

VIRULÊNCIA DE *Salmonella* spp. DE ORIGEM AVÍCOLA E RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

VIRULENCE OF *Salmonella* spp. OF POULTRY PRODUCTS ORIGIN AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE

Vânia Maria Cristina Alves GALDINO¹, Roberta Torres de MELO²,
Raquel Peres OLIVEIRA³, Eliane Pereira MENDONÇA⁴, Priscila Christen NALEVAIKO⁵,
Daise Aparecida ROSSI⁶

1. Médica Veterinária, Mestre em Patologia Animal, Especialista em Ciência Avícola, pela Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia, MG, Brasil. vaniagaldino@ig.com.br; 2. Bióloga, Mestre em Ciências Veterinárias, doutoranda em Ciências Veterinárias - UFU, Uberlândia, MG, Brasil; 3. Médica Veterinária, mestranda em Ciências Veterinárias - UFU, Uberlândia, MG, Brasil; 4. Médica Veterinária, Mestre em Ciências Veterinárias, doutoranda em Ciências Veterinárias - UFU, Uberlândia, MG, Brasil; 5. Médica Veterinária pela UFU, Uberlândia, MG, Brasil; 6. Professora titular da Faculdade de Medicina Veterinária -UFU, Uberlândia, MG, Brasil.

RESUMO: A habilidade do gênero *Salmonella* em causar doenças depende de vários fatores genéticos determinantes, dentre eles destacam-se os genes que codificam alguma característica de virulência nessas bactérias. Objetivou-se com esse trabalho pesquisar genes associados à virulência em isolados de *Salmonella* spp. de origem avícola, em sua fase de aderência e invasão celular, e avaliar a resistência desses isolados a 11 antimicrobianos. Foram analisadas 18 amostras de *Salmonella* spp. isoladas durante o ano de 2009 a partir de suabes de arrasto provenientes de aviários de frango de corte do estado de São Paulo. Todas as amostras foram testadas através da técnica de PCR para os genes associados à virulência: *invA*, *lpfA* e *agfA*. A maioria das amostras apresentou alta positividade para os genes de virulência, e 88,9% das amostras apresentaram os três genes estudados. Verificou-se que 17 amostras (94,4%) apresentaram fragmentos específicos para os genes *invA* e *lpfA* e o gene *agfA* foi positivo em todas as amostras avaliadas (100%). Todas as cepas apresentaram resistência pelo menos a um antimicrobiano testado. Os dados indicaram que das amostras analisadas a maior resistência foi à amoxicilina com 27,7%. Os resultados demonstram a patogenicidade dos sorovares de *Salmonella*, que representam potenciais desafios sanitários na avicultura, pelo risco da disseminação de espécimes virulentos e multirresistentes entre os animais e que, conseqüentemente, podem acometer o homem.

PALAVRAS-CHAVE: Adesão. Antibiograma. Genes de virulência. Invasão. *Salmonella* spp.

INTRODUÇÃO

A ocorrência de infecções alimentares em seres humanos ocasionadas por microrganismos do gênero *Salmonella* continua sendo um dos principais problemas para a avicultura. A ingestão de alimentos e água contendo células viáveis da bactéria é a via mais comum de infecção do hospedeiro (OMWANDHO; KUBOTA, 2010). Produtos alimentícios derivados de aves como carne e ovos, segundo dados da EFSA (2006) e Gantois et al. (2009), são as principais formas de infecção de *Salmonella* spp. em seres humanos.

Um grande número de sorovares de *Salmonella* é patogênico para o ser humano, causando quadros clínicos que vão desde assintomáticos até casos mais graves como septicemia, febre entérica, artrite, infecção vascular, osteomielite e morte. Febre, dores abdominais e diarreia ocorrem cerca de 12 a 36 horas após o consumo de um alimento contaminado (FIOCRUZ, 2008).

A habilidade do gênero *Salmonella* em causar doenças depende de vários fatores de virulência determinantes. Alguns desses fatores podem estar localizados em elementos genéticos transmissíveis, como os *transposons*, plasmídeos ou bacteriófagos, assim como fazer parte de regiões específicas do cromossomo da bactéria, as chamadas de Ilhas de Patogenicidade (IP), que segundo Vieira (2009), são locais que agrupam a maioria dos genes de virulência dessa bactéria.

