



Detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*) através de suabes cloacais

Salmonella sp. detection from Greater Rhea (*Rhea americana*) trough cloacal swabs

Rosecler Alves Pereira^{1,2}, Cláudio Wageck Canal³ & Verônica Schmidt⁴

RESUMO

A ema (*Rhea americana*) é uma ratita nativa da América do Sul que está sendo criada comercialmente em fazendas no sul do Brasil pela sua carne e penas. Devido ao potencial que as aves têm de transmitir sorovares de *Salmonella* sp capazes de causar toxinfecção alimentar, torna-se fundamental conhecer o estado sanitário das emas em relação a este patógeno. Com este objetivo, procurou-se verificar a viabilidade da utilização do suabe cloacal para o isolamento de *Salmonella* sp. em emas. Vísceras e suabes cloacais foram coletadas de 26 aves abatidas em um frigorífico no Rio Grande do Sul. Utilizando-se o isolamento em fígado e/ou ceco como método diagnóstico padrão, determinou-se alta especificidade (80%) e valor preditivo positivo (90,91%); porém, verificou-se baixa sensibilidade (47,62%) e valor preditivo negativo (26,7%). Das 11 cepas isoladas a partir de suabes, duas (18,2%) foram identificadas como *S. enterica enterica* rugosa, três (27,3%) como *S. Newport* e seis (54,5%) como *S. Typhimurium*. Através desse estudo, verificou-se que a utilização de suabe cloacal para detecção de *Salmonella* sp. em emas deve ser criteriosa, uma vez que o número de falsos negativos é elevado.

Descritores: *Rhea americana*, suabe cloacal, *Salmonella* sp., diagnóstico, ratita.

ABSTRACT

The Greater Rhea (*Rhea americana*) is a wild southern South American native bird that is bred in captivity for its feathers and meat. In aiming to verify the cloacal swab viability for *Salmonella* sp. detection by microbiological standard methods in Greater Rhea samples, visceral and cloacal swabs were collected from 26 birds in a slaughterhouse in Rio Grande do Sul. Of this number, seven (63.6%) were positive for salmonellas both in liver and caecum swabs, two (18.1%) in liver, and in one (9%) in caecum swabs. Using the liver and/or caecum isolation as standard test, the results show high specificity (80%) and positive predictive value (90.91%) for the experimental approach adopted; nevertheless, low sensibility (47.62%) and negative predictive value (26.7%) were also observed. Of the 11 strains isolated in the experiment, two (18.2%) were identified as *S. enterica enterica* rugosa, three (27.3%) as *S. Newport*, and six (54.5%) as *S. Typhimurium*. These data show that the use of cloacal swabs to detect *Salmonella* sp. in Greater Rhea is possible, because of isolation in other viscera. Yet, such experimental approach is to be taken with care, in the light of the high risk of false negative results.

Key words: *Rhea americana*, cloacal swab, *Salmonella* sp., diagnose, ratite.

INTRODUÇÃO

A recondução de animais cativos à natureza pode trazer riscos para os estoques selvagens remanescentes, pois existe a possibilidade de ruptura nas interações ecológicas e sociais já existentes na área de soltura, de impactos na estrutura gênica das populações selvagens e, principalmente, de transmissão de patógenos para os indivíduos selvagens, entre outros [24].

O suabe cloacal tem sido utilizado para a realização de monitoria bacteriológica em aves silvestres encaminhadas para soltura e aves em cativeiro, dentre outras. Vários microorganismos patogênicos têm sido isolados de suabe cloacal em aves silvestres e domésticas, dentre eles *Salmonella* sp. [12,18]. Por essa razão, a União Internacional para Conservação da Natureza estabeleceu critérios que devem nortear iniciativas de solturas de animais na natureza [10]. Assim, para que sejam liberados novamente na natureza os animais silvestres devem ter sido testados microbiologicamente para não servirem como possíveis fontes de infecção a espécies silvestres e domésticas.

Além disso, o Programa Nacional de Sanidade Avícola indica a realização de suabe cloacal para a monitoria de *Salmonella* sp. em aves domésticas, silvestres e ornamentais [4], incluindo as ratitas. A ema (*Rhea americana*) é uma ratita nativa da América do Sul, sendo criada em fazendas no sul do Brasil pela sua carne e penas. Desta forma, o controle de *Salmonella* sp. é um imperativo para evitar perdas na produção e a transmissão de toxinfecções alimentares aos consumidores de sua carne.

Este trabalho teve como objetivo verificar a viabilidade da utilização do suabe cloacal em emas (*Rhea americana*) para a coleta de amostras para detecção de *Salmonella* sp. por meio de isolamento bacteriológico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados suabes cloacais de 26 emas (*Rhea americana*) ao abate, escolhidas aleatoriamente dentro de cinco lotes provenientes de diferentes criatórios localizados no Rio Grande do Sul. Destes mesmos animais também foram coletadas amostras de ceco e fígado. As amostras foram processadas para isolamento de *Salmonella* sp. [14] e as colônias morfológica e bioquimicamente compatíveis com este gênero foram encaminhadas para sorotipificação na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), no Rio de Janeiro.

