

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 31/01/2024.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DA RESPOSTA IMUNE  
CELULAR DE AVES COMERCIAIS (*Gallus gallus domesticus*)  
DESAFIADAS POR *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella*  
*Typhimurium* CONTENDO DELEÇÃO DOS GENES *ttrA* E  
*pduA***

**Julia Memrava Cabrera**

Zootecnista

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**

**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DA RESPOSTA IMUNE  
CELULAR DE AVES COMERCIAIS (*Gallus gallus domesticus*)  
DESAFIADAS POR *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella*  
*Typhimurium* CONTENDO DELEÇÃO DOS GENES *ttrA* E  
*pduA***

**Discente: Julia Memrava Cabrera**

**Orientador: Prof. Dr. Angelo Berchieri Júnior**

**Coorientador: Dr. Mauro de Mesquita Souza Saraiva**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

**2022**

C117a

Cabrera, Julia Memrava

Avaliação imunoistoquímica da resposta imune celular de aves comerciais (Gallus gallus domesticus) desafiadas por Salmonella Enteritidis e Salmonella Typhimurium contendo deleção dos genes ttrA e pduA / Julia Memrava Cabrera. -- Jaboticabal, 2022  
53 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Angelo Berchieri Junior

Coorientador: Mauro de Mesquita Souza Saraiva

1.Linfócitos. 2. Macrófagos. 3. Salmonella enteritidis. 4. Salmonella typhimurium.  
5.Salmonelose. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

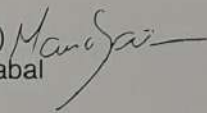
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DA RESPOSTA IMUNE CELULAR DE AVES COMERCIAIS (*Gallus gallus domesticus*) DESAFIADAS POR *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium CONTENDO DELEÇÃO DOS GENES *ttrA* e *pduA*

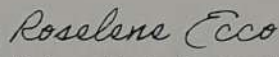
AUTORA: JULIA MEMRAVA CABRERA

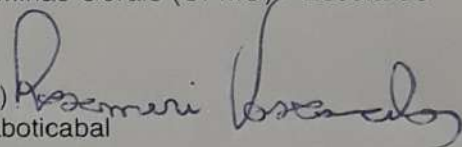
ORIENTADOR: ANGELO BERCHIERI JUNIOR

COORDINADOR: MAURO DE MESQUITA SOUZA SARAIVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:

Pós-doutorando MAURO DE MESQUITA SOUZA SARAIVA (Participação Virtual)   
Departamento de Patologia Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Prof. Dr. ROSELENE ECCO (Participação Virtual)   
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária. / Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) - Escola de Veterinária

Profa. Dra. ROSEMERI DE OLIVEIRA VASCONCELOS (Participação Virtual)   
Departamento de Patologia Reprodução e Saúde Única / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 31 de julho de 2022

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Julia Memrava Cabrera, São Paulo, 26/07/1991. Possui graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (2019). Foi bolsista de Treinamento Técnico nível 3 (TT-3) pela FAPESP, atuando no laboratório de Ornitopatologia do departamento de Patologia Veterinária, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV). Atualmente é aluna de mestrado da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Tem experiência na área de Zootecnia, com ênfase em Microbiologia Agropecuária.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe, Rosana, por todo amor, dedicação, educação e incentivo. Agradeço por apoiar todas as minhas decisões, sempre ser meu porto seguro e servir de exemplo em todos os âmbitos. Eu nada seria se não fosse você e seu legado em minha vida. Obrigada por ser minha mãe e amiga. Sempre soube que não importa onde eu estiver, sempre terei você comigo.

Aos meus avós, Dirce e Rodolpho, por todo carinho, momentos de ternura e felicidade. Obrigada por não apenas estarem ao meu lado me apoiando em todos os momentos, mas por serem um porto seguro. Minhas lembranças e meu coração estão repletos de dias de felicidade que tivemos juntos.