A capacidade de invadir é um importante fator que influencia na virulência do gênero *Salmonella*. A espécie *bongori* e todos os sorovares da espécie *enterica* possuem o *operon* de genes *Inv* (*invasibility*), que determina a característica de invasão intestinal, mas não de infecção sistêmica. O gene *invA* pode estar presente em todos os sorovares de *Salmonella* spp., permitindo que este seja usado como alvo para a detecção da bactéria pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (WHANG et al., 2009).

A fixação da bactéria à célula do hospedeiro é essencial a sua patogenicidade. Antes de invadir

qualquer tipo de célula, as enterobactérias necessitam entrar em contato e se fixar a um ou mais tipos celulares encontrados no tecido intestinal. De acordo com Gibson et al. (2007), esse evento é mediado pelas fímbrias.

Além da fixação na célula do hospedeiro, as fímbrias têm um papel importante na adesão às superfícies, persistência ambiental e na formação de biofilmes (GIBSON et al., 2007). De acordo com Darwin e Miller (1999), quatro tipos de fímbrias ou *pilli* têm sido descritos geneticamente: fímbrias do tipo I (Fim), codificadas por plasmídeos; fímbria polar longa, fímbrias agregativas e a fímbria específica de *Salmonella* Enteritidis. Dentre o conjunto de genes fimbriais *Salmonella* específicos, está incluído o *lpf* (*long polar fimbriae*), que regula a expressão da fímbria polar longa (FOLKESSON et al., 1999) e o *agf* (*aggregative fimbriae*), que codifica a fímbria SEF17, a qual permite estabilidade à salmonela e auto-agregação bacteriana (GIBSON et al., 2007).

Outro fato importante na epidemiologia da *Salmonella* está associado ao aumento no uso indiscriminado de antimicrobianos, inseridos no processo de produção de alimentos de origem animal, que podem funcionar como pressão de seleção para alguns sorovares de *Salmonella* e para a resistência desses aos antimicrobianos (EFSA, 2008).

Vários países ou associações monitoram a resistência aos antimicrobianos de microrganismos transmitidos pelos alimentos. Estudo realizado na União Européia avaliou isolados, incluindo os sorovares Derby, Enteritidis, Infantis, Londres, Saintpaul, Senftenberg, Typhimurium e Virchow e outros não identificados, os quais demonstraram resistência à ampicilina variando de 21% a 35%, sulfonamidas (36% a 52%) e tetraciclina (38% a 59%).

A resistência à ciprofloxacina e à enrofloxacina foi observada na Dinamarca e Itália, respectivamente, em taxas de 1% e 0,6% (EFSA, 2006). Hopkins et al. (2010) relataram a prevalência de *S. enterica* sorovar 4,{5},12:i:-, com resistência a ampicilina, estreptomicina, sulfonamidas e tetraciclina em vários países europeus.

Com o intuito de contribuir para um melhor conhecimento dos fatores genéticos envolvidos com a patogenicidade dessa bactéria, objetivou-se pesquisar genes associados à virulência em isolados de *Salmonella* sp. de origem avícola, em sua fase de aderência e invasão celular, e avaliar o perfil de resistência desses isolados a antimicrobianos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada (LABIO), da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Foram analisadas 18 amostras de *Salmonella* spp. isoladas durante o ano de 2009 a partir de suabes de arrasto, provenientes de diferentes lotes de aviários de frango de corte do estado de São Paulo, terminados para o abate. Os isolados foram previamente sorotipados pelo Laboratório de Enterobactérias do Departamento de Bacteriologia da Fundação Instituto Oswaldo Cruz no Estado do Rio de Janeiro (IOC/FIOCRUZ,RJ,Brasil).

Todas as amostras foram testadas para os genes *invA*, *lpfA* e *agfA* e posteriormente avaliadas quanto ao perfil de resistência aos antimicrobianos. As Tabelas 1 e 2 descrevem detalhes sobre as amostras e os *primers* utilizados, respectivamente.

