL, Su YH, Chen DS, Lin JH, Chang CC. Comparative study of class 1 integron, ampicilina, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole, tetracycline (ACSSuT) and fluroquinolone resistance in various *Salmonella* serovars from humans and animals. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2013;36:9-16.
85. Li K, Ye S, Alali WQ, Wang Y, Wang X, Xia X, Yang B. Antimicrobial susceptibility, virulence genes and pulsed-field gel electrophoresis profiles of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium recovered from retail raw chickens, China. *Food Control*. 2017;72:36-42.
86. Cloeckaert A, Praud K, Doublet B, Bertini A, Carattoli A, Butaye P, Imberechts H, Bertrand S, Collard J M, Arlet G, Weill F X. Dissemination of an Extended-Spectrum- β -Lactamase *bla*_{TEM-52} Gene-Carrying IncII Plasmid in Various *Salmonella enterica* Serovars Isolated from Poultry and Humans in Belgium and France between 2001 and 2005. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2007. 51:2, 1872–1875.
87. Fitch F M, Carmo-Rodrigues M S, Oliveira V G S, Gaspari M V, dos Santos A, Freitas J B, Pignatari A C C. β -lactam resistance genes: characterization, epidemiology, and first detection of *blactx-m-1* and *blactx-m-14* in *Salmonella* spp. isolated from poultry in Brazil—Brazil ministry of agriculture's pathogen reduction program. *Microbial Drug Resistance*. 2016; 22:2, 164-71.