Ao meu namorado, Daniel Farias Marinho do Monte, um reconhecido incentivador de pessoas. Que sorte a minha que nossos caminhos se cruzaram. Poder ter como companheiro alguém que me incentiva profissionalmente e divide todo o vasto conhecimento diariamente já seria de grande felicidade. Mas os momentos que tivemos, a conexão de partilharmos, definiria como um acontecimento inesperadamente maravilhoso. Obrigada por dividir essa caminhada comigo. Que continue em outras vidas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Angelo Berchieri Junior – um ser humano genuinamente bom e justo-, pela oportunidade, confiança e apoio. Obrigada por possibilitar que eu me encontrasse profissionalmente, nada poderia ser mais importante do que isso. Agradeço também pela troca diária de ensinamentos e boas conversas.

Ao meu coorientador, Dr. Mauro de Mesquita Souza Saraiva, que me deu espaço e oportunidade de começar o que desejo que seja minha carreira até o final da vida. Pelas risadas e momentos de leveza.

A toda equipe do Laboratório de Ornitopatologia – Unesp/FCAV, pelas experiências e ensinamentos compartilhados. Obrigada por contribuírem para meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, minha gratidão ao

conselho, docentes e todos os funcionários por todo aprendizado e bons momentos durante minha formação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 8888.512107/2020-00, e com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Processo nº 2018/03189-0.

Ao Houghton Trust, por financiar a apresentação de trabalho internacional derivado desta dissertação em congresso internacional.

Aos membros da banca examinadora que contribuíram substancialmente para melhoria desta dissertação.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                      | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| RESUMO.....                                                                                                                                                          | iii    |
| ABSTRACT.....                                                                                                                                                        | iv     |
| LISTA DE FIGURAS.....                                                                                                                                                | v      |
| LISTA DE TABELAS.....                                                                                                                                                | vii    |
| CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....                                                                                                                               | 1      |
| Introdução.....                                                                                                                                                      | 1      |
| Revisão de literatura.....                                                                                                                                           | 3      |
| Mecanismos de patogenicidade.....                                                                                                                                    | 3      |
| Genes <i>ttrA</i> e <i>pduA</i> .....                                                                                                                                | 3      |
| Sistema imune de aves comerciais.....                                                                                                                                | 7      |
| Imunoistoquímica.....                                                                                                                                                | 8      |
| Objetivos.....                                                                                                                                                       | 8      |
| Objetivo geral.....                                                                                                                                                  | 8      |
| Objetivos específicos.....                                                                                                                                           | 9      |
| CAPÍTULO 2 - <i>Salmonella enterica</i> SEROVARS IN ABSENCE OF <i>ttrA</i> AND <i>pduA</i> GENES<br>ENHANCE THE CELL IMMUNE RESPONSE DURING CHICK<br>INFECTIONS..... | 10     |
| Abstract.....                                                                                                                                                        | 10     |
| Introduction.....                                                                                                                                                    | 10     |
| Results.....                                                                                                                                                         | 12     |
| Experiment 1 – <i>Salmonella</i> Enteritidis challenged.....                                                                                                         | 12     |

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| Experiment 2 – <i>Salmonella</i> Typhimurium challenged..... | 13 |
| Discussion.....                                              | 15 |
| Material and methods.....                                    | 17 |
| Bacterial strains and mutant construction.....               | 18 |
| <i>In vivo</i> experiment.....                               | 18 |
| Experiment 1 – <i>Salmonella</i> Enteritidis.....            | 18 |
| Experiment 2 – <i>Salmonella</i> Typhimurium.....            | 19 |
| Immunohistochemistry.....                                    | 19 |
| Tissue section.....                                          | 19 |
| Immune cells staining.....                                   | 20 |
| Data analysis.....                                           | 21 |
| References.....                                              | 22 |
| Tables.....                                                  | 26 |
| Figure.....                                                  | 30 |
| Supplementary information.....                               | 31 |
| REFERÊNCIAS.....                                             | 37 |

**AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DA RESPOSTA IMUNE CELULAR DE AVES COMERCIAIS (*Gallus gallus domesticus*) DESAFIADAS POR *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium CONTENDO DELEÇÃO DOS GENES *ttrA* E *pduA***