Para a reativação das amostras, os 18 isolados de *Salmonella* e as cepas utilizadas como controle positivo (*Salmonella* Enteritidis ATCC 13076) e negativo (*Escherichia coli* ATCC 25922), que estavam estocadas a -20°C em caldo BHI a 15% de glicerol (DIFCO®) foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 5mL de caldo BHI (DIFCO®) e incubadas a 37°C por 24hs. O processo de extração de DNA foi realizado por lise térmica de acordo com o descrito por Borsoi et al. (2009), adaptado de Guo et al. (2000).

Para garantir a repetibilidade dos dados, as reações de PCR foram realizadas em triplicata. Elas foram feitas a partir de um volume final de 25µL com 2µL de DNA da amostra; 12,5µL buffer mix 10x (200 mM Tris-HCl pH 8,4; 500 mM KCl); 2,0µL de dNTP mix (250µM); 3,0 mM de MgCl₂; 1,75U de Taq DNA polimerase (Invitrogen®) e 0,05 µL de cada primer (20 pmol) (Invitrogen®). As amostras foram submetidas a ciclos variados de temperatura conforme descrito por Borsoi et al. (2009), em termociclador (Eppendorf®).

Após a reação de PCR as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose 1,2% por 60 minutos, utilizando como padrão o peso molecular de 100 pb (Invitrogen®). Os fragmentos de DNA amplificados foram visualizados por meio de transluminador UV.

Os isolados de *Salmonella* spp. foram submetidos ao teste de antimicrobianos utilizando: Amoxicilina (10µg), Norfloxacina (10µg), Neomicina (30µg), Gentamicina (10µg), Trimetropim (5µg), Ceftazidima (30µg), Cloranfenicol (30µg), Imipenem (10µg),

Tetraciclina (30µg) e Sulfonamida (300µg), utilizando protocolo recomendado pelo Clinical and

Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006).

Tabela 1. Cepas de *Samonella* spp. utilizadas para pesquisa de genes de virulência e resistência aos antimicrobianos

Identificação das cepas	Sorovar	Sorogrupo	Data de produção/colheita
1	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 4,5:-1,7	B	28/05/2009
2	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 4,5:-1,7	B	11/05/2009
3	<i>Salmonella</i> Infantis	C1	24/06/2009
4	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 9,12	D1	09/07/2009
5	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> 3,10	E1	12/08/2009
6	<i>Salmonella</i> Agona	B	11/08/2009
7	<i>Salmonella</i> Infantis	C1	24/06/2009
8	<i>Salmonella</i> Typhimurium	B	13/05/2009
9	<i>Salmonella</i> Typhimurium	B	26/05/2009
10	<i>Salmonella</i> Infantis	C1	14/08/2009
11	<i>Salmonella</i> Infantis	C1	09/06/2009
12	<i>Salmonella</i> Infantis	C1	09/06/2009
13	<i>Salmonella</i> Infantis	C1	09/06/2009
14	<i>Salmonella</i> Mbandaka	C1	10/07/2009
15	<i>Salmonella</i> Enteritidis	D1	21/07/2009
16	<i>Salmonella</i> Agona	B	30/07/2009
17	<i>Salmonella</i> Infantis	C1	05/08/2009
18	<i>Salmonella</i> Infantis	C1	12/08/2009

Tabela 2. Sequência de *primers* utilizados para a reação de PCR e referência bibliográfica

Gene	Primer	Referência Bibliográfica
<i>invA</i>	F:5' gtgaaattatcgccacgttcgggcaa3' R:5' tcatcgaccgtcaaaggaacc3'	Oliveira et al. (2002)
<i>agfA</i>	F:5' tccacaatggggcggcgcg3' R:5' cctgacgcaccattacgctg3'	Collinson et al. (1992)
<i>lpfA</i>	F:5' ctttcgctgctgaatctggt3' R:5' cagtgttaacagaaaccagt3'	Bäumler e Heffron (1995)

F: forward; R: reverse

Os resultados obtidos foram submetidos à análise por meio da estatística descritiva, com cálculo das porcentagens de resistência antimicrobiana e de presença de genes de virulência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fragmentos específicos para os genes *invA* e *lpfA* foram amplificados para 17 amostras (94,4%) conforme demonstrado nas Figuras 1 e 2 respectivamente. Já o fragmento de amplificação para o gene *agfA* foi positivo para todas as amostras avaliadas (100%) (Figura 3).

