



INOCULAÇÃO EXPERIMENTAL DE *SALMONELLA* ENTERITIDIS FAGOTIPO 4, VIA Oral EM PINTOS DE CORTE DE UM DIA DA LINHAGEM GRIS BARRE COU PLUMÉ

Tatiane Martins Rocha¹, Eliete Souza Santana², Leandro da Silva Chaves³,
Fernanda Rodrigues Mendes¹, Maria Auxiliadora Andrade⁴

¹Doutoranda em Ciência Animal da Universidade Federal de Goiás;

²Docente da Universidade Estadual de Goiás (UnU Palmeiras de Goiás),
elietessouza@yahoo.com.br

³Médico Veterinário, empresa privada, Goiânia, Goiás, Brasil,

⁴Docente e orientadora da Universidade Federal de Goiás. Brasil.

Recebido em: 06/05/2013 – Aprovado em: 17/06/2013 – Publicado em: 01/07/2013

RESUMO

O presente trabalho avaliou os efeitos da *Salmonella* Enteritidis PT4 inoculada experimentalmente, em pintos de um dia de idade da linhagem Gris Barre Cou Plumé. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, onde se utilizaram 120 pintos, os quais foram distribuídos em dois tratamentos, grupos controle e inoculado. Os pintos foram inoculados diretamente no ingluvío, com 0,5 mL de solução salina esterilizada a 0,85%, contendo $5,0 \times 10^2$ UFC/ mL de *Salmonella* Enteritidis PT4. Nos dias sete, 14 e 21, foram realizadas análises de desempenho e uma ave por parcela foi necropsiada, sendo coletados intestinos, fígado, saco vitelínico e coração para análises biométricas e conteúdos de cecos, suabes de ingluvíos e saco vitelínico para pesquisa de *Salmonella*. Das aves que morreram foram coletados corações, fígados, sacos da gema e conteúdo cecal para pesquisa da *Salmonella*, a qual foi recuperada em 90% dos corações e fígados. Constatou-se que o grupo inoculado com *Salmonella* Enteritidis apresentou maior mortalidade e que, todas as aves apresentaram positividade para pelo menos um, dos três órgãos submetidos à análise microbiológica. Constatou-se ainda, um aumento do peso relativo do fígado aos sete dias e que o ganho de peso e a conversão alimentar, foi pior para o grupo inoculado. Conclui-se que *Salmonella* foi hábil em invadir os órgãos das aves, determinar mortalidade, promover alterações negativas nos parâmetros de desempenho e estabelecer o estado de portador.

PALAVRAS-CHAVE: aves, colonização, criação alternativa, salmonelose

ORAL INOCULATION *SALMONELLA* ENTERITIDIS PHAGE TYPE 4 CHICKS IN CUTTING OF A DAY OF LINEAGE BARRE COU PLUMÉ

ABSTRACT

This study evaluated the effects of *Salmonella* Enteritidis PT4 (SE PT4) strain in chicks Gris Barre Cou Plum, a day old. The design was randomized, which used 120 chicks, which were allotted to two treatments, control groups and inoculated. The

chicks were inoculated directly into ingluvial with 0.5 mL of sterile saline 0.85% containing 5.0×10^2 CFU / mL of *Salmonella* Enteritidis PT4. On day seven, 14 and 21 were analyzed in terms of performance and one bird per treatment was necropsied and collected esophagus and crop, intestines, pancreas, liver, yolk sac, heart and spleen and cecum biometric analysis, swabs from crop and yolk sac for microbiology. It was found that the group challenged with *Salmonella* Enteritidis demonstrated higher mortality and that all birds necropsied were positive for at least one of the three organs were submitted to microbiological analysis. It was also an increase in relative liver weight at seven days and the weight gain and feed conversion was worse for the group inoculated. Can infer that the bacterium was able to invade the bodies of birds, to determine mortality and promote negative changes in performance parameters.

KEYWORDS: birds, colonization, creation alternatively, salmonellosis

INTRODUÇÃO

As infecções paratíficas têm sido priorizadas como de alto risco para a produção avícola e para saúde do homem. Nos Estados Unidos, 1996 a 2010, toxinfecções por *Salmonella* tem se registrado e a maior incidência tem sido por *Salmonella* enterica, subespécie *enterica* sorotipo Enteritidis CDC (2011).