A determinação da sensibilidade, especificidade e valores preditivos do suabe como método diagnóstico na identificação de emas portadoras e/ou infectadas por salmonelas foram calculados, utilizando-se o isolamento bacteriano em vísceras (fígado e ceco) como método padrão [21]. Para a construção da curva ROC (Receiver Operator Characteristics) e a determinação de diferença estatística entre o isolamento de salmonelas em vísceras e suabes, analisada pelo teste de MacNemar, utilizou-se o software SPSS for Windows, versão 12.0.2 (SPSS Inc., Chicago, 2004). A escala de valores do índice kappa foi utilizada de acordo com ABRAIRA (2000) [1].

RESULTADOS

Verificou-se isolamento de *Salmonella* em 19 (73,1%) fígados, 13 (50%) conteúdos cecais e 11 (42,3%) suabes cloacais. Considerando-se as aves que apresentaram positividade no isolamento para *Salmonella* em suabes cloacais, sete (63,6%) foram concomitantemente positivas no fígado e no ceco; duas (18,1%), apenas no fígado e uma (9%), no ceco. Em uma ave (3,85%) isolou-se salmonela apenas do suabe cloacal e em 11 aves (42,30%) apenas das vísceras de um total de 26 amostradas (Tabela 1).

Utilizando-se o isolamento em fígado e/ou ceco como método padrão, determinou-se alta especificidade (80%) e valor preditivo positivo (90,91%); porém, verificou-se baixa sensibilidade (47,62%) e valor preditivo negativo (26,7%).

Comparando-se o número de aves com resultados concordantes (isolamento ou não isolamento) em vísceras e suabes cloacais, verificou-se que não houve diferença significativa ($p=0,1815$) entre estes. Entretanto, ao compararmos os resultados discordantes, ou seja, a não concomitância entre os isolamentos em vísceras e suabe, determinou-se diferença signi-

Tabela 1. Tabela de contingência comparando os resultados do isolamento de salmonela em emas a partir de vísceras com o isolamento a partir de suabes de cloaca.

Suabes	Vísceras		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	10	1	11
Negativo	11	4	15
Total	21	5	26

ficativa ($p=0,0094$). Isto por que, em um número expressivo de aves (11/26) observou-se isolamento de salmonelas em vísceras, mas não no suabe (Tabela 1). Desta forma, o grau de associação entre os dois métodos diagnósticos foi de 3,43 (OR = 0,5267 a 22,4328) e a concordância entre estes foi baixa ($k = 0,231$).

Ao compararmos os resultados em fígado e suabe cloacal, observaram-se 10 aves com isolamento de salmonela no fígado, mas não no suabe ($p=0,039$). Por outro lado, observaram-se 5 aves com isolamento positivo do conteúdo cecal e negativo do suabe cloacal ($p=0,727$).

Em um total de 11 cepas isoladas a partir de amostras de suabe cloacal, duas (18,2%) foram identificadas como *S. enterica enterica* rugosa, três (27,3%) pertenciam ao sorovar Newport e seis (54,5%) ao sorovar Typhimurium [17].

Determinou-se uma área sob a curva ROC de 61,10% (Figura 1). A área sob a curva ROC mede a probabilidade de concordância entre duas medidas [6], onde uma área de 50% reflete ausência de força (poder discriminatório) na relação e uma área de 100% reflete concordância perfeita [21].

DISCUSSÃO

Na medicina veterinária, a coleta de amostras através de suabes retais tem sido utilizada para a detecção de salmonelas em animais vivos, como roedores [9], gatos [24] e tartarugas [19]; suabes de ambiente, na avaliação qualitativa de infecção por salmonelas em suínos [5], aves [11,15,25] e bovinos leiteiros [16]; suabes em alimentos, para determinação de salmonelas em carcaças de perus [13] e suínos [3].

Alguns autores afirmam que a utilização de fezes frescas propicia a detecção de uma maior número de amostras positivas para *Salmonella* sp. do que o suabe cloacal [8]. Em ovinos, foi verificado maior percentual de isolamento de salmonelas em fezes do que em suabes, sendo determinada baixa concordância ($k=0,4$) entre os resultados obtidos [20]. Em espécies silvestres de centros de captura, o suabe cloacal pode representar a única ferramenta para realizar a monitoria de indivíduos, uma vez que a coleta de fezes no ambiente não se aplica para este fim.