Salehi et al. (2005), Okamoto et al. (2009), Borsoi et al. (2009) e Moussa et al. (2010), encontraram 100% de positividade para o gene *invA* nos isolados de *Salmonella* spp., *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Heidelberg, *Salmonella*

Typhimurium, *Salmonella* Agona e *Salmonella* Newport, respectivamente. De acordo com Whang et al. (2009), o gene *invA* parece ser conservado em todos os sorovares de *Salmonella* spp. e por isso é utilizado como gene alvo para a detecção da bactéria pela técnica da PCR.

Das 18 cepas avaliadas, somente a estirpe 4 de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 9,12 não apresentou o gene *lpfA* (Figura 2), e para o gene *agfA*, 100% das amostras foram positivas. Resultados semelhantes foram encontrados por Borsoi et al. (2009), com 100% de positividade para *lpfA* e 91,4 % para *agfA* em cepas de *Salmonella* Heidelberg (sorogrupo B), assim como Cesco (2010), que relatou 100% de positividade para o gene *agfA* em isolados de *Salmonella* Hadar (sorogrupo C2-C3).

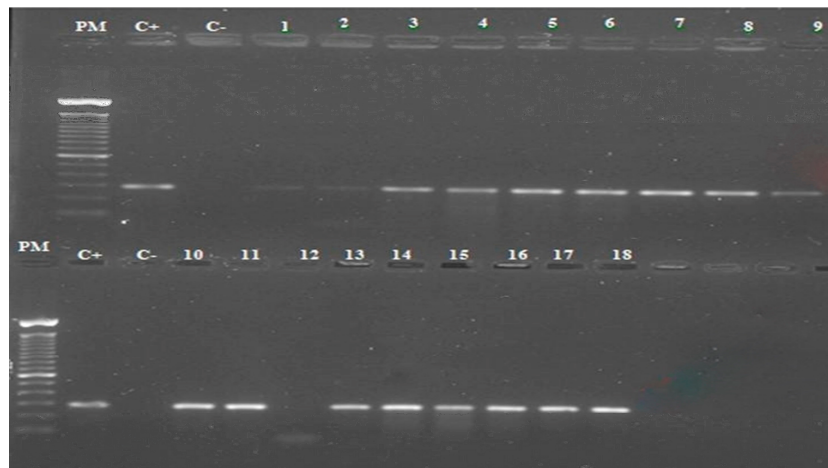


Figura 1. Imagem de gel de agarose a 1,2% com produtos de amplificação compatíveis com o fragmento do gene *invA* (284pb). PM=marcador de peso molecular (100pb). C+=controle positivo. C - =controle negativo. Canaletas de 1 a 18 - *Salmonella* spp. testadas.

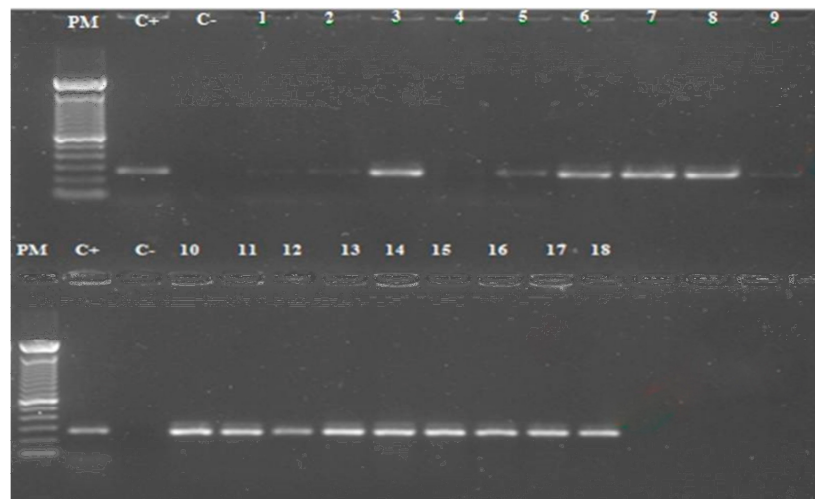


Figura 2. Imagem de gel de agarose a 1,2% com produtos de amplificação compatíveis com o fragmento do gene *lpfA* (250pb). PM=marcador de peso molecular (100pb). C+=controle positivo. C - =controle negativo. Canaletas de 1 a 18, amostras de *Salmonella* spp. testadas.