Nos últimos anos, têm sido recorrentes os surtos causados por *Salmonella* Enteritidis em todo o mundo, e isso tem sido associado ao consumo de alimentos contaminados, principalmente ovos (GREIG & RAVEL, 2009). Animais e seus produtos, particularmente carne de frangos e ovos, são considerados os principais veiculadores da bactéria ao homem, tanto em casos esporádicos da doença, quanto em surtos (SONG & SUH, 2006).

O mercado consumidor tem exigido alimentos diferenciados, sem resíduos químicos, com segurança sanitária, menos industrializados, produzidos de forma mais natural, preocupando-se com o bem estar do animal, a preservação da saúde ambiental e do homem. Esta nova postura tem dado impulso à criação denominada “alternativa” de aves que apresentam um valor comercial diferenciado.

A adoção de procedimentos e medidas de controle em toda cadeia de produção de alimentos para se obter alimento seguro tem sido considerado difícil pelas próprias características epidemiológicas do gênero *Salmonella* que pode provocar alta a discreta mortalidade nos primeiros dias de vida, e após este período, as aves que sobrevivem podem se tornar portadoras inaparentes e disseminadoras do agente via excretas. *Salmonella* Enteritidis pode colonizar o trato intestinal das aves e órgãos internos, tais como o fígado e baço, (HE et al., 2010) e ser veiculada por produtos avícolas.

ANDRADE et al., (2009) mostraram que as alterações dos parâmetros histomorfométricos do intestino frente à inoculação de *Salmonella* Enteritidis fagotipo 4 (PT4) foram maiores nas linhagens de crescimento rápido, enquanto que a linhagem de crescimento lento, ISA Label, apresentou maior rapidez na recuperação. Esses aspectos ilustram a necessidade de se constatar se os parâmetros relacionados à melhor resposta obtida frente à inoculação de *Salmonella* Enteritidis fagotipo 4 (PT4) observada estariam presentes também em linhagens diferentes, das estudadas, dentro das linhagens de crescimento lento.

Considerando os elementos levantados, o presente projeto foi proposto com os objetivos de avaliar os parâmetros de desempenho, mortalidade e estado de portador da *Salmonella* Enteritidis PT4 na linhagem Gris Barre Cou Plumé (caipira

francês pedrês) pela inoculação oral de pintos de um dia de idade, simulando a transmissão horizontal.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Núcleo Experimental de Doenças das Aves e no laboratório de Bacteriologia do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Foram alojados 120 pintainhos de um dia, 60 por tratamento, 12 aves por unidade experimental, com cinco repetições cada.

O manejo alimentar foi realizado com ração à base de farelo de soja e milho, sem adição de aditivos antimicrobianos e a ração assim como a água foram fornecidos a vontade durante toda fase experimental.

No primeiro dia de vida, 60 pintos foram inoculados diretamente no ingluvío com 0,5 mL de solução salina esterilizada a 0,85%, contendo $5,0 \times 10^2$ UFC/mL de *Salmonella* Enteritidis Fagotipo 4 (PT4) administrada diretamente no ingluvío, Gris barre cou plumé (caipira francês pedrês). Como controle utilizou-se o mesmo número de aves, que foram inoculadas diretamente no ingluvío, com 0,5 mL de solução salina esterilizada a 0,85%. Após inoculação, as aves foram transferidas para isolamentos distintos onde se manteve as mesmas condições de ambiência.

Os pesos das aves e da ração consumida foram considerados semanalmente para cálculo do desempenho. Nos dias sete, 14 e 21, uma ave por parcela foi pesada, necropsiada e os intestinos, fígado, saco vitelínico, coração pesados para estabelecer o cálculo do peso dos órgãos relativo ao peso da ave. E também foram coletados, o conteúdo cecal, suabes de ingluvío e saco vitelínico para detectar a presença da bactéria.

Diariamente, as aves que morreram eram recolhidas, necropsiadas e o coração, fígado e saco vitelínico coletados e submetidos às análises bacteriológicas de acordo com GEORGIA POULTRY LABORATORY (1997).

