

Comunicação

[Communication]

Detecção sorológica e microbiológica de *Salmonella* spp. em emas (*Rhea americana*)

[Serological and microbiological detection of *Salmonella* spp. in Rheas (*Rhea americana*)]

R.A. Pereira¹, M. Macagnan¹, C.W. Canal², V. Schmidt^{2*}

¹Aluna de pós-graduação - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS

²Faculdade de Veterinária - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS

A ema (*Rhea americana*) é uma ratita nativa dos pampas, que tem sido criada em fazendas no sul do Brasil pela sua carne e penas, dentre outros derivados. O abate destas aves, ainda em pequena escala, está sujeito às normativas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) estabelece ações prioritárias centradas em atingir os principais estados produtores e as regiões de maior concentração avícola e visa controlar e/ou erradicar as principais doenças aviárias de transmissão vertical, como a salmonelose. Toda a criação de ave silvestre ou doméstica deve ser regulamentada e monitorada seguindo as diretrizes do PNSA (Brasil, 1994).

A realização de exames sorológicos de triagem para monitoria de *Salmonella* spp. na avicultura comercial é frequente, e o método de eleição para triagem de lotes infectados é a soroaglutinação rápida (SAR) com antígeno comercial corado (Brasil, 1994). Este identifica aves infectadas com sorovares Gallinarum, Pullorum e Enteritidis (Buchala *et al.*, 2006), sem, no entanto, identificar aves infectadas com *Salmonella* Typhimurium e outras salmonelas paratíficas. De acordo com o MAPA (Brasil, 1995), o diagnóstico de *Salmonella* spp. deve ser realizado por meio do método bacteriológico tradicional, com isolamento e identificação do agente.

Com o objetivo de identificar emas portadoras de *Salmonella* spp., utilizando-se sorologia

e isolamento bacteriano como métodos diagnósticos, 70 aves (pertencentes a 18 criadores filiados a uma cooperativa no sul do Brasil) foram aleatoriamente amostradas. De todas as aves, foram coletados sangue, para sorologia, e conteúdo cecal e fígado, para isolamento de *Salmonella*. De 26 aves, também foi realizado suabe cloacal. As coletas foram realizadas na linha de abate de um frigorífico com inspeção federal que, normalmente, abate suínos para o mercado interno e o externo.

O isolamento de *Salmonella* spp. foi realizado como descrito por Michael *et al.* (2003). As colônias confirmadas como *Salmonella* spp. foram mantidas congeladas (-20°C) em caldo infusão de cérebro e coração acrescido de 20% de glicerol, até serem remetidas para sorotipagem no Instituto Oswaldo Cruz-RJ.

Verificou-se isolamento de *Salmonella* spp. em 66 (94,2%) aves, sendo 60 (85,7%) em amostras de fígado, 42 (60%) em conteúdo cecal e 11 (42,3%) em suabe cloacal. Destas 66, havia a presença de *Salmonella* sp. concomitantemente no fígado e no conteúdo cecal em 41 aves (61,7%). Somente de sete aves (10,6%) foi possível isolar salmonela de todas as amostras (fígado, conteúdo cecal e suabe cloacal).

Das 114 linhagens de salmonela isoladas, identificaram-se 19 (16,6%) como *S. enterica* spp. *enterica* rugosa, 41 (35,9%) como *S. Typhimurium*, 53 (46,5%) como *S. Newport* e uma amostra (0,9%) como *S. Anatum*.

Recebido em 4 de abril de 2011

Aceito em 23 de maio de 2012

*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E.mail: veronica.schmidt@ufrgs.br

Isolamento de *S. Newport* foi relatado em raspados intestinais de emas no Uruguai (Giossa et al., 2004). *S. Typhimurium*, comum em várias espécies de aves, tem sido associada a quadros clínicos em animais jovens, estressados (imuno-suprimidos), sendo que aves em adultas podem ser portadoras, isto é, sem manifestação de sintomas (Verwoerd, 2000). Na África do Sul, várias espécies de *Salmonella* foram isoladas de amostras provenientes de avestruzes, estando, entre elas, *S. Anatum* (Huchezermyer, 2000)). Na Patagônia, *S. Anatum* foi isolada de ovos de ema (Reissig et al., 2001).

Verificou-se que as granjas, onde foram criadas estas emas, possuíam espécies domésticas como bovinos, galinhas caipiras, perus, ovinos, suínos, caprinos e equinos, as quais poderiam servir como fonte de contaminação destes sorovares.

As 70 aves foram testadas sorologicamente com antígeno comercial para *Salmonella enterica Pullorum* (Biovet®). Destas, 66 foram também testadas por macroaglutinação com uma cepa de *Salmonella Typhimurium* (SAR-ST), de acordo com o descrito por Pereira et al. (2010).

