



Participação de passeriformes na contaminação da cama de aviários por *Salmonella Typhimurium*. Participation of passerines in the contamination of poultry litter by *Salmonella Typhimurium*.

[Raphael Lucio Andreatti Filho](#)^{1*}, Cláudio Henrique Gonçalves Barbosa², Gabriele Silva Dias³, [Gabriella Costa Ribeiro](#)⁴, Larissa Quinto Pereira⁵, [Adriano Sakai Okamoto](#)⁶

^{1*} Docente do Curso de Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista - UNESP, *Campus Botucatu* - SP. E-mail: raphael.andreatti@unesp.br. Autor para correspondência.

² Médico Veterinário - Doutorando - UNESP, *Campus Botucatu* - SP.

^{3,4} Médicas Veterinárias - Mestrandas - UNESP, *Campus Botucatu* - SP.

⁵ Médica Veterinária - Doutoranda - UNESP, *Campus Botucatu* - SP.

⁶ Docente do Curso de Medicina Veterinária - UNESP, *Campus Botucatu* - SP.

Resumo

Vários materiais podem ser utilizados como substrato para cama de aviários, apresentando diferentes probabilidades de contaminação por *Salmonella* spp. Considerando esta variação, avaliamos a viabilidade de transmissão de *Salmonella Typhimurium* por Passeriformes (Manons – *Lonchura striata domestica*), em maravalha de *Pinus* spp. e casca de arroz, analisando o tempo necessário para a contaminação de cada substrato de cama e da água de bebida, além da ocorrência da contaminação das aves. Foram conduzidos dois experimentos, sendo que em cada um houve um círculo preenchido com o substrato de cama inoculado (positivo) e outro aspergido com solução estéril (negativo). Após a contaminação foram soltos 49 manons em cada experimento. Foram analisadas amostras de cama, água de bebida e órgãos e superfície corporal (patas) das aves. Os diferentes substratos para cama de aviários avaliados permitiram a transmissão de *S. Typhimurium* para os manons, com a casca de arroz determinando contaminação do ambiente negativo de forma mais precoce e contínua. A contaminação das superfícies corporais (patas) contribuiu para que o sorovar de *Salmonella* fosse carregado nos dois tipos de substratos.

Palavras-chave: *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar *Typhimurium*. Transmissão. Cama de frango. Pássaros.

Abstract

Various materials can be used as substrate for poultry litter, presenting different probabilities of contamination by *Salmonella* spp. Considering this variation, we evaluated the viability of transmission of *Salmonella Typhimurium* by Passeriformes (Manons – *Lonchura striata domestica*), in *Pinus* spp. and rice husk, analyzing the time required for contamination of each litter substrate and drinking water, in addition to the occurrence of bird contamination. Two experiments were conducted, in each one there was a circle filled with the inoculated litter substrate (positive) and another sprinkled with sterile solution (negative). After contamination, 49 manons were released in each experiment. Samples of litter, drinking water and organs and body surface (feet) of the birds were analyzed. The different substrates for poultry litter evaluated allowed the transmission of *S. Typhimurium* to manons, with rice husk determining negative environmental contamination earlier and more continuously. Contamination of body surfaces (feet) contributed to the *Salmonella* serovar being spread on both types of substrates.

Keywords: *Salmonella enterica* subspecies *enterica* sorovar *Typhimurium*. Transmission. Broiler litter. Birds.



Introdução

As galinhas e os frangos de corte podem ser contaminados por diversos sorovares de *Salmonella*, sendo alguns considerados hospedeiro-específicos como *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, enquanto outros afetam além das aves (domésticas ou não), também répteis e mamíferos (incluindo os humanos), como *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *S. Heidelberg* (FREITAS NETO et al., 2020; GOPINATH et al., 2012). A infecção, quando em humanos, ocorre mais comumente por meio da ingestão de produtos contaminados de origem animal, incluindo-se os avícolas. A transmissão de microrganismos patogênicos (incluindo-se *Salmonella*) por aves silvestres, aparentemente favorece a contaminação das aves domésticas (SILVA et al., 2010).