Os dados quantitativos de desempenho e biometria foram submetidos à análise de variância (ANOVA), para avaliar a homogeneidade de variância dos erros, utilizou-se o teste de Bartlett e para a normalidade dos erros, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para a comparação de médias dos tratamentos, utilizou-se o teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Para as análises foi utilizado o auxílio do software SAS 9.2 (SAS, 2009).

Os dados relacionados à presença/ausência de *Salmonella* Enteritidis foram analisados utilizando o teste não paramétrico Qui-quadrado (χ^2)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a frequência de mortalidade encontrada nos tratamentos durante o período experimental.

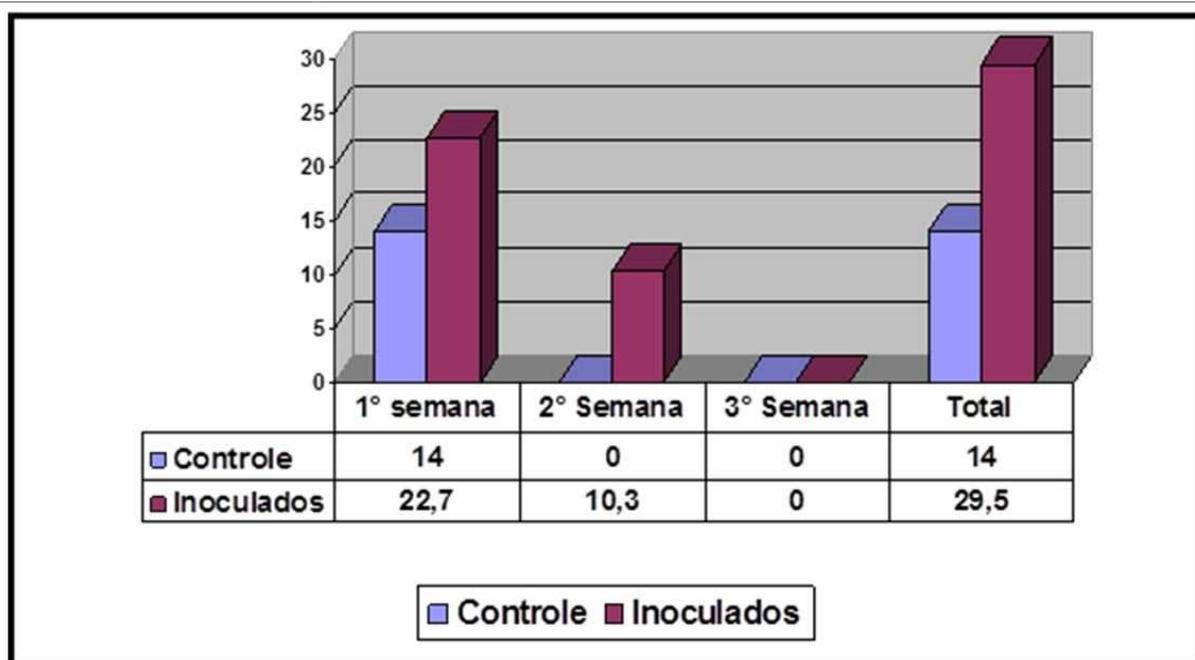


FIGURA 1- Mortalidade atribuída a *S. Enteritidis* durante o período experimental

Observa-se na Figura 1, que a mortalidade apresentou valores 22,7% (10/44) e 14,0% (7/50) na primeira semana de vida; de 10,3% (3/29) e 0,0% (0/38) na segunda semana e 0,0% (0/24) e 0% (0/33) na terceira semana de vida, no grupo de animais que foram desafiados com a *Salmonella* Enteritidis e controle, respectivamente.

Analisando estes resultados, verifica-se que não houve diferença estatística ($P > 0,05$), nas taxas de mortalidade, durante os primeiros sete dias após inoculação. A mortalidade no grupo controle, assim como no desafiado, apresentaram freqüências altas na primeira semana de vida, o que podem ser atribuído, ao baixo peso ao nascer dos pintainhos, 39,6g em média, e ao período em que eles permaneceram sem receber água e ração após a eclosão, devido a distância da empresa fornecedora de pintos até ao local do experimento.