Verificou-se que os 70 soros examinados não reagiram frente ao antígeno comercial de *S. Pullorum*, semelhante ao anteriormente observado no Brasil (Flores et al., 2003) e nos EUA (Ley et al., 2000), embora *Salmonella* spp. já tenha sido isolada desta espécie neste país (Ley et al., 2001).

Por outro lado, quando se utilizou o sorovar Typhimurium como antígeno na SAR, 56,1% (37/66) das aves testadas foram positivas. Destas, isolou-se *Salmonella* de 35 indivíduos (Tab. 1).

Tabela 1. Sorovares de *Salmonella* isolados de *Rhea americana* ao abate e o número de aves sororreagentes na SAR-ST

Sorovar	Quantidade de indivíduos
Newport	17
Typhimurium	7
<i>S. enterica enterica rugosa</i>	3
Typhimurium e Newport	1
Typhimurium e <i>S. enterica enterica rugosa</i>	3
Newport e <i>S. enterica ssp. enterica rugosa</i>	4
Isolamento negativo	2
Total	37

SAR-ST: macroaglutinação com uma cepa de *Salmonella Typhimurium*

Comparando-se os resultados obtidos no isolamento de *Salmonella* spp. com os resultados da sorologia, pelo teste de McNemar, verificou-se que o número de aves com isolamento positivo é superior ao número de aves com

resposta sorológica, independentemente da amostra (indivíduo, fígado, conteúdo cecal ou suabe) utilizada para o isolamento bacteriano (Tab. 2).

Tabela 2. Número absoluto e relativo (%) de amostras com isolamento de *Salmonella* spp. e sororreagentes no SAR-ST, segundo a origem da amostra

Origem das amostras	Microbiológico padrão n/N (%)	Sorologia n/N (%)
Fígado	60/70 (85,7)	32/66 (48,5)
Conteúdo cecal	42/70 (60)	24/66 (36,4)
Suabe cloacal	11/26 (42,3)	6/26 (23)
Indivíduo*	66/70 (94,2)	37/66 (56,1)

* aves com, pelo menos, uma das amostras positivas.

SAR-ST: macroaglutinação com uma cepa de *Salmonella Typhimurium*

Detecção sorológica...

Verificou-se que 27 (43,5%) das aves positivas no microbiológico apresentaram resultado sorológico negativo. Desta forma, a concordância foi insignificante entre os resultados do isolamento bacteriano e a resposta sorológica ($k=0,016$), indicando que a infecção por salmonela nas aves ocorreu em período inferior ao necessário para que ocorresse a soroconversão, ou a SAR não foi capaz de detectar estes anticorpos, uma vez que o período necessário para a soroconversão, em aves e animais, varia de 10 dias a duas semanas após a infecção (Prakash *et al.*, 2005). Uma possibilidade é a de que as emas tenham se infectado com salmonela durante o transporte ou nas baias de espera, onde são, normalmente, alojados suínos neste abatedouro.

A presença de indivíduos com isolamento de salmonela no fígado e sem reatividade sorológica pode ser devido ao fato de que há casos em que ocorre apenas a contaminação, mas não a infecção do indivíduo (Gast, 2003). Outra possibilidade é de que estes resultados sejam decorrentes do mecanismo de eliminação de salmonelas, uma vez que a excreção de

salmonelas em aves infectadas pode ocorrer de modo intermitente (Barrow e Lowell, 1991). Além disso, a presença de *Salmonella* spp. em vísceras pode ser em razão do sequestro da bactéria por células do sistema retículo-endotelial e não da septicemia, uma vez que, após inoculação oral, *S. Typhimurium* foi encontrada em órgãos e no trato alimentar, ocorrendo, gradualmente, declínio no número de células e, conseqüentemente, isolamento apenas a partir do trato alimentar (Barrow *et al.*, 1987).

Os dados apresentados demonstraram que novos estudos devem ser realizados a fim de identificar possíveis fontes de infecção para estas aves. A detecção de *Salmonella* spp. pelos métodos bacteriológicos e sorológicos em amostras de emas é importante, pois as aves testadas não apresentavam manifestação clínica de salmonelose e podem servir como importante fonte de toxinfecção alimentar.