**RESUMO** - *Salmonella* spp. é um dos principais patógenos de origem alimentar responsável por causar grandes prejuízos econômicos, principalmente para a avicultura, e trazer consequências também para a saúde pública. Tanto a capacidade de sobrevivência do patógeno no ambiente durante a inflamação quanto sua relação com o sistema imunológico do hospedeiro, desempenham um papel fundamental durante as infecções em aves. O objetivo deste estudo foi quantificar a presença de macrófagos e populações de linfócitos T, por meio da utilização da técnica de imuno-histoquímica, em linhagens comerciais de frangos infectados experimentalmente por cepas selvagens e mutantes de *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium contendo deleção dos genes *ttrA* e *pduA*. *Salmonella* Enteritidis  $\Delta ttrA \Delta pduA$  desencadeou uma porcentagem maior da área corada do que o tipo selvagem, com exceção de poedeiras leves. As infecções por *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Typhimurium  $\Delta ttrA \Delta pduA$  levam a um padrão, 1 e 14 dpi apresentam uma porcentagem da área marcada mais expressiva do que em 3 e 7 dpi. Em ambas as linhagens estudadas, foi observada infiltração proeminente de macrófagos em comparação com os linfócitos. No geral, os animais infectados pela cepa mutante apresentam uma área marcada positivamente maior do que o tipo selvagem. Deleções nos genes *ttrA* e *pduA* resultaram em uma infiltração mais intensa de macrófagos e linfócitos nas aves hospedeiras, sugerindo não atenuação do patógeno, mesmo em diferentes cepas de *Salmonella*.

**Palavras-chave:** linfócitos, macrófagos, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, salmonelose

**IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF THE IMMUNE CELL RESPONSE OF COMMERCIAL BIRDS (*Gallus gallus domesticus*) CHALLENGED BY *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium CONTAINING DELETION OF *ttrA* AND *pduA* GENES**

**ABSTRACT** – *Salmonella* spp. is one of the major foodborne pathogens responsible for causing great economic damage, especially to the poultry industry, and bringing consequences for public health as well. Both the pathogen survival ability in the environment during inflammation as well as their relationship with the host immune system, play a key role during infections in poultry. The objective of this study was to quantify the presence of the macrophages and T lymphocytes populations using the immunohistochemistry technique, in commercial lineages of chickens experimentally infected by wild-type and mutant strains of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium lacking *ttrA* and *pduA* genes. *Salmonella* Enteritidis  $\Delta ttrA \Delta pduA$  triggered a higher percentage of the stained area than the wild-type, with exception of light-laying hens. *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Typhimurium  $\Delta ttrA \Delta pduA$  infections lead to a pattern, 1 and 14 dpi present a percent of the stained area more expressive than at 3 and 7 dpi. In both lineages studied, were observed prominent infiltration of macrophages in comparison with lymphocytes. Overall, animals infected by the mutant strain display a positively stained area higher than the wild-type. Deletions in both *ttrA* and *pduA* genes resulted in a more intense infiltration of macrophages and lymphocytes in the host birds, suggesting no pathogen attenuation, even in different strains of *Salmonella*.

**Keywords:** lymphocytes, macrophages, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, salmonellosis.

## CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

### Introdução

A avicultura comercial é considerada um dos setores de maior crescimento da indústria agropecuária no Brasil. De acordo com dados projetados pela Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), no ano de 2020, a produção brasileira de carne de frango apresentará um crescimento entre 3 e 4%, alcançando o total de 13,7 bilhões de quilos. Este crescimento tem sido observado em ambos os aspectos, exportação e consumo interno, demonstrando que, apesar dos impactos da pandemia, o setor continua altamente produtivo. Outro ponto importante para a eficiência deste desempenho é a evolução da genética das aves, da nutrição e do sistema de manejo. Porém, a intensificação do sistema produtivo adotado na maioria das criações, com alta densidade populacional, favorece a presença de agentes patogênicos nos lotes (ABPA, 2017), em especial estirpes de *Salmonella enterica*.