A cama dos aviários comerciais está relacionada como potencial fonte de contaminação por *Salmonella* spp. no ambiente de criação das aves, assim como os comedouros, ração, caixas de transporte ou animais sinantrópicos, entre outros (MARIN et al., 2011). Os materiais utilizados como substrato das camas dos aviários devem possibilitar a reutilização das mesmas, bem como propiciar um ambiente desfavorável para a proliferação de potenciais patógenos.

Diversos materiais podem ser utilizados como substrato para cama dos aviários dependendo da região geográfica, disponibilidade e a finalidade do uso posterior ao período de criação das aves. Encontrada em todas as regiões, a maravalha é comumente utilizada no Brasil, enquanto nas regiões sul e sudeste, a casca de arroz também é frequentemente empregada como substrato para as camas dos aviários (ANDREATTI FILHO, 2007). Fatores como umidade, pH e a reutilização podem estar relacionados com a contaminação dos substratos para as camas, além das aves silvestres que conseguem acessar e frequentar os aviários, podendo assim também contribuir para a disseminação de *Salmonella* spp. Devido a preferência das aves silvestres adentrarem aos aviários, especialmente nos períodos de retirada dos frangos para o abate ou quando são alojados os pintos com um dia de idade (SCHERER et al., 2011), estas aves representam fator de grande risco, pois podem carrear *Salmonella* spp. no período em que as aves domésticas de produção são mais suscetíveis às infecções. A maioria das aves silvestres que adentram aos aviários são principalmente granívoras (PRINS, GORDON, 2014).

Portanto, considerando a variação entre os tipos de substrato para cama de aviários quanto a contaminação por *Salmonella* spp., foram realizados dois experimentos com o objetivo de avaliar a viabilidade de transmissão de *S. Typhimurium* por meio de Passeriformes (Manons – *Lonchura striata domestica*) em maravalha de *Pinus* sp. e casca de arroz, analisando-se o tempo necessário para a contaminação de cada substrato das camas de aviários e da água de bebida, bem como a ocorrência da contaminação das próprias aves.

Material e métodos

Foram escolhidos dois materiais costumeiramente utilizados em camas de aviário, maravalha de *Pinus* sp. e casca de arroz. Todo material das camas foi previamente esterilizado em autoclave e avaliado por meio de isolamento microbiológico quanto a presença de *Salmonella* spp. (MALLINSON, SNOEYENBOS, 1989), imediatamente antes do início dos experimentos. Para cada material foram construídos dois ambientes (positivo e negativo) com chapas de madeira desinfetadas em formato circular e diâmetro de 1,7 metros. Cada círculo foi preenchido com maravalha de *Pinus* sp. ou casca de arroz, contendo 0,07 metros cúbicos do substrato em cada. Foram instalados, após desinfecção, poleiros na borda de cada círculo para que as aves pudessem descansar. Todos os fômites

e materiais envolvidos nos experimentos, como chapas de madeira dos círculos, poleiros, bebedouros e comedouros após desinfecção e imediatamente antes do início dos experimentos, foram submetidos a ação de suabes visando detectar a presença de *Salmonella* spp. (MALLINSON, SNOEYENBOS, 1989).

Para cada um dos experimentos foram utilizados 49 manons (*Lonchura striata domestica*) criados em cativeiro com até seis meses de idade e previamente avaliados para a presença de *Salmonella* spp., por isolamento microbiológico, conforme Mallinson e Snoeyenbos (1989) e reação em cadeia da polimerase (PCR) descrita nesta seção. Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da FMVZ/UNESP/Botucatu sob nº 239/2012. Todos os procedimentos para alojamento, manejo e colheita das amostras nas aves, preconizaram o mínimo de manipulação e estresse de acordo com os preceitos recomendados pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2012) e pelos comitês internacionais de bem-estar animal (AVMA, 2007; HAWKINS et al., 2001).