Palavras-chave: diagnóstico, soroaglutinação, método microbiológico padrão, *Salmonella*, *Rhea americana*

ABSTRACT

The fast agglutination screening test, using S. Typhimurium as the antigen, was compared with the standard bacterial method to identify rheas (Rhea americana) contaminated with Salmonella spp. at slaughter. Seventy birds were serologically tested for Salmonella enterica Pullorum using a commercial antigen. Of these, 66 were also submitted to a macroagglutination test, using a strain of Salmonella Typhimurium isolated from rheas. All birds did not react with the commercial S. Pullorum antigen, but 37 were positive for the FAST-ST. The isolation of Salmonella spp. was verified in 66 (94.2%) birds. 85.7% were found in liver samples, 60% in feces and 42.3% in cloacal swabs. A total of 16.6% were identified as being S. enterica enterica rugosa, 35.9% as S. Typhimurium, 46.5% as S. Newport and 0.9% as S. Anatum. An insignificant concordance between the results of bacterial isolation and the serological response was observed ($k=0.016$). The detection of Salmonella spp. by bacteriological and serological methods in samples from rheas must be deemed important, because birds without a clinical manifestation can be significant sources of salmonellas in food infections.

Keywords: diagnosis, serum-agglutination, standard microbiological technique, *Salmonella* spp., *Rhea americana*

REFERÊNCIAS

BARROW, P.A.; HUGGINS, M.B.; LOVELL, M.A. *et al.* Observations on the pathogenesis of experimental *Salmonella* Typhimurium infection in chickens. *Vet. Sci.*, v.42, p.194-199, 1987.

BARROW, P.A.; LOVELL, M.A. Experimental infection of egg-laying hens with *Salmonella* enteritidis phage type 4. *Avian Path.*, v.20, p.335-348, 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Programa nacional de sanidade avícola*. Atos Legais. Portaria 193. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília - DF, 19 set 1994. Seção 1.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Portaria 126, de 03 de novembro de 1995, que estabelece Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico das Salmoneloses Aviárias*. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acesso em: 01 mai. 2012.
- BUCHALA, F.G.; ISHIZUKA, M.M.; MATHIAS, L.A. et al. Ocorrência de reação sorológica contra *Salmonella Pullorum* em aves de “fundo de quintal” do Estado de São Paulo, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, v.73, p.1-5, 2006.
- FLORES, M.L.; BRACÉLOS, A.S.; SEGABINAZI, S.D. et al. Avaliação sorológica em emas (*Rhea americana*) para patologias aviárias selecionadas, no Estado do Rio Grande do Sul. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA: premio Lamas, 2003, Campinas. *Resumos...* Campinas: FACTA, 2003. supl. 5, p.143.
- GAST, R.K. Paratyphoid infections. In: CALNEK, B.W.; BARNES, H.J.; BEARD, C.W.; McDOUGALD, L.R.; SAIF, Y.M. *Diseases of Poultry*. 10.ed. Iowa: Iowa State University Press, 2003. p.97-121.
- GIOSSA, G.; TRENCHI, H.; CASTRO RAMOS, M. et al. Hallazgos bacteriológicos y parasitológicos en una fauna de ñandú (*Rhea americana*). *Veterinaria*, v.39, p.11-16, 2004.
- HUCHEZERMEYER, F.W. *Doenças de avestruzes e outras ratitas*. Jaboticabal: UNESP, 2000. 391p.
- LEY, E.C.; MORISHITA, T.Y.; HARR, B.S. et al. Serologic survey of slaughter-age ostriches (*Struthio camelus*) for antibodies to selected avian pathogens. *Avian Dis.*, v.44, p.989-992, 2000.
- LEY, E.C.; MORISHITA, T.Y.; BRISKER, T. et al. Prevalence of *Salmonella*, *Campylobacter*, and *Escherichia coli* on ostrich carcasses and the susceptibility of ostrich-origin *E. coli* isolates to various antibiotics. *Avian Dis.*, v.45, p.696-700, 2001.
- MICHAEL, G.B.; SIMONETI, R.; COSTA, M. et al. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. *Braz. J. Microbiol.* v.34, p.138-142, 2003.
- PEREIRA, R.A.; MACACNAN, M.; SCHWARZ, P. et al. Estabelecimento de um protocolo de soroaglutinação rápida (SAR) para detecção de anticorpos para *Salmonella Typhimurium* em suínos. *Cienc. Anim. Bras.*, v.11, p.677-682, 2010
- PRAKASH, B.; SURYANARAYANA, T.; MUNIYAPPA, L. et al. Evaluation of *Salmonella Gallinarum* outer membrane protein based enzyme linked immunosorbent assay for detecting antibodies in vaccinated and infected chickens. *Int. J. Poult. Sci.*, v.4, p.222-227, 2005.
- REISSIG, E.C.; ROBLES, C.A.; OLAECHEA, F.V. et al. Determinación de parámetros fisiológicos normales y principales problemas sanitarios de choiques criados em granjas. Informe preliminar. CR-394, INTA EEA, Bariloche. 2001.
- VERWOERD, D.J. Ostrich diseases. *Rev. Sci. Tech.*, v.19, p.638-661, 2000.