Surtos alimentares em seres humanos, provenientes de ingestão de produtos de origem avícola, são frequentemente associados a *Salmonella* spp. (O'Regan et al., 2008), visto que estes são animais suscetíveis e podem atuar como fonte de infecção para disseminação do patógeno (Omiccioli et al., 2009). O gênero *Salmonella* integra a família Enterobacteriaceae, e abriga mais de 2600 sorovares (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014), muitos deles altamente virulentos, sendo a maioria considerada patogênica para os seres humanos e animais. No caso das aves, ocorrem três tipos de infecções: o tifo aviário, causado por *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Gallinarum biovar Gallinarum (*S. Gallinarum*); a pulorose, causada por *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Gallinarum biovar Pullorum (*S. Pullorum*); o paratifo aviário, sem agente etiológico específico, e pode ser causado por qualquer um dos demais sorovares (ex.: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovares Enteritidis (*S. Enteritidis*), Heidelberg (*S. Heidelberg*) e Typhimurium (*S. Typhimurium*)).

Infecções ou surtos provocados por salmoneloses devem ser, obrigatoriamente, notificadas à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), em decorrência aos prejuízos causados pela mortalidade de animais e além de apresentarem risco de disseminação da doença para outras localidades (OIE, 2012), uma vez que a salmonelose é considerada uma doença transmitida por alimentos (DTA) de ocorrência global. Em países industrializados, a incidência

de DTAs causadas por sorovares paratíficos do gênero *Salmonella*, é frequentemente alta em levantamentos epidemiológicos (Ma et al. 2014). No Brasil, segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) (2020), em seu último relatório publicado referente ao período 2007-2015, embora a incidência de DTAs no país tenha apresentado queda durante os anos, o principal patógeno isolado dentre as amostras analisadas foram estirpes do gênero *Salmonella*, (25,17%), no qual, *Salmonella* Enteritidis foi responsável por 67,5% destes.

Os sorovares *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, há décadas, são associados principalmente a infecções alimentares. Entre 1995 e 2010, *S. Enteritidis* foi identificada em 34,2% do total de amostras positivas para *Salmonella* spp. (Freitas Neto et al., 2010). Conforme o sistema de alerta rápido da União Europeia (RASFF), no ano de 2017, em 330 lotes de carne de frango provenientes do Brasil detectou-se *Salmonella* spp. em 299 deles, resultando em rejeite e devolução da remessa ao país de origem. Esta notificação e estorno de produtos avícolas demonstrou um ponto crítico para o mercado exportador brasileiro, pois podem resultar em embargos comerciais, causando maior prejuízo econômico ao país (EU, 2017).

A escolha por *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium se deve, não apenas ao histórico como causadores de infecções alimentares oriundas de produtos de origem avícola, mas também aos embargos comerciais e grande prejuízo à economia do país causado por estas estirpes. Essas salmonelas nem sempre provocam grandes danos à saúde das aves, mas quando presentes se constituem em problema de saúde pública e deve-se mencionar a facilidade para se tornarem multirresistente à antimicrobianos, bem como se perpetuarem no ambiente. No meio científico, estudos que avaliam o metabolismo bacteriano têm se destacado, assim como os fatores associados ao processo de colonização em mamíferos. Porém, ainda há escassez de estudos que avaliem especificamente as vias do metabolismo de *Salmonella* spp. em aves. Compreender a atuação dos genes responsáveis por essas vias, que proporcionam vantagem à colonização e multiplicação bacteriana em aves comerciais, evidencia a importância deste estudo. E a disponibilidade de ferramentas como a imuno-histoquímica contribuem para a compreensão de como o hospedeiro responde à infecção. Os conhecimentos adquiridos poderão ajudar a compreender melhor a relação da bactéria com o hospedeiro, assim auxiliando na busca de alternativas para inibir sua sobrevivência em aves e permanência no ambiente avícola.