No entanto, quando se analisa os dados da segunda semana, encontram-se diferenças significativas ($P < 0,05$), entre os tratamentos. Sendo que, o grupo desafiado com *Salmonella* Enteritidis apresentou maior mortalidade, quando comparado com o grupo controle. Da mesma forma, observa-se que, a taxa de mortalidade nas aves desafiadas, foi superior as não desafiadas, no período total do experimento.

FERNÁNDEZ et al., (2001) verificaram mortalidade de 23% em frangos de corte, quando inocularam diretamente no ingluvío, *Salmonella* Enteritidis, com 24 horas após o nascimento linhagem, assim como ANDRADE et al., (2009) observaram mortalidade acumulada de 1,67% em pintos da linhagem ISA Label e 25% para a linhagem Ross. As diferenças entre as taxas de mortalidades deste estudo com os acima citados se explicam pela suscetibilidade das linhagens e via de exposição ao inóculo. Também VAN IMMERSEEL et al., (2004) observaram que, ao se promover à infecção de pintos com um dia de idade, com elevadas doses de *Salmonella* Enteritidis, foi verificada uma elevada taxa de mortalidade.

Verifica-se ainda que, ocorreu um declínio da mortalidade, com o avançar da idade. Na primeira e segunda semana, verificaram-se valores de 16,7% (16/60) e 7,7% (3/39) para o grupo desafiado; 11,7% (11/60) e 0,0% (0/49)

para o controle e na terceira semana 0% para ambos os tratamentos. O trato digestivo dos pintos passa por grandes alterações morfológicas e funcionais nos primeiros dias de vida, ocorrendo o estabelecimento da microbiota intestinal normal e o desenvolvimento das células linfóides. O estabelecimento da microbiota intestinal, nas primeiras semanas, assim como o desenvolvimento dos mecanismos de defesa da ave contribuiu para a redução da mortalidade. BEAL et al., (2004) relataram que o avançar da idade aprimora os mecanismos de defesa que são capazes de suprimir infecções por *Salmonella*, possivelmente devidas ao sistema imune celular e humoral, durante as primeiras semanas da vida.

Morreram 19 e 11 aves durante as duas primeiras semanas, do grupo inoculado e controle, respectivamente, no entanto, somente 10 aves de cada tratamento tiveram o conteúdo cecal, saco vitelínico, fígado e coração seus órgãos processados bacteriologicamente (Figura 2).