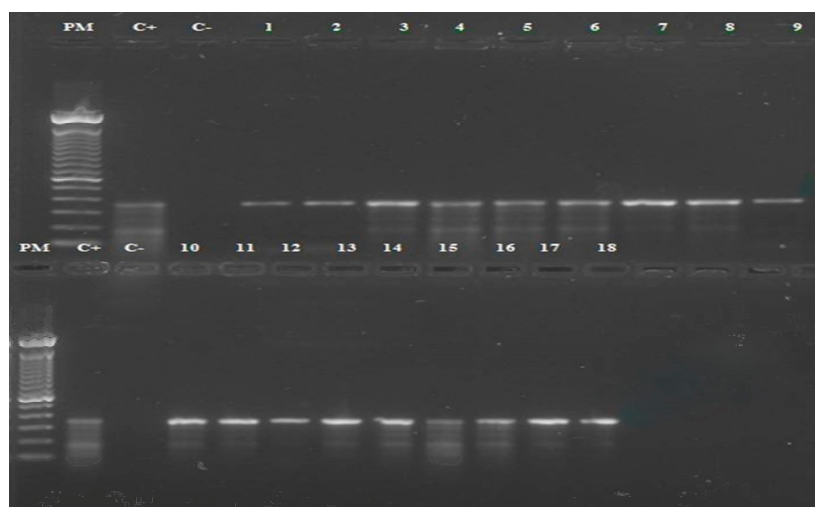


Figura 3. Imagem de gel de agarose a 1,2% com produtos de amplificação compatíveis com o fragmento do gene *agfA* (350pb). PM=marcador de peso molecular (100pb). C+ =controle positivo. C - =controle negativo. Canaletas de 1 a 18, amostras de *Salmonella* spp. testadas.

Neste trabalho verificou-se que dos isolados, 16 (88,9%) foram positivos para os três genes de virulência estudados, o que evidencia o potencial patogênico dessas estipes. Esses achados enfatizam os riscos relacionados ao poder invasivo dessas cepas além da capacidade de causar infecções sistêmicas por meio da proliferação dentro do organismo hospedeiro. O gene *invA* é essencial para permitir a passagem de *Salmonella* através das células epiteliais (HU et al., 2008), o gene *lpfA* codifica a maior subunidade da fímbria polar longa que atua na adesão nas células das placas de Peyer (DARWIN; MILLER, 1999) e o gene *agfA* é de suma importância na codificação da fímbria

agregativa que sintetiza a matriz extracelular envolvida na agregação multicelular, essencial na formação de biofilmes (GIBSON et al., 2007).

Conforme Groisman e Ochman (1996), as bactérias do gênero *Salmonella* são intracelulares facultativos, e os genes relacionados à sua adesão e invasão celular estão diretamente ligados a sua patogenicidade. Assim, a presença desses genes indica que a bactéria possui a capacidade de causar doenças tanto em aves como em seres humanos.

Os resultados de susceptibilidade aos 11 antimicrobianos analisados nos 18 isolados de *Salmonella* spp. estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Resultado de resistência e susceptibilidade das 18 amostras de *Salmonella* spp. avaliadas.

Antimicrobiano	Número de amostras	
	Resistente (%)	Sensível (%)
Norfloxacina	-	18 (100)
Neomicina	-	18 (100)
Cloranfenicol	-	18 (100)
Imipenem	-	18 (100)
Tetraciclina	-	18 (100)
Gentamicina	1 (5,55)	17 (94,5)
Ceftazidima	1 (5,55)	17 (94,5)
Trimetropim	2 (11,0)	16 (89,0)
Sulfonamida	2 (11,0)	16 (89,0)
Amoxicilina	5 (27,7)	13 (72,3)

Com relação aos resultados obtidos no teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, os dados possibilitam verificar 100% de sensibilidade dos isolados a norfloxacina, neomicina, cloranfenicol, imipenem e tetraciclina, seguido de 94,5% a gentamicina e ceftazidima e 89,0% a sulfonamida e ao trimetropim. Os resultados indicam que a maior resistência foi à amoxicilina com 27,7% dos isolados e para trimetropim e sulfonamida, onde houve resistência de 11,0%. Todas as amostras apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano testado.