## REFERÊNCIAS

- ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**. ABPA projeta alta na produção de carne de frango e carne suína em 2020. Disponível em: <https://abpa-br.org/abpa-projeta-alta-na-producao-de-carne-de-frango-e-de-carne-suina-em-2020/>. Acesso em: 26 nov. 2020.
- ABPA. **Associação Brasileira de Proteína Animal**. Relatório anual: 2016. Brasil. São Paulo, 2017.
- Badia, J.; Ros, J.; Aguilar, J. **Fermentation mechanism of fucose and rhamnose in *Salmonella* Typhimurium and *Klebsiella pneumoniae***. J. Bacteriol 161:435–437, 1985.
- Berchieri Jr, A.; Murphy, C.K.; Marston, K.; Barrow P.A. **Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: Effect of bacterial and host genetic background**. Avian Pathology, v. 30, n. 3, p.221- 231, 2001.
- Chirullo, B.; Pesciarili, M.; Drumo, R.; Ruggeri, J.; Razzuoli, E.; Pistoia, C.; Petrucci, P.; Martinelli, N.; Cucco, L.; Moscati, L.; Amadori, M.; Magistrali C.F.; Alborali, G.L.; Pasquali, P. ***Salmonella* Typhimurium exploits inflammation to its own advantage in piglets**. Frontiers in Microbiology, v. 6, n. 985, 2016.
- Ernst, R.K.; Dombroski, K.M.; Merrick, J.M. **Anaerobiosis, type 1 fimbriae, and growth phase are factors that affect invasion of HEp-2 cells by *Salmonella* Typhimurium**. Infection and Immunity, v. 58, n. 6, 1990.
- EU. **European Union. RASFF - The Rapid Alert System for Food and Feed**. RASFF Portal. European Commission. Health and Food Safety 2017. Disponível em: <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-indow/portal/?event=SearchForm&cleanSearch=1>. Acesso em: 26 nov. 2020.
- Denadai, J. **Infecção de aves (*Gallus gallus domesticus*) com *Salmonella enterica* subesp. *enterica* sorovar Enteritidis contendo deleções nos genes *cobS*, *cbiA*, *pduC*, *pduD* e *pduE*: avaliação da colonização intestinal, invasão sistêmica e resposta imune**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal. 111p, 2015.
- Freitas Neto, O. C., Penha Filho, R.C., Barrow, P.A. **Sources of Human Non-Typhoid *Salmonellosis*: A Review**. Brazilian Journal of Poultry Science. v. 12, n. 1, p.1-11, 2010.

Garsin, D.A. **Ethanolamine utilization in bacterial pathogens: roles and regulation.** Nature Review Microbiology, v. 8, n. 4, p.290-295, 2010.

Gart, E.V.; Suchodolski, J.S.; Welsh, T.H. Jr; Alaniz, R.C.; Randel, R.D.; Lawhan, S.D. ***Salmonella* Typhimurium and multidirectional communication in the gut.** Frontiers in Microbiology, v.7, n. 1827, p.1-18, 2016.

Hinsley, A.P.; Berks, B.C. **Specificity of respiratory pathways involved in the reduction of sulfur compounds by *Salmonella enterica*.** Microbiology, v. 148, p.3631-3638, 2002.

Horswill, A. R.; Escalante-Semerena, J.C. **Propionate catabolism in *Salmonella* Typhimurium LT2: two divergently transcribed units comprise the prp locus at 8.5 centisomes, prpR encodes a member of the sigma-54 family of activators, and the prpBCDE genes constitute an operon.** Journal of Bacteriology, v. 179, p.928-940, 1997.

Issenhuth-Jeanjean, S.; Roggentin, P.; Mikoleit, M.; Guibourdenche, M.; Pinna, E.; Nair, S.; Fields, P.I.; Weill, F. **Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme.** Research in Microbiology, v. 165, p.526-530, 2014.

Jones, P.W.; Turner, J.M. **Interrelationships between the enzymes of ethanolamine metabolism in *Escherichia coli*.** Journal Genetic Microbiology, v. 130, n. 2, p.299-308, 1984.

Khan, C.M.A. **The Dynamic Interactions between Salmonella and the Microbiota, with in the Challenging Niche of the Gastrointestinal Tract.** International Scholarly Research Notices. v. 2014, p.1-23, 2014.

Ma, K.; Deng, Y.; Bai, Y.; Xu, D.; Chen, E.; Wu, H.; Li, B.; Gao, L. **Rapid and simultaneous detection of *Salmonella*, *Shigella*, and *Staphylococcus aureus* in fresh pork using a multiplex real-time PCR assay based on immunomagnetic separation.** Food Control, v. 42, p.87-93, 2014.

Montassier, H. J. **Fisiopatologia do sistema imune.** In: Berchieri Junior, A.; Silva, E. N.; Fábio, J. D.; Sesti, L.; Zuanaze, M. A. F. (Eds.). Doenças das Aves. 2. Ed. Campinas: FACTA, 2009, p.391-434.

