



Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia de idade na região metropolitana de Fortaleza-CE

Salmonella sp. in one day old broiler chickens in the Metropolitan Region of Fortaleza-CE, Brazil

Ana Paula Oliveira Moreira Gambiragi¹, Rosa Patrícia Ramos Salles¹, José Luiz de Aguiar Filho¹, Walber Feijó de Oliveira¹, William Cardoso Maciel¹, Josué Moura Romão² & Regis Siqueira de Castro Teixeira²

RESUMO

As salmoneloses são doenças provocadas por bactérias do gênero *Salmonella* e que causam até hoje grandes perdas econômicas na avicultura industrial. Por serem as aves jovens mais susceptíveis à infecção é muito importante a detecção de lotes infectados e, por esta razão, realizou-se a pesquisa de *Salmonella* sp. em pintos de um dia de idade provenientes de três empresas avícolas produtoras de frangos de corte localizadas na Região Metropolitana de Fortaleza-CE. Foram analisadas 300 amostras (sangue e swabs cloacais) através do teste de soroglutinação rápida em placa (SAR) e isolamento bacteriano utilizando-se os meios selenito-cistina, Rappaport-Vassiliadis, agar verde brilhante, agar MacConkey e agar triplice açúcar ferro, onde encontrou-se 100 amostras positivas e 200 amostras negativas no teste de SAR. Porém, quando foi realizado o isolamento bacteriano, obteve-se uma negatividade para 100 % amostras analisadas. O estudo mostrou que o teste de SAR não deve ser utilizado como única prova de triagem para pesquisar aves portadoras de *Salmonella* sp. devendo ser complementado com o isolamento bacteriano, sendo esta a recomendação oficial do PNSA e OIE. Foi observado também que os pintos analisados da Região Metropolitana de Fortaleza-CE detém de boa qualidade microbiológica quanto à presença de *Salmonella* sp.

Descritores: aves, *Salmonella* sp., Fortaleza, Brasil.

ABSTRACT

Salmonellosis is an infectious disease caused by *Salmonella* sp. responsible for vast economical losses in the Brazilian poultry industry. Since young birds are more susceptible to this infectious disease, the early detection of infected flocks is essential. In this study, the epidemiological impact of *Salmonella* sp. was evaluated in 1-day-old chicks from three broiler companies located in the Metropolitan Region of Fortaleza, Brazil. Four collections of twenty-five samples were examined from each company. Serology was performed using the rapid serum agglutination (RSA) and for bacterial isolation, the standard procedure for genus *Salmonella* was used the Selenite broth, Rappaport-Vassiliadis, Brilliant green agar, MacConkey agar and Triple Sugar Iron (TSI). The results showed 100 positive (33%) e 200 negative (66%) samples in the test of RSA. However, when the bacterial isolation was accomplished, negative results were obtained for the 300 analyzed samples. The study showed that the test of RSA should not be used as the only tool for diagnosis of *Salmonella* sp., so this test should be accompanied by bacterial isolation. The study has also shown that broilers in Metropolitan Region of Fortaleza-CE are, as far as *Salmonellae* sp. are concerned, in good health conditions for lodging and producing food.

Keywords: *Salmonella* sp., broiler chickens, Fortaleza, Brazil.

INTRODUÇÃO

As salmonelas são bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae e compreendem aproximadamente 2.500 sorovares capazes de provocar enfermidades em seres humanos e animais sendo mais freqüentemente encontrados em aves e perus [5].

Em 2000 foi divulgado que a partir do momento em que se detecta *Salmonella* sp. em uma granja avícola, o controle da infecção é muito difícil e de resultados imprecisos, ocorrendo disseminação entre as aves e para o meio ambiente, podendo aparecer na progênie em se tratando de plantéis de reprodutoras, sendo esta situação comprometedoras para o rendimento do plantel e qualidade do produto final; portanto, medidas gerais de controle devem ser realizadas, juntamente com uma identificação microbiológica de lotes portadores da infecção para que haja sucesso nos programas preventivos desta enfermidade [23].