As cepas 9 (*Salmonella* Typhimurium) e 18 (*Salmonella* Infantis) foram caracterizadas como multirresistentes, sendo a primeira resistente a amoxicilina, gentamicina, trimetropim e sulfonamida e a segunda, a amoxicilina e ceftazidima. Ambos os sorovares são os mais associados a casos de salmonelose em humanos no Brasil (LOUREIRO et al., 2010). *S. Typhimurium* é um dos principais sorovares isolados em casos esporádicos, surtos de gastroenterite e meningites, especialmente em crianças (DDTHA, 2005). *S. Infantis* é reconhecido por seu potencial patogênico, cujo quadro gastroentérico, pode evoluir para infecção septicêmica nos animais jovens e homem

(TESSMANN et al., 2008).

Os resultados obtidos estão de acordo com os relatados por Cardoso et al. (2006), Lima et al. (2009) e Begum et al. (2010), que não observaram resistência a norfloxacina e ao cloranfenicol. Lima et al. (2009), também obtiveram resultados semelhantes quanto à sensibilidade dos isolados ao trimetropim (88,6%). Para ampicilina, dados semelhantes aos obtidos no presente estudo foram relatados por Valdezate et al. (2000), que encontraram 36% de resistência em isolados na Espanha e por Begum et al. (2010), que relataram resistência da *Salmonella* spp. para esse antimicrobiano.

A alta sensibilidade dos isolados frente à maioria dos antimicrobianos testados indica que pode estar ocorrendo uma maior conscientização na produção avícola. Porém, a existência de amostras de *Salmonella* spp. resistentes indica que ainda há necessidade de um maior controle no uso de antimicrobianos, minimizando a introdução e a rápida disseminação desse microrganismo nas aves e conseqüentemente nos seres humanos. De acordo com Lima et al. (2009) a sensibilidade ao cloranfenicol se deve em parte ao fato deste antimicrobiano ter sido proibido na alimentação

animal desde 2003 no Brasil (BRASIL, 2003), reduzindo assim a exposição das bactérias a este princípio ativo.

CONCLUSÕES

A maioria das amostras apresentou alta positividade para os genes de virulência estudados, sendo que 88,9% delas apresentaram os três genes ao mesmo tempo e todas as amostras apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano testado.

Os sorovares de *S. Typhimurium* e *S. Infantis* que, além de possuírem todos os genes estudados, algumas estirpes apresentaram padrões de multirresistência. Esses dados demonstram o potencial patogênico desses sorovares, que consequentemente caracterizam desafios sanitários no controle do alimento produzido.

AGRADECIMENTOS

A toda equipe de pesquisadores do Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Universidade Federal de Uberlândia.

ABSTRACT: The ability of *Salmonella* to cause disease depends on several genetic determinant factors, including genes that encodes some virulence trait of these bacteria. The aim of this work was to research genes associated with virulence in *Salmonella* isolates of poultry products in its phase of adhesion and cell invasion, and to evaluate the resistance of these isolates to 11 antimicrobials. Were analyzed 18 samples of *Salmonella* spp. isolated during the 2009 year using drag swabs from poultry broiler in the state of São Paulo. All samples were tested using PCR technique for genes that were associated to virulence: *invA*, *lpfA* and *agfA*. Most samples had high positivity to virulence genes, and 88.9% of the samples had the three genes. It was verified that 17 samples (94.4%) had specific fragments to the *invA* and *lpfA* genes and the gene *agfA* was positive in all samples (100%). All samples were resistant to at least one antibiotic tested, the data indicated that the samples analyzed had greatest resistance to amoxicillin with 27.7%. The results demonstrate the pathogenicity of the *Salmonella* serovars which represent potential health challenges in poultry, the risk of the spread of multidrug resistant and virulent specimens among the animals and therefore can affect humans.

KEYWORDS: Adhesion. Antibioqram. Virulence genes. Invasion. *Salmonella* spp.