Omiccioli, E.; Amagliani, G.; Brandi, G.; Magnani, M. **A new platform for Real-Time PCR detection of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157 in milk.** Food Microbiology, v. 26, p.615-622, 2009.

O'regan, E.; McCabe, E.; Burgess, C.; McGuinness, S.; Barry, T.; Duffy, G.; Whyte, P.; Fanning, S. **Development of a real-time multiplex PCR assay for the detection of multiple *Salmonella* serotypes in chicken samples.** BMC Microbiology, v. 8, p.1-11, 2008.

OIE, World Organisation for Animal Health. **Fowl typhoid and Pullorum disease**, capítulo 2.3.11. In: OIE (Ed.). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7th Ed. Paris: OIE, 2012. p.538-548.

Patel, S.; McCormick, B.A. **Mucosal Inflammatory Response to *Salmonella* Typhimurium Infection.** Frontiers of Immunology, v. 5, n. 311, p.1-10, 2014.

Price-Carter, M.; Tingey, J.; Bobik, T.A.; Roth, J.R. **The alternative electron acceptor tetrathionate supports B12-dependent anaerobic growth of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on ethanolamine or 1,2-propanediol.** Journal Bacteriology, v. 183, n. 8, p.2463-2475, 2001.

Axena, R. K.; Anand, P.; Saran, S.; Isar, J.; Agarwal, L. **Microbial production and applications of 1,2-propanediol.** Indian Journal of Microbiology, 50(1), 2–11, 2010.

SVS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. Volume 51, Número 32. ago. 2020. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2020/August/17/Boletim-epidemiologico-SVS-32.pdf> Acesso em: 26 nov. 2020.

Soria, M.C.; Soria, M.A.; Bueno, D.J.; Terzolo, H.R. **Comparison of 3 culture methods and PCR assays for *Salmonella* Gallinarum and *Salmonella* Pullorum detection in poultry feed.** Poultry Science, v. 92, p.1505-1515, 2013.

Staib, L.; Fuchs, T.M. **Regulation of fucose and 1,2-propanediol by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.** Frontiers in Microbiology, v. 6, n. 1116, 2015.

Thiennimitr, P.; Winter, S.E.; Winter, M.G.; Xavier, M.N.; Tolstikov, V.; Hoseby, D.L.; Sterzenbach, T.; Tsolis, R.M.; Roth, J.R.; Baumler, A.J. **Intestinal inflammation allows *Salmonella* to use ethanolamine to compete with the microbiota.** PNAS. v. 108, n. 42, 2011.

Van Immerseel, F.; De Buck, J.; De Smet, I.; Mast, J.; Haesebrouck, F.; Ducatelle, R. **Dynamics of immune cell infiltration in the caecal lamina propria of chickens after neonatal infection with a *Salmonella* Enteritidis strain.** Developmental & Comparative Immunology, 26(4), 355–364, 2002.

Potts EM, Coppotelli G, Ross JM. **Histological-Based Stainings using Free-Floating Tissue Sections.** J Vis Exp. 2020;(162):10.3791/61622.

Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. **An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry.** Methods Mol Biol. 2019;1897:289-298.

Winter, S.E.; Thiennimitr, P.; Winter, M.G.; Butler, B.P.; Huseby D.L.; Crawford, R.W.; Russell, J. M.; Bevins, C.L.; Adams, L.G.; Tsois, R.M.; Roth, J.R.; Baumler, A.J. **Gut inflammation provides a respiratory electron acceptor for *Salmonella*.** Nature, v. 467, p.426-429, 2010.

Winter, S.E.; Baumler, A.J. **A breath-taking feat: to compete with the gut microbiota, *Salmonella* drives its host to provide a respiratory electron acceptor.** Gut microbes, v. 2, n. 1, p.57- 60, 2011.

Zancan, F.B.; Berchieri Junior, A.; Fernandes, S.A.; Gama, N.M.S. Q. ***Salmonella* spp. investigation in transport box of day-old birds.** Brazilian Journal of Microbiology, São Paulo, v. 31, n. 3, p.230-232, 2000.