Foi utilizada cepa de *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Typhimurium (ST), resistente ao ácido nalidíxico (Nal) e a rifampicina (Rif) por meio de cultivo sucessivo em ágar verde brilhante (AVB) contendo 100µg/mL de Nal/Rif. A cultura para o inóculo foi obtida do cultivo em caldo infusão de cérebro coração (BHI), incubada a 37°C durante 24 horas. O inóculo foi preparado em solução phosphate-buffered saline (PBS) na concentração de 10⁶ UFC/mL de *S. Typhimurium* Nal/Rif (ANDREATTI FILHO et al., 2019), e aspergido 1 litro em cada ambiente positivo. O mesmo volume de solução PBS estéril foi aspergido nos ambientes negativos.

Cada um dos experimentos foi conduzido em sala com 59 metros cúbicos de área total. Após a inoculação foram dispostos dentro de cada ambiente (círculos), recipientes estéreis para água e alimento. Diariamente após as colheitas, os recipientes eram higienizados e fornecida mistura de sementes de painço (*Panicum miliaceum*) e água *ad libitum* aos manons.

Para avaliar a capacidade dos manons carrear a bactéria entre os ambientes (círculos), foram realizadas sete coletas, sendo a primeira, seis horas após a aspersão do inóculo contendo ST no círculo positivo e soltura das aves, enquanto as demais coletas ocorreram nos períodos de 24, 48, 72, 96, 120 e 168 horas após o desafio bacteriano. Em cada um dos períodos, sete aves foram eutanasiadas conforme recomendação do CFMV (2012). Após a eutanásia, cada manon foi acondicionado individualmente em embalagem plástica estéril, identificado e armazenado a 4°C até o processamento.

Foram colhidos separadamente baço, fígado, cecos e lavado de patas de cada ave e *pool* de cada substrato de cama (500g) de cada um dos ambientes (positivo e negativo), em cinco pontos diferentes dos círculos, bem como da água de bebida (500mL).

A recuperação do isolado de cama, lavados de patas e água de bebida foram submetidas a um pré-enriquecimento em água peptonada tamponada incubada a 37°C por 20 horas (MAPA, 2003). Para obter o lavado de patas foram submersas ambas as patas dos manons durante cinco segundos em um tubo contendo 5mL de água peptonada tamponada. Após o pré-enriquecimento foi realizado o enriquecimento seletivo nos caldos Tetrationato (TT) e Rappaport Vassiliadis (RAP) na diluição 1:10 e 1:100, respectivamente, e incubados a 40°C por 24 horas. Sendo então posteriormente semeados por esgotamento em ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD) e ágar Verde Brilhante (AVB) contendo ambos 100µg/mL de Rif/Nal. As amostras provenientes de órgãos foram maceradas e depositadas diretamente nos caldos de enriquecimento seletivo TT e RAP seguindo a mesma proporção e sequência descrita anteriormente. Foram consideradas positivas as placas que apresentaram crescimento bacteriano com colônias compatíveis com *Salmonella* spp. (MALLINSON,

SNOEYENBOS, 1989). Para confirmação final, todas as colônias consideradas positivas nas placas foram submetidas ao exame de PCR. Para isto, dos caldos TT que originaram o material positivo foi coletado 1mL, imediatamente conservado a -20°C até o processamento. A extração do DNA foi realizada por tratamento térmico. O protocolo consistiu em três lavagens com 1mL de PBS, seguidas por centrifugação a 8000g durante cinco minutos a 10°C e após a última lavagem o pellet foi ressuspenso em 600µL de TE (10mM Tris-HCl e 1mM EDTA, pH 8,0) e aquecido em banho-maria a 95°C durante 10 minutos. Na etapa final realizou-se a centrifugação a 8000rpm durante cinco minutos a 10°C, sendo coletado 200µL do sobrenadante e armazenado a -20°C (ANDREATTI FILHO et al., 2011; FADL et al., 1995).