Baseando-se nisto, a avaliação de aves no primeiro dia de vida é muito importante no sentido de se detectar lotes infectados, para que o combate a esta enfermidade seja imediato, evitando assim prejuízos econômicos nos quais a *Salmonella* sp. está envolvida. Assim, este trabalho teve como objetivo investigar sorológica e microbiologicamente a presença de *Salmonella* sp. em pintos de corte com um dia de idade, alojadas em granjas da Região Metropolitana de Fortaleza-CE.

MATERIAIS E MÉTODOS

Origem das aves estudadas

Foram estudadas amostras (sangue venoso e swab cloacal) provenientes de 300 pintos de corte com um dia de idade de unidades de criação industrial de três empresas avícolas localizadas na Região Metropolitana de Fortaleza - CE. Cada empresa avícola visitada tinha o seu próprio incubatório, de onde os pintinhos eram provenientes. Estes três incubatórios utilizavam sistemas de desinfecção semelhantes. As três empresas avícolas utilizavam sistema de criação para as reprodutoras com equipamentos similares, todas equipadas com bebedouros pendulares e com mesmo sistema de cortinas. Para acomodação dos pintinhos todos os equipamentos infantis eram semelhantes: comedouros tipo tubular infantil, bebedouros pendulares e campânulas a gás.

Foram realizadas quatro visitas nas três empresas avícolas para coleta das amostras.

Colheita das amostras

Realizou-se, por empresa, quatro visitas (falta colocar o intervalo das coletas) e, em cada visita, vinte e cinco amostras de sangue venoso e swabs cloacais foram coletadas para realização do teste de soroaglutinação rápida em placa (SAR) e isolamento bacteriano, respectivamente, perfazendo um total de 100 amostras por empresa.

Os pintos de um dia de idade foram levados ao laboratório BIOLAB S/C Ltda., onde se realizou swab cloacal para análise microbiológica; em seguida, foram levados ao LABEO onde o sangue venoso foi coletado para realização da análise sorológica.

Teste de SAR

O teste SAR foi realizado utilizando-se sangue total e estes foram testados com antígeno comercial para *Salmonella* sp., utilizando-se duas gotas de sangue para uma gota de antígeno, onde numa placa de Huddleson limpa foram misturados delicadamente até a completa homogeneização, observando-se assim a formação ou não de aglutinação por um período não superior a dois minutos, comparando a reação com controles positivo e negativo.

Isolamento e Identificação de *Salmonella* sp.

A metodologia de isolamento seguiu as recomendações de Wray e Davies [22].

Enriquecimento Seletivo

No laboratório realizou-se os swabs das cloacas das aves; em seguida, os mesmos foram colocados em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio de cultura caldo selenito-cistina. O cultivo foi adicionado de uma solução de novobiocina a 0,4 %, inibindo assim o crescimento de microrganismos competidores. A seguir, os tubos foram incubados na estufa a 37°C por 24h.

Plaqueamento

Com o auxílio de uma alça de sementeira, as amostras dos meios de enriquecimento foram semeadas em duas placas de meios seletivos, uma contendo

o ágar Verde Brilhante e outra contendo o ágar MacConkey, a seguir as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Decorrido este período, realizou-se a leitura das placas, para se observar o crescimento de colônias compatíveis com o gênero *Salmonella* e estas, quando positivas, foram submetidas à identificação bioquímica e característica antigênica.

Identificação Bioquímica

Todas as placas que apresentaram crescimento de colônias compatíveis com *Salmonella* sp. foram submetidas à identificação bioquímica onde um número médio de três a cinco colônias foram inoculadas em ágar TSI (Ferro Tríplice Açúcar) inclinado, e depois incubados a 37°C por 24 horas. Após este período, realizou-se a leitura dos tubos de ensaio, para se observar crescimento de colônias com características bioquímicas do gênero *Salmonella* e quando positivas foram submetidas à caracterização antigênica.

Caracterização Antigênica

As colônias com comportamento bioquímico do gênero *Salmonella* foram submetidas à prova de detecção de antígenos somáticos (O) e flagelares (H), mediante o uso de soros polivalentes anti-O e anti-H (Probac). A prova de detecção destes antígenos foi realizada mediante colheita de colônia (24h de cultivo), com auxílio de uma alça de platina e suspensão em água destilada estéril, depositada sobre uma lâmina de vidro e adição de igual volume do soro. Após homogeneização, a prova foi considerada positiva quando se evidenciou a presença de grumos.