REFERÊNCIAS

- BÄUMLER, A. J.; HEFFRON, F. Identification and sequence analyses of *lpfABCDE*, a putative fimbrial operon of *Salmonella* Typhimurium. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 177, n. 8, p. 2087-2097. 1995.
- BEGUM, K.; REZA, T. A.; HAQUE, M.; HOSSAIN, A.; HASSAN, F. M. K.; HASAN, S. N.; AKHTER, N.; AHMED, A.; BARUA, U. Isolation, identification and antibiotic resistance pattern of *Salmonella* spp. from chicken eggs, intestines and environmental samples. **Bangladesh Pharmaceutical Journal**, Bangladesh, v. 13, n. 1, p. 23-27, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº09 de 27 de junho de 2003**. Brasília-DF. Diário Oficial da União, Seção 1, nº123. Publicada em 30 de junho de 2003, p. 4, 2003.
- BORSOI, A.; SANTIN, E.; SANTOS, L. R.; SALLE, C. T. P.; MORAES, H. L. S.; NASCIMENTO, V. P. Inoculation of newly hatched broiler chicks with two Brazilian isolates of *Salmonella* Heidelberg strains with different virulence gene profiles, antimicrobial resistance, and pulse field gel electrophoresis patterns to intestinal changes evaluation. **Poultry Science**, Savoy, v. 88, n. 4, p. 750-758, 2009.
- CARDOSO, M. O.; RIBEIRO, A. R.; SANTOS, L. R.; PILOTTO, F.; HAMILTON, L. S. M.; SALLE, T. P.; ROCHA, S. L. S.; NASCIMENTO, V. P. Antibiotic resistance in *Salmonella* Enteritidis isolated from broiler carcasses. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 368-371, 2006.
- CESCO, M. A. O. **Pesquisa de fatores associados à virulência de *Salmonella* Hadar através da reação em cadeia da polimerase (PCR)**. Dissertação de Mestrado – 84f. Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Veterinária, PPGCV, 2010.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (2006). **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: fifteenth information supplement M100-S16**. CLSI, Wayne, PA, USA.

COLLINSON, S. K.; EMODY, L.; TRUST, T. J.; KAY, W. W. Thin aggregative fimbriae from diarrheagenic *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 174, n. 13, p. 4490-4495, 1992.

DARWIN, K. H.; MILLER, V. L. Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 12, n. 3, p. 405-428, 1999.

DDTHA - Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Toxinfecção alimentar por *Salmonella* em um evento científico, São Paulo, 2004 CVE/CCD-SES. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 515-518, 2005.

EFSA - European Food Safety Authority. Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in laying hen flocks of *Gallus gallus*. **EFSA Journal**, Italy, v. 81, p. 1-71, 2006. Disponível em <<http://www.efsa.eu.in>>. Acesso em: 15 out. 2011.

EFSA - European Food Safety Authority. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Food Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. The **EFSA Journal**, Italy, v. 765, p. 1-87, 2008.

FIOCRUZ – Instituto Oswaldo Cruz. RODRIGUES, D. P.; THEOPHILO, G. N. D.; REIS, E. M. F.; LÁZARO, N. S. **Doenças de transmissão alimentar: aspectos clínicos, coleta e transporte de material**, 2008. Disponível em: <http://bvs.panalimentos.org/local/file/INCLUSIONES2008/2GSS_CURSO_CAPACITACAO_NIVEL3_BRASILIA2008_estanaBVS/GSS_2008_pdf/WHO-GSS-manual%20de%20Coleta%20-%202008.pdf>. Acesso em: 26 dez. 2012.

FOLKESSON, A.; ADVANI, A.; SUKUPOLVI, S. et al. Multiple insertions of fimbrial operons correlate with the evolution of *Salmonella* serovars responsible for human disease. **Molecular Microbiology**, Salem, v. 33, n. 3, p. 612-622, 1999.

GANTOIS, I.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F.; HAESEBROUK, F.; GAST, R.; HUMPHREY, T. J.; VAN IMMERSSEEL, F. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. **FEMS Microbiology Review**, Amsterdam, v. 33, n. 4, p. 718-738, 2009.

GIBSON, D. L.; WHITE, A. P.; RAJOTTE, C. M.; KAY, W. W. AgfC and AgfE facilitate extracellular thin aggregative fimbriae synthesis in *Salmonella* Enteritidis. **Microbiology**, New York, v. 153, n. 4, p. 1131-1140, 2007.

GROISMAN, E. A.; OCHMAN, H. Pathogenicity islands: bacterial evolution in quantum leaps. **Cell**, Cambridge, v. 87, n. 5, p. 791-794, 1996.