Para a reação foi utilizado o primer para o gene *invA* (Fw: 5'-TTGTTACGGCTATTTTGACCA-3'; Rv: 5'-CTGACTGCTACCTTGCTGATG-3') (SWAMY et al., 1996) na concentração de 20picomol/µL. Para amplificação foi utilizado o volume final de 25µL, contendo 5µL de cada amostra, 1µL de cada primer, 12,5µL do mix de amplificação Go Taq Green Master Mix (Promega, Madison, USA), e 5,5µL água ultrapura. A mistura foi processada no termociclador (Eppendorf AG Mastercycler Gradient) sendo: cinco minutos a 94°C, 35 ciclos de amplificação (30 segundos a 94°C, 30 segundos a 60°C e 30 segundos a 72°C), seguida de extensão final por quatro minutos a 72°C (GONÇALVES et al., 2011).

Os produtos da PCR foram analisados em gel de agarose 1,5% corado com GelRed (BIOTIUM) e a visualização realizada com auxílio de transiluminador. Foram considerados positivos os produtos resultantes com tamanho esperado de 521pb.

Para a análise estatística, foi fixado em 5,0% o nível de rejeição da hipótese de nulidade (α). A comparação das quantidades foi conduzida pelo teste “t” de Student (VIEIRA, 2011).

Resultados e discussão

No experimento utilizando-se a casca de arroz como substrato de cama (Tabela 1), observou-se que em todos os períodos de análise houve amostras de manons positivas. A menor quantidade de aves positivas ocorreu no período de 24 horas após a contaminação da cama com *Salmonella Typhimurium* (ST), enquanto nos períodos de 96, 120 e 168 horas após a contaminação, todas as aves (100%) analisadas apresentaram-se positivas. Portanto, a quantidade de aves contaminadas com ST foi significativamente menor ($\alpha=0,05$) nos períodos de 24 e 48 horas após a contaminação da cama composta por casca de arroz, quando comparada com os períodos de seis, 96, 120 e 168 horas após a contaminação. Na análise da contaminação das vísceras, foi possível observar a presença de ST nos cecos de 25 aves e no fígado de cinco aves, distribuída entre os sete períodos de análise, ou seja, de seis a 168 horas após a contaminação da cama com a bactéria. Não houve isolamento de ST no baço de nenhuma ave durante todo o período experimental, quando o substrato da cama foi a casca de arroz. Já em relação a presença de ST na superfície corporal (patas), 37 aves apresentaram-se positivas, durante todo o período experimental. Considerando-se todo o material positivo (órgãos e superfície corporal) nos ambientes contendo a casca de arroz como substrato de cama e durante todo o período experimental (seis a 168 horas após contaminação da cama), 39 manons (79,6%) apresentaram-se positivos para ST.

No experimento utilizando-se a casca de arroz como substrato de cama (Tabela 2), observou-se que todas as amostras de cama e água de bebida, incluindo-se também as amostras provenientes da cama inicialmente negativa, restaram positivas para ST a partir do período de seis horas após a

contaminação bacteriana, persistindo até o último período de análise (168 horas após a contaminação).