RESULTADOS

Na Tabela 1 está disposto o achado referente ao teste de SAR nas empresas A, B e C. Das 300 amostras analisadas obteve-se 100 amostras positivas e 200 negativas. Foi estudado um número de 100 amos-

tras por empresa, sendo que na empresa A encontrou-se 45 amostras positivas e 55 negativas; na empresa B observou-se 34 amostras positivas e 66 negativas e na empresa C obteve-se 21 amostras positivas e 79 amostras negativas. As tentativas de isolamento de *Salmonella* sp. nas empresas A, B e C apresentaram sempre resultados negativos.

DISCUSSÃO

A presença de *Salmonella* sp. tem sido uma severa barreira sanitária restringindo o comércio de aves e seus produtos em todo o mundo, causando graves prejuízos econômicos [3].

Nos primeiros dias de vida, as aves são mais susceptíveis à infecção por *Salmonella* sp. Este é o período em que se deve aplicar as normas de biossegurança e controle da qualidade do alimento e criação. A partir daí, a facilidade de disseminação entre as aves através da cama, ração, água, vetores mecânicos e biológicos, inviabiliza o sucesso pleno de qualquer programa de controle. Numerosas estratégias podem ser adotadas, e várias delas deverão ser utilizadas nos diferentes pontos da cadeia produtiva avícola desde que se pretenda obter resultados consistentes no controle de *Salmonella* sp. nestas aves [21-24].

Relata-se que o teste de SAR teria eficácia para detecção de aves reagente não só para *Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum*, assim como para outros sorovares, inclusive *Salmonella Enteritidis* [20]. Nossos resultados são, no entanto, discordantes. O isolamento bacteriano revelou negatividade para *Salmonella* sp. em todas as amostras analisadas, que poderia ser explicada pela possibilidade de resultados falso-positivos em SAR, devido a reações cruzadas, que podem ser encontradas em aves infectadas por *Escherichia coli*, *Enterobacter* sp., *Proteus* sp. e *Lactobacillus*, que compatilham antígenos com *Salmonella* sp. [4].

Tabela 1. Teste de soroprecipitação rápida em placa para *Salmonella* sp. em aves de um dia de idade nas empresa A, B e C de criação avícola de frango de corte da Região Metropolitana de Fortaleza - CE.

Coletas	EMPRESA A		EMPRESA B		EMPRESA C	
	(Nº de aves positivas/testadas)	(Nº de aves positivas/testadas)	(Nº de aves positivas/testadas)	(Nº de aves positivas/testadas)	(Nº de aves positivas/testadas)	(Nº de aves positivas/testadas)
1ª	8/25		5/25		0/25	
2ª	15/25		10/25		3/25	
3ª	9/25		3/25		10/25	
4ª	13/25		16/25		8/25	
Total	45/100		34/100		21/100	

As monitorias dos lotes não devem ser baseadas apenas nos exames sorológicos, especialmente SAR, pois conforme o apresentado, podem ocorrer falhas na detecção da infecção. Os programas de prevenção e monitoria adotados nas criações avícolas devem ser direcionados para o isolamento [4]. Outro pesquisador fez um estudo microbiológico em nove lotes de frangos e encontrou oito deles contaminados, enquanto que na Holanda foi mostrado que depois de surtos de *Salmonella* Enteritidis, todos os lotes de reprodutoras foram monitorados por exames bacteriológicos de fezes, uma vez que todos os métodos e testes de soroglutinação e ELISA não se mostraram suficientemente sensíveis ou específicos para detectar infecção por *Salmonella* Enteritidis [9].

Nesta pesquisa, preferiu-se utilizar o teste de SAR e como exame complementar utilizou-se o isolamento bacteriano e para tal, a coleta foi realizada através de swabs cloacais como meio de obtenção do material a ser analisado, em vez de swab de arrasto a fim de se eliminar qualquer variante que pudesse influenciar tal resultado. Fezes frescas são melhores indicadores e espécimes mais confiáveis que o swab cloacal [10]; já outros autores citam em seus estudos o swab cloacal como melhor indicador na ave viva para isolamento bacteriano [15].