No presente estudo, verificou-se que o suabe cloacal pode ser utilizado como ferramenta na detecção de emas infectadas com *Salmonella* sp., uma vez

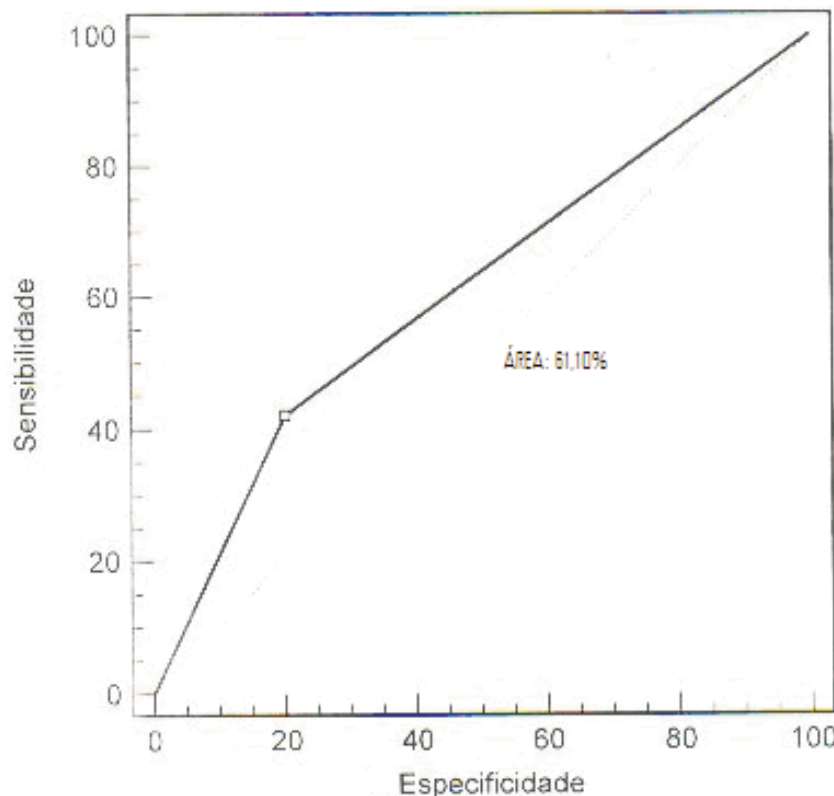


Figura 1. Curva ROC para a utilização de suabe cloacal como método diagnóstico de salmonelas em emas (*Rhea americana*).

que 90,9% das amostras com isolamento bacteriano no suabe cloacal também o eram no fígado e ceco.

A presença de elevado número de indivíduos com isolamento de salmonela em vísceras e ausência desta nas amostras de suabe poderia ser explicada pelo mecanismo de excreção desta bactéria que ocorre de modo intermitente [7]. Por outro lado, a presença de *Salmonella* sp. em vísceras poderia ser decorrente do seqüestro da bactéria por células do sistema retículo-endotelial e não à infecção [2].

Os resultados do presente trabalho demonstraram que a utilização da amostragem por suabe cloacal para a determinação de aves infectadas por salmonela é pouco sensível e o risco de falsos negativos é grande, já que aves clinicamente sadias podem

ser portadoras desta bactéria nas vísceras. Além disso, em aves com infecção subclínica, pode haver a excreção da bactéria de forma intermitente ou em pequeno número [7]. Por esta razão, torna-se essencial determinar a conveniência do uso de suabes cloacais de espécies domésticas e silvestres para caracterização da epidemiologia das salmonelas nestas populações e determinação de possíveis reservatórios e fontes de infecção desta zoonose.

CONCLUSÃO

O suabe cloacal pode ser utilizado com ferramenta na detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*). No entanto, essa utilização deve ser criteriosa uma vez que o risco de falsos negativos é elevado.