No experimento utilizando-se a maravalha de *Pinus* sp. como substrato de cama (Tabela 1), observou-se que em todos os períodos de análise houve amostras de manons positivas. As menores quantidades de aves positivas ocorreram nos períodos de 48, 72 e 168 horas após a contaminação da cama com ST, enquanto somente no período de seis horas após a contaminação, todas as aves (100%) analisadas apresentaram-se positivas. Portanto, a quantidade de aves contaminadas com ST foi significativamente menor ($\alpha=0,05$) nos períodos de 48, 72 e 168 horas após a contaminação da cama composta por maravalha, quando comparada com os períodos de seis e 24 horas após a contaminação. Na análise da contaminação das vísceras, foi possível observar a presença de ST nos cecos de 14 aves, distribuída entre os seis primeiros períodos de análise, ou seja, de seis a 120 horas após a contaminação da cama, enquanto no baço houve apenas uma única ave positiva no período de 120 horas após a contaminação da cama com a bactéria. Não houve isolamento de ST no fígado de nenhuma ave durante todo o período experimental, quando o substrato da cama foi a maravalha. Já em relação a presença de ST na superfície corporal (patas), 12 aves apresentaram-se positivas, durante todo o período experimental. Considerando-se todo o material positivo (órgãos e superfície corporal) nos ambientes contendo a maravalha como substrato de cama e durante todo o período experimental (seis a 168 horas após contaminação da cama), 21 manons (42,8%) apresentaram-se positivos para ST.

No experimento utilizando-se a maravalha de *Pinus* sp. como substrato de cama (Tabela 2), observou-se que todas as amostras de cama positiva (previamente contaminada por ST) restaram positivas em todos os períodos analisados, ou seja, de seis a 168 horas após a contaminação bacteriana. Já a cama inicialmente negativa, assim permaneceu durante os três primeiros períodos analisados (seis, 24 e 48 horas após a contaminação inicial). Entretanto, a cama inicialmente negativa apresentou-se positiva a partir de 72 horas após contaminação, mantendo a sua positividade até o período de 168 horas após contaminação com ST. A análise da contaminação da água de bebida revelou a mesma positiva para ST nos períodos de seis, 48 e 72 horas após a contaminação inicial, enquanto nos períodos de 24, 96, 120 e 168 não houve detecção da bactéria.

Comparando-se a contaminação por ST nos manons criados tanto na casca de arroz quanto na maravalha de *Pinus* sp. (Tabela 1), observou-se que a partir do período de 48 horas e persistindo até o período final de análise (168 horas) após a contaminação por ST, as aves criadas na cama de maravalha apresentaram significativamente menor contaminação (quantidade de aves positivas) por ST ($\alpha=0,05$). Além da menor quantidade de aves positivas para ST quando criadas na maravalha, o mesmo se observou em relação a contaminação de patas dos manons, com as aves criadas na maravalha apresentando menor contaminação no período de 48 a 168 horas após a contaminação inicial por ST.

Em relação às amostras de cama e água de bebida, observamos que nos períodos de 24, 96, 120 e 168 horas de análise após a contaminação inicial com ST, as amostras de maravalha apresentaram-se negativas para a bactéria, diferentemente das amostras de casca de arroz que se apresentaram positivas. Fato semelhante ocorreu em relação as camas inicialmente negativas, ou seja, nos períodos de seis, 24 e 48 horas as amostras de maravalha apresentaram-se negativas, diferentemente das amostras de casca de arroz, que já se apresentaram positivas a partir do período de seis horas.

Conjecturamos que pode estar relacionada a menor quantidade de contaminação por ST quando utilizada a maravalha, nos materiais relacionados à criação, como a água de bebida e cama

inicialmente negativa, com a menor contaminação de patas e consequentemente menor número total de aves positivas ($\alpha=0,05$), quando da utilização de maravalha em comparação com a casca de arroz como substrato de cama.

Tabela 1 - Isolamento de *Salmonella* Typhimurium (ST) em Passeriformes (Manon – *Lonchura striata domestica*), criados em ambiente contendo diferentes substratos (casca de arroz e maravalha) para cama de aviários, contaminados previamente* ou não com ST.

Amostras	Período de coleta (horas após contaminação da cama com ST e soltura dos manons)													
	06		24		48		72		96		120		168	
	CA**	M	CA	M	CA	M	CA	M	CA	M	CA	M	CA	M
Cecos	4***	3	1	4	1	2	3	1	7	2	2	2	7	-
Baço	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Fígado	1	-	-	-	-	-	1	-	3	-	-	-	-	-
Patas	6	6	2	3	3	-	5	-	7	1	7	1	7	1
Total de aves positivas****	6/7a	7/7a	3/7bc	4/7b	4/7b	2/7c	5/7ab	1/7c	7/7a	3/7bc	7/7a	3/7bc	7/7a	1/7c

*Um círculo contendo cama previamente contaminada por ST e outro negativo.