Das 300 amostras examinadas, nenhuma delas estava contaminada por *Salmonella* sp. Em contraste com o percentual de isolamento de 0% encontrado neste estudo, já os resultados de outros pesquisadores, sendo que um encontrou 77,13% quando analisou amostras coletadas de caixas de transportes de aves de um dia de idade de empresas localizadas em São Paulo [25] e outro analisando amostras de fezes em quatro empresas localizadas na região de São José do Vale do Rio Preto - RJ, encontrou somente três amostras contaminadas por *Salmonella* Enteritidis [19]. Resultados de outros pesquisadores nos Estados Unidos, foi um percentual de 40% das amostras de mecônios contaminadas por *Salmonella* sp. do grupo paratifóide [22] enquanto que em três incubatórios encontrou-se 33,3% das amostras contaminadas por *Salmonella* Enteritidis [17]. Swabs de gazes de amostras de três incubatórios de reprodutoras foram analisadas e encontraram 75,4% contaminadas [6] já em outro estudo analisaram swabs de gazes dos mesmos incubatórios e encontraram 11% destes contaminados com *Salmonella* sp. [7].

O não-isolamento de *Salmonella* sp. nas aves analisadas pode ser atribuído a diversos fatores. Entre eles, as boas condições higiênico-sanitárias dos incubatórios, ou seja, ao maior controle desta infecção nos incubatórios e nas granjas no momento de recebimento das aves.

O resultado encontrado no presente trabalho demonstra a importância de avaliar as aves nos primeiros dias de vida, devido seu controle ser mais fácil nesta fase. Uma avaliação das aves no primeiro dia de vida torna-se importante no sentido de detectar a transmissão vertical e as condições higiênico-sanitárias das unidades de criação, pois uma contaminação nesta fase pode resultar na produção de aves ou ovos contaminados por *Salmonella* sp. Aves provenientes de ovos infectados são capazes de iniciar a disseminação da bactéria ainda no incubatório [13,17]. Apesar de ter se encontrado negatividade em todas as amostras analisadas, esta avaliação deve ser contínua já que partindo do princípio de que a disseminação da infecção num plantel pode ocorrer de forma muito rápida causando grandes prejuízos nas propriedades avícolas.

CONCLUSÕES

Considerando-se ter sido usada metodologia em acordo com as normas oficiais para o isolamento de *Salmonella* sp. [23], acredita-se que a informação, embora instantânea, diz sobre o alto padrão de qualidade dos plantéis de frangos de corte da Região Metropolitana de Fortaleza, é confiável. Os resultados encontrados no teste de SAR não foram compatíveis com aqueles observados no isolamento bacteriano, mostrando assim, a necessidade da realização de exames sorológicos complementares mais sensíveis e específicos para *Salmonella* sp., como por exemplo, ELISA. De acordo com os resultados obtidos no isolamento bacteriano, os pintos com um dia de idade proveniente de empresas produtoras de frango de corte da Região Metropolitana de Fortaleza-CE, encontra-se em boas condições para alojamento, não oferecendo perigo nesta fase para outras aves que estão sendo alojadas neste momento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pelo apoio financeiro e ao BIOLAB por permitir o uso de suas instalações.