REFERÊNCIAS

- 1 **Abramra V. 2000.** El índice kappa. *Semergen*. 27: 247-249.
- 2 **Barrow P.A., Huggins M.B., Lovell M.A. & Simpson J.M. 1987.** Observations on the pathogenesis of experimental *Salmonella* Typhimurium infection in chickens. *Veterinary Science*. 42: 194-199.
- 3 **Bichler L.A., Nagaraja K.V. & Halvorson D.A. 1996.** *Salmonella* enteritidis in eggs, cloacal swab specimens, and internal organs of experimentally infected White Leghorn chickens. *American Journal of Veterinary Research*. 57: 489-495.
- 4 **BRASIL. 2003.** Secretaria de Defesa Agropecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa conjunta n. 78. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Edição número 215. Poder Executivo, Brasília/DF, 5 jan. 2003. Seção 1.
- 5 **Erdman M.M., Harris I.T., Torremorell M., Wilt V.M. & Harris D.L. 2005.** Occurrence of *Salmonella* serotype Typhimurium DT104 on a commercial swine farm before, during, and after depopulation and repopulation. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 227: 460-466.
- 6 **Fletcher R.H., Fletcher S.W. & Wagner E.H. 1996.** *Epidemiologia clínica: elementos essenciais*. 3. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 281 p.
- 7 **Gast R.K. 2003.** *Salmonella* infections. In: Saif Y.M. (Ed). *Diseases of poultry*. 11th edn. Iowa: Iowa State University Press, CD-Rom, pp.567-614.
- 8 **Higgins R. 1981.** Studies on the dissemination of *Salmonella* in nine broiler flocks. *Avian Diseases*. 26: 26-33.
- 9 **Hilton A.C., Willis R.J. & Hickie S.J. 2002.** Isolation of *Salmonella* from urban wild brown rats (*Rattus norvegicus*) in the West Midlands, UK. *International Journal of Environmental Health Research*. 12: 163-168.
- 10 **IUCN. 2006.** Guidelines for Re-introduction. Anex 6 to Minutes of Meeting of Council 1995. Disponível em: <<http://www.iucn.org/themes/ssc/publications/policy/reinte.htm>> Acessado em 25/10/ 2006.
- 11 **Jouy E., Proux K., Humbert F., Rose V., Lalande F., Houdayer C., Picault J.P. & Salvat G. 2005.** Evaluation of a French ELISA for the detection of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in flocks of laying and breeding hens. *Preventive Veterinary Medicine*. 71: 91-103.
- 12 **Lillehaug A., Monceyron J.C., Bergsjø B., Hofshagen M., Tharaldsen J., Nesse L.L. & Handeland K. 2005.** Screening of feral pigeon (*Columba livia*), mallard (*Anas platyrhynchos*) and graylag goose (*Anser anser*) populations for *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., avian influenza virus and avian paramyxovirus. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 46: 193-202.
- 13 **Mcevoy J.M., Nde C.W., Sherwood J.S. & Logue C.M. 2005.** An evaluation of sampling methods for the detection of *Escherichia coli* and *Salmonella* on turkey carcasses. *Journal of Food Protection*. 68: 34-39.
- 14 **Michael G.B., Simoneti R., Costa M. & Cardoso M. 2003.** Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. *Brazilian Journal of Microbiology*. 34: 138-142.
- 15 **Mikolajczyk A. & Radkowski M. 2002.** *Salmonella* spp. on chicken carcasses in processing plants in Poland. *Journal of Food Protection*. 65: 1475-1479.

- 16 Peek S.E., Hartmann F.A., Thomas C.B. & Nordlund K.V. 2004. Isolation of *Salmonella* spp from the environment of dairies without any history of clinical salmonellosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 225: 574-577.
- 17 Pereira R.A. 2007. Detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*): estudos bacteriológicos, sorológicos e reação em cadeia da polimerase. 125f. Porto Alegre, RS. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- 18 Reche M.P., Jiménez P.A., Alvarez F., Garcia de Los Rios J.E., Rojas A.M. & De Pedro P. 2003. Incidence of *Salmonellae* in captive and wild free-living raptorial birds in Central Spain. *Journal of Veterinary Medicine*. 50: 42-44.
- 19 Saelinger C.A., Lewbart G.A., Christian L.S. & Lemons C.L. 2006. Prevalence of *Salmonella* spp in cloacal, fecal, and gastrointestinal mucosal samples from wild North American turtles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 229: 266-258.
- 20 Sandberg M., Alvseike O., Nesbaskken T. & Skjerve E. 2003. The agreement in the isolation of *Salmonella enterica* IIIb 61:k: 1,5,(7) from rectal swabs, faecal samples and ileo-caecal lymph nodes from sheep. *Preventive Veterinary Medicine*. 60: 167-174.
- 21 Schoreder K., Wegscheider K. & Zeymer U. 2001. Extent of ST-segment deviation in a single electrocardiogram lead 90 min after thrombolysis as a predictor of medium-term mortality in acute myocardial infarction. *The Lancet*. 358: 1479-1486.
- 22 Thrusfield M. 2004. *Epidemiologia Veterinária*. 2.ed. São Paulo: Roca, 556 p.
- 23 Van Immerseel F., Pasmans F., De Buck J., Hradecka H., Wildemaue, C., Heyndrickx M., Ducatelle R. & Haesenbrouck F. 2004. Cats as a risk for transmission of antimicrobial drug-resistant *Salmonella*. *Emerging Infectious Diseases*. 10: 2169-2174.
- 24 Wantjtal A. & Silveira L.F. 2000. A soltura de aves contribui para a sua conservação? *Atualidades Ornitológicas*. 98: 7.
- 25 Weiss L.H.N., Nonig R.B., Cardoso M. & Costa M. 2002. Occurrence of *Salmonella* sp. in finishing pigs in Rio Grande do Sul, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 22: 104-108.