**CA = Casca de arroz; M = Maravalha de *Pinus* sp.

***Quantidade de aves positivas para ST. (-) resultado igual a negativo para ST.

****Quantidade de aves positivas para ST / quantidade total de aves analisadas por coleta.

Para estatística em linha tem-se que $a>b>c$, para $\alpha=0,05$.

Tabela 2 - Isolamento de *Salmonella* Typhimurium (ST) no ambiente criatório contendo diferentes substratos (casca de arroz e maravalha) para cama de aviários, contaminados previamente* ou não com ST, utilizando-se Passeriformes (Manon – *Lonchura striata domestica*) como veiculadores da bactéria.

Amostras	Período de coleta (horas após contaminação da cama com ST e soltura dos manons)													
	06		24		48		72		96		120		168	
	CA**	M	CA	M	CA	M	CA	M	CA	M	CA	M	CA	M
Água de bebida	+***	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-
Cama positiva*	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cama negativa*	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

*Um círculo contendo cama previamente contaminada por ST e outro negativo.

**CA = Casca de arroz; M = Maravalha de *Pinus* sp.

***(+) resultado igual a positivo para ST; (-) resultado igual a negativo para ST. *Pool* de cada substrato, colhidos em cinco pontos diferentes dos círculos (cama) e diretamente no bebedouro (água de bebida).

O tipo de substrato de cama parece interferir no isolamento de *Salmonella* spp., porém o tipo de material não afeta significativamente o desenvolvimento dos frangos (GARCIA et al., 2010). Diversos materiais podem ser utilizados como substrato para cama de aviário e, quando comparada com casca de café, a maravalha de *Pinus* sp. apresenta probabilidade na ocorrência de *Salmonella* spp. 28% maior (VIEIRA, 2011). Entretanto, em nossos experimentos, quando comparamos a maravalha de *Pinus* sp. com a casca de arroz, a maravalha determinou menor contaminação das aves por ST e consequentemente menor disseminação da bactéria pelo ambiente. A cama de casca de arroz

também pode estar relacionada com contaminação por *Escherichia coli* (GARCIA et al., 2010). Nossos resultados demonstram que quando o substrato utilizado foi a casca de arroz, a conversão da cama inicialmente negativa em positiva, já ocorreu nas primeiras seis horas após a soltura dos manons, enquanto na maravalha a conversão da cama negativa para positiva por ST ocorreu somente após 72 horas da soltura das aves. Em galinhas infectadas por contato com carreadoras inoculadas com ST, somente foram encontradas amostras positivas da cama de maravalha de *Pinus* sp., 72 horas após o primeiro contato com os carreadores, exatamente o mesmo período observado nos nossos experimentos (RIGBY, PETTIT, 1979).

Além da colonização intestinal, o contato das aves com materiais contaminados pode contribuir para a adesão de bactérias patogênicas nas superfícies corporais (BENSKIN et al., 2009). Nos nossos dois experimentos, a contaminação isolada das superfícies corporais (patas) apresentou índices significativos, sendo 75,5% e 24,5% das aves positivas, criadas respectivamente nas camas de casca de arroz e maravalha. O fato de que os Passeriformes, em sua maioria, apresentam predileção alimentar por sementes pode ter contribuído para uma interação maior com a cama composta por casca de arroz (VERHOEF-VERHALLEN, 2004), determinando a quantidade maior de aves contaminadas, facilitando assim a disseminação e o estabelecimento no círculo negativo. Outros fatores também devem ser considerados quanto a ocorrência de *Salmonella* na cama, como a umidade, o pH e o procedimento de reutilização das camas, pois afetam consideravelmente a probabilidade de manutenção da bactéria no ambiente (VIEIRA, 2011).