REFERÊNCIAS

- 1 **Bailey J. S. 2000.** Controle da Salmonella em incubatório. In: *Conferência Apinco de Ciências e Tecnologia Avícola* (Campinas, Brasil). pp. 31-39.
- 2 **Bailey J.S., Cox N.A. & Berrang M.E. 1994.** Hatchery-acquired Salmonellae in broiler chickens. *Poultry Science*. 73: 1153-1157.
- 3 **Berchieri Jr.A. & Barrow P.A. 1995.** Patologia e métodos de diagnósticos. In: *Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícola* (Curitiba, Brasil). pp. 1-5.
- 4 **Bergqvist E., Rosende S. & Bauer R. 1973.** Factores que pueden alterar una prueba de hemoaglutinacion en el diagnostico de Pullorosis. *Agricultura Técnica*. 33: 204-208.
- 5 **Bezerra R. 1995.** Recuperação e pesquisa de *Salmonella* spp e detecção de anticorpos em ovos comerciais de galinha *Gallus gallus* (Linnaeus, 1758). 59f. São Paulo, SP. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada e Zoonoses) - Universidade de São Paulo.
- 6 **Cox N.A., Bailey J.S. & Berrang M.E. 1990.** Presence and impact of *Salmonella* contamination in commercial broiler hatcheries. *Poultry Science*. 69:1606-1609.
- 7 **Cox N.A., Bailey J.S. & Berrang M.E. 1991.** Extent of Salmonellae contamination in breeder hatcheries. *Poultry Science*. 70: 416-418.
- 8 **Gordon R.F. & Turkey J.F. 1965.** The epizootiology of *Salmonella menston* infection of fowls and effect of feeding poultry food artificially infected with *Salmonella*. *Poultry Science*. 6: 251-264.
- 9 **Goren E. 1993.** Eliminação do Estado Portador de *Salmonella* Enteritidis mediante tratamento com enrofloxaciná seguindo aplicação de microflora intestinal. *Avicultura Industrial*. 10: 23.
- 10 **Higgins R. 1981.** Studies on the dissemination of *Salmonella* in nine broiler flocks. *Avian Diseases*. 26: 26-33.
- 11 **Hinton M. 1988.** *Salmonella* infection in chicks following the consumption of artificially contaminated feed. *Epidemiology and Infection*. 100: 247-256.
- 12 **Kampelmacher E.H. 1987.** Poultry disease and public health. *British Poultry Science*. 28:3-13.
- 13 **Lister S.A. 1988.** *Salmonella* Enteritidis infection in broiler and broiler breeders. *Veterinary Record*. 123: 350.
- 14 **Nagaraja K.V., Pomeroy B.S. & Williams J.E. 1991.** Paratyphoid infections. In: Calnek B. W. (Ed). *Diseases of Poultry*, 9th edn., Iowa: State University Press, pp. 99-129.
- 15 **Nascimento V.P. 1996.** Salmoneloses paratíficas: Uma revisão e situação atual. In: *Simpósio Técnico de Produção de Ovos - APA* (São Paulo, Brasil). pp. 93-116.
- 16 **O'Brien J.D.P. 1988.** *Salmonella* Enteritidis infection in broiler chickens. *Veterinary Record*. 122: 214.
- 17 **Pereira V.L.A. 1996.** Presença de Salmonella em frangos de corte aparentemente saudáveis em unidades de criação industrial na região de São José do Vale do Rio Preto-RJ. 76f. Rio de Janeiro, RJ. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária - Ornitopatologia) - Universidade Federal Fluminense.
- 18 **Snoeyenbos G.H. 1981.** Novas técnicas para controle de salmonelas ao nível de granjas. In: *Produção e Qualidade de Pintos de um dia*. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. 36: 353-362.
- 19 **Snoeyenbos G.H., Smyser C. F. & Van Roekel H. 1969.** Salmonella infections of ovary and peritoneum of chickens. *Avian Diseases*. 13: 668-670.
- 20 **Tizard I.R. 1998.** *Imunologia Veterinária: uma introdução*. 5 ed. São Paulo: Rocca, 544 p.
- 21 **Williams J.E. & Dillard L.H. 1968.** Penetration of chicken egg shells by members of the Arizona group. *Avian Diseases*. 12: 645-649.
- 22 **Wray C. & Davies R. H. 1994.** *Guideline on Detection and Monitoring of Salmonella infected Poultry Flocks with particular reference to Salmonella Enteritidis*. Graz: WHO, pp. 8-17.
- 23 **Wray C. & Davies R. H. 2000.** Control ambiental de Salmonella. *Avicultura Profissional*. 18: 18-21.
- 24 **Zancan F.T., Berchieri Jr. A., Fernandes S.A. & Gama N.M.S.Q. 2000.** Salmonella investigation in transport boxes of day-old birds. *Brazilian Journal of Microbiology*. 31: 230-232.