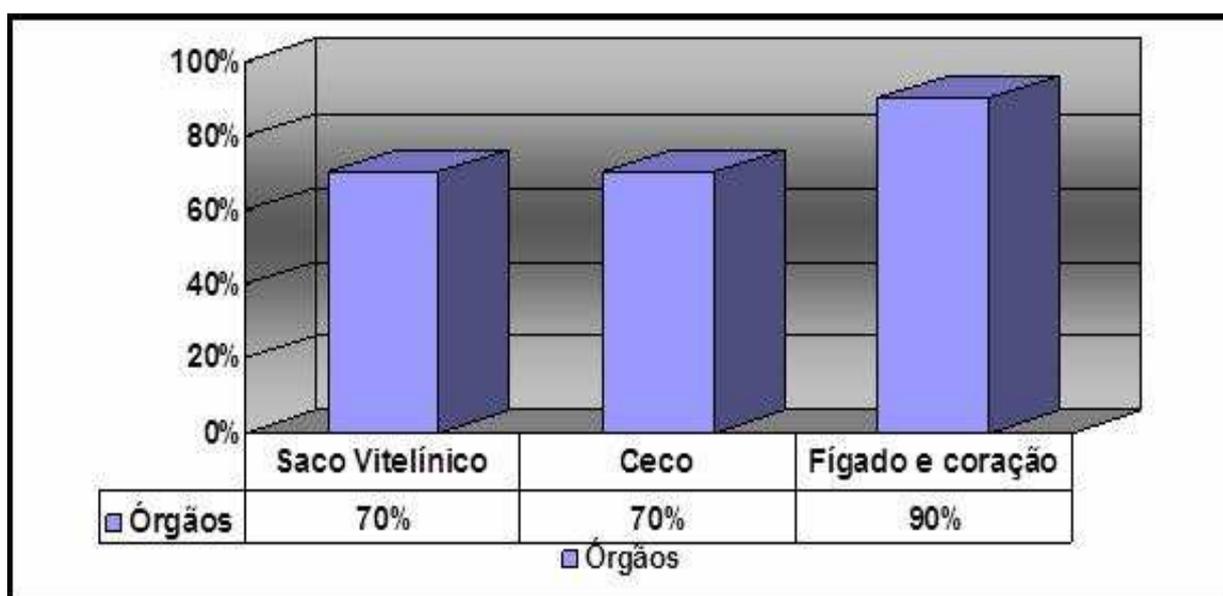


FIGURA 2- Recuperação de *Salmonella* Enteritidis em órgãos de aves que foram desafiadas e morreram

Observa-se na Figura 2 que a bactéria foi isolada em 90% (9/10) dos fígados e corações analisados, enquanto no ceco e no saco vitelínico este valor foi de 70% (7/10), no entanto todas as aves que vieram a óbitos e tiveram seus órgãos processados apresentaram positividade para *Salmonella*. Enquanto as aves que compuseram o grupo controle apresentaram ausência do patógeno nas amostras analisadas. Isso demonstra que o sorovar utilizado experimentalmente, na dose de $5,0 \times 10^4$ como agente desafiante, foi capaz de colonizar o trato gastrintestinal e promover a invasão dos órgãos e provavelmente determinar a morte por infecção sistêmica. Pelos resultados observados, os pintos caipira francês pedrês, se mostraram sensíveis à infecção oral pela *Salmonella* Enteritidis.

A maior detecção nos órgãos é justificada pela afirmativa de que após a ingestão oral, a *Salmonella* coloniza o trato gastrointestinal da galinha, especialmente os cecos e pode penetrar na mucosa epitelial (DESMIDT et al., 1997), replicar nos fagossomos bacterianos, sobrevivendo assim, dentro dos macrófagos e disseminando-se aos órgãos internos, tais como o fígado, o baço e estabelecendo um quadro de uma infecção sistêmica (BOHEZ et al., 2007). Caso o

organismo da ave tenha desenvolvido tecidos linfóides no trato gastrointestinal, pode ser um pré-requisito para eliminação da *Salmonella* Enteritidis (DESMIDT et al., 1997; SHINOHARA, 2008).

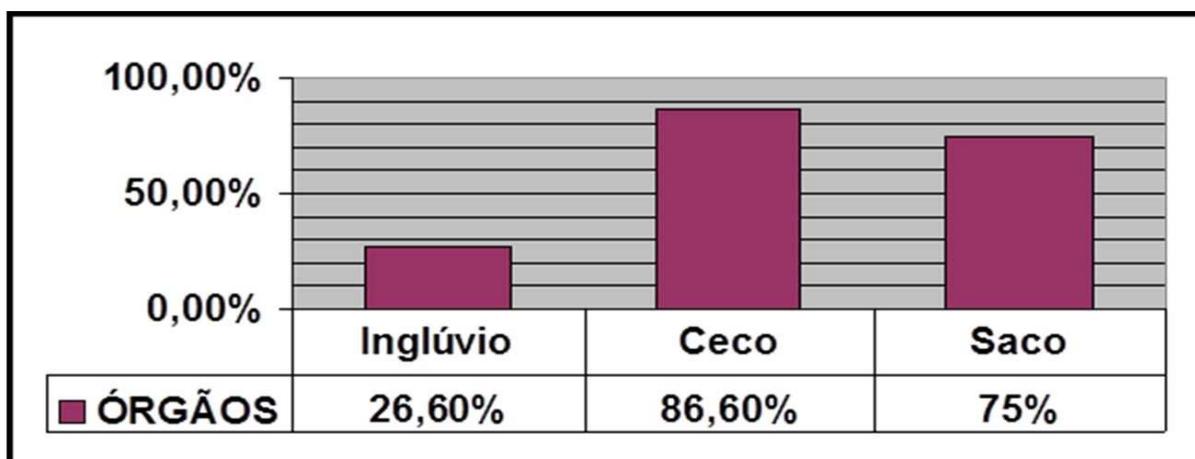


FIGURA 3- Recuperação de *Salmonella* Enteritidis em órgãos de aves portadoras inaparentes