GUO, X.; CHEN, J.; BEUCHAT, L. R.; BRACKETT, R. E. PCR detection of *Salmonella enterica* serotype Montevideo in and on raw tomatoes using primers derived from *hilA*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 12, p. 5248–5252, 2000.

HOPKINS, K. L.; KIRCHNER, M.; GUERRA, B.; GRANIER, S. A.; LUCARELLI, C.; PORRERO, M. C.; JAKUBCZAK, A.; THRELFALL, E. J.; MEVIUS, D. J. Multiresistant *Salmonella enterica* serovar 4,[5],12:i:- in Europe: a new pandemic strain? **Eurosurveillance**, Stockholm, v. 15, n. 22, p. 1-9, 2010. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19580>>. Acesso em: 06 de junho de 2012.

- HU, O.; COBURN, B.; DENG, W.; LI, Y.; SHI, X.; LAN, Q.; WANG, B.; COOMBES, B. K.; FINLAY, B. B. *Salmonella enterica* serovar Senftenberg human clinical isolates lacking SPI-1. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 46, n. 4, p. 1330–1336, 2008.
- LIMA, E. T.; ANDREATTI FILHO, R. L.; PINTO, J. P. A. N. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de sorotipo de *Salmonella* isolados de produtos avícolas. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 394-400, 2009.
- LOUREIRO, E. C. B.; MARQUES, N. D. B.; RAMOS, F. L. P.; REIS, E. M. F.; RODRIGUES, D. P.; HOFER, E. *Salmonella* serovars of human origin identified in Pará State, Brazil from 1991 to 2008. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Manaus, v. 1, n. 1, p. 93-100, 2010.
- MOUSSA, I. M.; GASSEM, M. A.; AL-DOSS, A. A.; MAHMOUD, W. A.; MAWGOOD, A. L. A. Using molecular techniques for rapid detection of *Salmonella* serovars in frozen chicken products collected from Riyadh, Saudi Arabia. **African Journal of Biotechnology**, Grahamstown, v. 9, n. 5, p. 612-619, 2010.
- OKAMOTO, A. S.; ANDREATTI FILHO, R. L.; ROCHA, T. S.; MENCONI, A.; GONÇALVES, A. M. Relation between *SpvC* and *InvA* virulence genes and resistance of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolated from avian material. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 8, n. 6, p. 579-582, 2009.
- OMWANDHO, C. O. A.; KUBOTA, T. *Salmonella enterica* serovar Enteritidis: a Mini-review of contamination routes and limitations to effective control. **Japan agricultural research quarterly**, Tokyo, v. 44, n. 1, p. 7-16, 2010.
- OLIVEIRA, S.D., SANTOS, L.R., SCHUCH, D.M.T., SILVA, A.B., SALLE, C.T.P., CANAL, C.W. Detection and identification of *Salmonella* from poultry related samples by PCR. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 87, n. 1, p. 25-35, 2002.
- SALEHI, T. Z.; MAHZOUNIEH, M.; SAEEDZADEH, A. Detection of *InvA* Gene in isolated *Salmonella* from broilers by PCR method. **International Journal of Poultry Science**, Faisalabad, v. 4, n. 8, p. 557-559, 2005.
- TESSMANN, C.; ZOCHE, F.; LIMA, A. S.; BASSANI, M.; LOPES, G. V.; SILVA, W. P. Ocorrência e perfil de sensibilidade a antibióticos de *Salmonella* spp. isolada em cortes de carne suína comercializados em feiras livres de Pelotas (RS). **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 26, n. 2, p. 307-313, 2008.
- VALDEZATE, S.; ECHEITA, A.; DÍEZ, R.; USERA, M. A. Evaluation of phenotypic and genotypic markers for characterization of the emerging gastroenteritis pathogen *Salmonella* Hadar. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Wiesbaden, v. 19, n. 4, p. 275-281, 2000.
- VIEIRA, M. A. M. Ilhas de patogenicidade. **O mundo da saúde**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 406-414, 2009.
- WHANG, Y. P.; LIA, L.; SHENA, J. Z.; YANGB, F. J.; WU, Y. W. Quinolone-resistance in *Salmonella* is associated with decreased mRNA expression of virulence genes *invA* and *avrA*, growth and intracellular invasion and survival. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 133, n. 4, p. 328-334, 2009.