Deve ser considerada nos programas de prevenção e controle de patógenos, como *Salmonella* spp., a possibilidade de contaminação da cama antes mesmo do alojamento dos pintinhos, tanto pela capacidade dos Passeriformes em carrear a bactéria utilizada como modelo neste estudo, quanto pela preferência da maioria das aves silvestres em acessar o chão dos aviários nos períodos de manutenção e preparação da cama (SCHERER et al., 2011). O acesso de aves silvestres aos aviários, especialmente nesses períodos, deve ser minimizado e quando possível evitado.

Conclusões

Os diferentes substratos para cama de aviários avaliados permitiram a transmissão de *S. Typhimurium* para os manons, com a casca de arroz determinando contaminação do ambiente negativo de forma mais precoce e contínua. A contaminação das superfícies corporais (patas) contribuiu para que o sorovar de *Salmonella* fosse carreado nos dois tipos de substratos.

Conflitos de interesse

Não houve conflito de interesses dos autores.

Contribuição dos autores

Raphael Lucio Andreatti Filho - correções, escrita, execução e revisão do texto; Cláudio Henrique Gonçalves Barbosa, Gabriele Silva Dias e Gabriella Costa Ribeiro - análise de dados, leitura, correções, interpretação das obras e revisão do texto; Larissa Quinto Pereira - execução e escrita; Adriano Sakai Okamoto - execução, análise de dados e leitura.

Referências bibliográficas

- ANDREATTI FILHO, R. L. Prevenção de Doenças: Biosseguridade em Avicultura. In: ANDREATTI FILHO, R. L. **Saúde Aviária e Doenças**. 1ª ed. São Paulo: Roca, p. 2-8, 2007.
- ANDREATTI FILHO, R. L.; GONÇALVES, G. A. M.; OKAMOTO, A. S.; LIMA, E. T. Comparação de métodos para extração de DNA na reação em cadeia da polimerase para detecção de *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis em produtos avícolas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 115-119, 2011. <https://doi.org/10.5216/cab.v12i1.3774>
- ANDREATTI FILHO, R. L.; MILBRADT, E. L.; OKAMOTO, A. S.; SILVA, T. M.; VELLANO, I. H. B.; GROSS, L. S.; ORO, C. S.; HATAKA, A. *Salmonella* Enteritidis infection, corticosterone levels, performance and egg quality in laying hens submitted to different methods of molting. **Poultry Science**, v. 98, p. 4416-4425, 2019. <https://doi.org/10.3382/ps/pez248>
- AVMA. American Veterinary Medical Association. **Guidelines on Euthanasia**. Schaumburg, IL, 2007, 36p. www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf
- BENSKIN, C.; McW, H.; WILSON, K.; JONES, K.; HARTLEY, I. R. Bacterial pathogens in wild birds: a review of the frequency and effects of infection. **Biological Reviews**, v. 84, p. 349-373, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00076.x>
- CFMV. Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012. Procedimentos e métodos de eutanásia em animais. **Diário Oficial da União**, n. 95, seção 1, p. 124-125, 2012.
- FADL, A. A.; NGUYEN, A. V.; KHAN, M. I. Analysis of *Salmonella* Enteritidis isolates by arbitrarily primed PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 4, p. 987-989, 1995. <https://doi.org/10.1128/jcm.33.4.987-989.1995>
- FREITAS NETO, O. C.; PENHA FILHO, R. A. C.; BERCHIERI JÚNIOR, A. Salmoneloses aviárias. In: ANDREATTI FILHO, R. L.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; SILVA, E. N.; BACK, A.; DI FÁBIO, J.; ZUANAZE, M. A. F. **Doenças das Aves**. 3ª ed. Campinas: Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, p. 493-518, 2020.
- GARCIA, R. G.; PAZ, I. C. L. A.; CALDARA, F. R.; NAAS, I. A.; PEREIRA, D. F.; FREITAS, L. W.; SCHWINGEL, A. W.; LIMA, N. D. S.; GRACIANO, J. D. Effect of the litter material on drinking water quality in broiler production. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 12, n. 13, p. 165-169, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2010000300005>
- GONÇALVES, G. A. M.; LIMA, E. T.; DONATO, T. C.; ROCHA, T. S.; ÁLVAREZ, L. E. C.; SEQUEIRA, J. L.; ANDREATTI FILHO, R. L. Eradication of *Salmonella* Typhimurium in broiler chicks by combined use of P22 bacteriophage and probiotic. **International Journal of Microbiology Research**, v. 3, n. 2, p. 4-9, 2011. <https://repositorio.unesp.br/items/45050184-cb87-4589-b63f-30d9322981fb>
- GOPINATH, S.; CARDEN, S.; MONACK, D. Shedding light on *Salmonella* carriers. **Trends in Microbiology**, v. 20, p. 320-327, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.04.004>
- HAWKINS, P.; MORTON, D.; CAMERON, D.; CUTHILL, I.; FRANCIS, R. I.; FREIRE, R.; GOSLER, A.; HEALY, S.; HUDSON, A.; INGLIS, I.; KIRKWOOD, J.; LAWTON, M.; MONAGHAN, P.; SHERWIN, C.; TOWNSEND, P. Laboratory birds: refinements in husbandry and procedures. **Laboratory Animals**, v. 35, Suppl. 1, 2001, 163p.
- MALLINSON, E. T.; SNOEYENBOS, G. H. Salmonellosis. In: PURCHASE, H. G.; ARP, L. H.; DOMERMUTH, C. H.; PEARSON, J. E. **A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens**. 3rd ed. Pennsylvania: American Association of Avian Pathologists, p. 3-11, 1989.

- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, n. 181, seção 1, p. 14-51, 2003.
- MARIN, C.; BALASCH, S.; VEGA, S.; LAINEZ, M. Sources of *Salmonella* contamination during broiler production in Eastern Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 98, p. 39-45, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.09.006>
- PRINS, H. H. T.; GORDON, I. J. **Invasion biology and ecological theory**. New York: Cambridge University Press, 2014, 528p. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139565424>
- RIGBY, C. E.; PETTIT, J. R. Some factors affecting *Salmonella* Typhimurium infection and shedding in chickens raised on litter. **Avian Diseases**, v. 23, n. 2, p. 442-455, 1979. <https://doi.org/10.2307/1589575>
- SCHERER, A. L.; SCHERER, J. F. M.; PETRY, M. V.; SANDER, M. Occurrence and interaction of wild birds at poultry houses in southern Brazil. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 19, n. 1, p. 74-79, 2011. <https://www.researchgate.net/publication/230710404>
- SILVA, M. A.; MARVULO, M. F. V.; MOTA, R. A.; SILVA, J. C. R. A importância da ordem Ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella* spp. para a saúde pública e a conservação da diversidade biológica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 573-580, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000700011>
- SWAMY, S. C.; BARNHART, H. M.; LEE, M. D.; DREESEN, D. W. Virulence determinants invA and spvC in *Salmonellae* isolated from poultry products, wastewater, and human sources. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 10, p. 3768-3771, 1996. <https://doi.org/10.1128/aem.62.10.3768-3771.1996>
- VERHOEF-VERHALLEN, E. J. J. **The complete encyclopedia of cage and aviary birds**. 2nd ed., Lisse: Rebo, 2004, 312p.
- VIEIRA, M. F. A. **Caracterização e análise da qualidade sanitária de camas de frango de diferentes materiais reutilizados sequencialmente**. 81p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011. <http://locus.ufv.br/handle/123456789/3600>

Recebido em 31 de janeiro de 2024

Retornado para ajustes em 16 de abril de 2024

Recebido com ajustes em 17 de abril de 2024

Aceito em 22 de abril de 2024