Aos sete, 14 e 21 dias, cinco aves aparentemente normais, de cada tratamento, foram pesadas e sacrificadas, e suabes dos inglúvios, conteúdos dos cecos e saco vitelínico foram coletados e submetidos à análise bacteriológica (Figura 3). As aves do controle apresentaram resultado negativo à análise bacteriológica. Já nas aves desafiadas, o patógeno foi recuperado em 86,60% (13/15) dos cecos, em 75% (9/12) dos sacos vitelínicos e 26,60% (4/15) dos inglúvios analisados. Estes resultados estão próximos ao de GAST et al. (2013) que encontram *Salmonella* Enteritidis (fago tipo 4) em 93,8% de todas as amostras cecais após cinco a seis semanas de inoculação.

DELAZARI (2001) e LEITÃO (2001) consideraram como uma das características mais importante da *Salmonella* Enteritidis, a habilidade desta bactéria de causar doença em aves, ou determinar somente infecção, sem sinais clínicos, podendo instalar no trato gastrointestinal, (TGI) colonizar o intestino, e espalhar para outros animais, no ambiente, e ainda ser incorporada aos alimentos e se constituir em problemas de saúde pública.

A habilidade que os sorotipos de *Salmonella*, têm de causar infecções sistêmicas ou localizadas, ou mesmo determinar um estado de portador, está associada à imunidade do hospedeiro e ao repertório dos genes de virulência da bactéria (CUNNINGHAM-RUNDLES, 2004). VAN IMMERSEEL et al., (2004) observaram que, ao se promover uma dose menor as aves apresentaram um estado assintomático, se tornando portadoras e carregando a doença para outras aves. Estas aves portadoras podem excretar as bactérias intermitentemente, e assim, constituir uma fonte importante de infecção de *Salmonella*.

A análise biométrica, ou seja, os pesos relativos (g/100g de peso vivo) dos intestinos e corações assim como os comprimentos dos intestinos de frangos não mostraram diferença significativa aos sete, 14 e 21 dias ($P > 0,05$) de vida (Tabela 1). Somente aos sete dias, os fígados dos frangos inoculados pela *Salmonella* Enteritidis, ficaram com maior tamanho, diferindo estatisticamente ($P < 0,05$) dos fígados oriundos de aves não inoculadas.

TABELA 1 – Comprimentos e pesos relativos dos intestinos, saco vitelínico, fígado, coração e intestino aos sete, 14 e 21 dias de idade de frangos de corte da linhagem Gris Barre Cou Plumé (caipira francês pedrês)

PESO INTESTINO			
TRATAMENTOS	1-7 dias	1-14 dias	1-21 dias
Sem <i>Salmonella</i>	6,32	5,47	4,51
Com <i>Salmonella</i>	7,07	4,48	4,92
C.V.(%)	14,00	19,97	13,48
P	0,27	0,18	0,36
COMPRIMENTO INTESTINO			
	1-7 dias	1-14 dias	1-21 dias
Sem <i>Salmonella</i>	68,60	90,40	96,80
Com <i>Salmonella</i>	76,80	89,60	87,80
C.V.(%)	17,31	4,02	12,35
P	0,36	0,74	0,28
SACO VITELÍNICO			
	1-7 dias	1-14 dias	1-21 dias
Sem <i>Salmonella</i>	0,58	0,33	0,039
Com <i>Salmonella</i>	3,86	0,38	0,45
C.V.(%)	95,84	31,16	105,81
P	0,07	0,50	0,06
FÍGADO			
	1-7 dias	1-14 dias	1-21 dias
Sem <i>Salmonella</i>	3,110a	2,460	2,460
Com <i>Salmonella</i>	3,680b	2,510	2,620
C.V.(%)	9,290	12,430	4,330
P	0,040	0,803	0,070
CORAÇÃO			
	1-7 dias	1-14 dias	1-21 dias
Sem <i>Salmonella</i>	0,850	0,840	0,750
Com <i>Salmonella</i>	0,870	0,770	0,960
C.V.(%)	9,330	8,700	19,740
P	0,720	0,202	0,120

Letras diferentes na mesma coluna e em mesma faixa etária indicam diferenças significativas a 5%.

A *Salmonella* é capaz de disseminar aos órgãos internos, tais como o fígado, estabelecendo um quadro de uma infecção sistêmica. (BOHEZ et al., 2008). Em estudo realizado por VAN HEMERT et al., (2006), foi observado que ocorreu um aumento no número de unidades formadoras de colônias de amostras de fígado analisadas, até o sétimo dia e logo após ocorreu decréscimo.

Na Tabela 2, encontram-se os dados referentes ao ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar obtidos durante as três semanas do período experimental das aves.

sete, 14 e 21 dias de idade de frangos de corte da linhagem Caipira francês pedrês

Tratamentos	1- 7dias		
	Ganho peso	Consumo	
		ração	CA
Sem <i>Salmonella</i>	53,82	69,20	1,360
Com <i>Salmonella</i>	44,81	57,40	1,383
C.V. (%)	18,31	16,20	14,55
P	0,190	0,140	0,860
	1- 14dias		
	Ganho peso	Consumo ração CA	
Sem <i>Salmonella</i>	192,20	244,60	1,360 A
Com <i>Salmonella</i>	167,20	203,50	1,456 B
C.V. (%)	9,09	14,05	3,04
P	0,073	0,108	0,020
	1- 21dias		
	Ganho peso	Consumo ração CA	
Sem <i>Salmonella</i>	351,00 A	551,95	1,671A
Com <i>Salmonella</i>	286,00 B	462,78	1,952B
C.V. (%)	11,17	16,36	7,57
P	0,04	0,16	0,03

Letras diferentes na mesma coluna e em mesma faixa etária indicam diferenças significativas a 5%

Não foi observada diferença ($P > 0,05$), para as três variáveis de desempenho, estudadas aos sete dias, e para os valores de ganho de peso e consumo de ração aos 14 dias de idade. No entanto, a conversão alimentar mostrou-se pior, para o grupo das aves desafiadas com *Salmonella* Enteritidis, sendo obtida diferença estatística significativa ($P < 0,05$), para estes parâmetros nesta faixa etária.

Observou-se também que, tanto o ganho de peso, quanto a conversão alimentar do período total (1-21 dias), foram piores para o grupo inoculado, quando comparados ao grupo controle ($P < 0,05$). Isso demonstrou que, apesar da bactéria promover mortalidade apenas nas duas primeiras semanas de vida (Figura 1), ela afetou negativamente os índices de desempenho, em períodos subsequentes levando a prejuízos de ordem econômica.

Neste contexto, ANDRADE et al., (2009), observaram menor ganho de peso em aves com infecções inaparentes, com *Salmonella* Enteritidis, nas primeiras semanas de vida. No entanto, a alta percentagem de pintos com colonização do trato gastrointestinal na primeira semana, pode resultar em alterações intestinais nos primeiros dias de vida, e modificar o desempenho, como verificado por ANDREATTI FILHO & CROCCI (2002), para *Salmonella* Enteritidis, que em condições experimentais, reduziu o ganho de peso. Também ANDRADE et al., (2009), registraram em seus estudos, menor ganho de peso aos 14 e 21 dias, e pior conversão alimentar aos 14 dias, em relação ao grupo controle. Os resultados da linhagem ISA Label, de crescimento lento, mostraram que, à

eclosão houve maior injúria pela bactéria, entretanto, recuperou-se mais rapidamente e este patógeno não promoveu alterações nos parâmetros de produção.

CONCLUSÕES

Salmonella foi hábil em migrar para os órgãos das aves e determinar mortalidade. Conclui-se também que promove alterações negativas nos parâmetros de desempenho e estabelece o estado de portador.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, M. A.; MESQUITA, M. A.; STRINGHINI, J. H.; BRITO, L. A.; CHAVES, L. S.; MATTOS, M. S. Aspectos clínicos e anatomo-histopatológicos de pintos de corte oriundos de ovos inoculados experimentalmente com *Salmonella* Enteritidis fagotipo 4. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 909-917, 2009.

ANDREATTI FILHO, R. L.; CROCCI, A. J. Efeito protetor da microbiota congelada e liofilizada sobre a infecção experimental de frangos de corte por *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 5, p. 457- 461, 2002.

BEAL, R.K.; WIGLEY, P.; POWERS, C.; Age at primary infection with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the chicken influences persistence of infection and subsequent immunity to re-challenge. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 100, p. 151-164, 2004.

BOHEZ, L.; GANTOIS, I.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F.; DEWULF, J.; HAESBROUCK, F.; IMMERSEEL, F. V. The *Salmonella* Pathogenicity Island 2 regulator *ssrA* promotes reproductive tract but not intestinal colonization in chickens. **Veterinary Microbiology**, n. 126, p. 216-224, 2007.

BOHEZ, L.; GANTOIS, I.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F.; DEWULF, J.; HAESBROUCK, F.; VAN IMMERSEEL, F. The *Salmonella* pathogenicity island 2 regulator *ssrA* promotes reproductive tract but not intestinal colonization in chickens. **Veterinary Microbiology**, v. 126, p. 216-224, 2008.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Vital signs: Incidence and trends of infection with pathogens transmitted commonly through food—**Foodborne diseases active surveillance network**, 10 U.S. sites, 1996–2010. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, v. 60, p. 749–755, 2011.

CUNNINGHAM-RUNDLES, S. The effect of aging on mucosal host defense. **Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 26, p. 20-25, 2004.

DELAZARI, I. Abate e processamento de carne de aves para garantia da qualidade. In: CONFERÊNCIA APINCO 2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas, **Anais...** Campinas: FACTA, p. 191-203, 2001.

DESMIDT, M.; DUCALETTE, R.; HAESBROUCK, F. Pathogenesis of *Salmonella* Enteritidis phage types four after experimental infection of young chickens. **Veterinary Microbiology**, v. 56, p. 99-109, 1997.

FERNÁNDEZ, A.; LARA, C.; LOSTE, A.; CALVO, S.; MARCA, M.C. Control of *Salmonella enteritidis* phage type 4 experimental infection by fosfomicin 30 in newly hatched chicks. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease**, v. 24, p. 207-216, 2001.

GAST, R. K.; GURAYA, R.; JONES, D. R.; ANDERSON, K. E. Colonization of internal organs by *Salmonella* Enteritidis in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. **Poultry Science**, v. 92, p. 468-473, 2013.

GEORGIA POULTRY LABORATORY. **Monitoring and detection of *Salmonella* in poultry and poultry environments**. Oakwood: Georgia Poultry Laboratory, 1997. 293p. [Workshop]

GREIG, J. D.; A. RAVEL. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 130, p. 77–87, 2009.

HE, G. Z., W. Y. TIAN, N. QIAN, A. C. CHENG, S. X. DENG. Quantitative studies of the distribution pattern for *Salmonella* Enteritidis in the internal organs of chicken after oral challenge by a real-time PCR. **Vet. Res. Commun.**, v. 34, p. 669–676, 2010.

LEITÃO, M. F. F. Qualidade e segurança alimentar em produtos avícolas. In: CONFERÊNCIA APINCO 2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas, **Anais...** Campinas: FACTA, p. 181-190, 2001.

SAS Institute. SAS (Statistical Analysis System). User's Guide: Statistics. Cary, NC: SAS Institute INC; 2009.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; LIMA FILHO, J. L. *Salmonella* sp., important pathogenic agent transmitted through foodstuffs. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

SONG, J. C.; SUH, D. K. Analysis of *Salmonella* enterica serotype Enteritidis isolated from human and chickens by repetitive sequence-PCR fingerprinting, antibiotic resistance and plasmid profiles. **Journal of Veterinary Science**, v. 7, n. 1, p. 37- 41, 2006.

VAN HEMERT, S.; HOEKMAN A.; J. W.; SMITS, M. A.; REBEL, J. M. J. Gene expression responses to a *Salmonella* infection in the chicken intestine differ between lines **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.114, p. 247 - 258, 2006.

VAN IMMERSEEL, F., DE BUCK, J., PASMANS, F., BOHEZ, L., BOYEN, F., HAESBROUCK, F., DUCATELLE, R. Intermittent long-term shedding and induction
ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16; p. 1318 2013

of carrier birds after infection of chickens early post-hatch with a low or high dose of *Salmonella* Enteritidis. **Poultry Science**, v. 83, p.1911–1916, 2004.