

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DETECÇÃO DE *Salmonella* sp. EM EMAS (*Rhea americana*): ESTUDOS
BACTERIOLÓGICOS, SOROLÓGICOS E REACÇÃO EM CADEIA DA
POLIMERASE

Autora: ROSECLER ALVES PEREIRA

Tese apresentada como requisito para a obtenção do grau
Doutor em Ciências Veterinárias na área de Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Cláudio Wageck Canal

Co-orientador: Verônica Schmidt

PORTO ALEGRE

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

FOLHA DE APROVAÇÃO DA TESE

ROSECLER ALVES PEREIRA

DETECÇÃO DE *Salmonella* sp. EM EMAS (*Rhea americana*): ESTUDOS
BACTERIOLÓGICOS, SOROLÓGICOS E REACÇÃO EM CADEIA DA
POLIMERASE

Aprovada em: 28/02/2007

APROVADO POR:

Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal

Profa. Dra. Andréa Troller Pinto

Profa. Dra. Marisa Cardoso

Prof. Dr. Ângelo Berchieri Jr.

Prof. Dr. Antônio José Piantino Ferreira

*Ao meu marido Fabiano, ao meu filho Caio,
aos meus pais Gladis e Nilton (in memoriam),
pelo apoio, carinho e compreensão.*

“Temos nosso próprio tempo”

Renato Russo (1960-1996)

AGRADECIMENTOS

É na adversidade que vemos quem realmente são nossos amigos, e sou uma pessoa abençoada por poder afirmar que possuo vários. O meu muito obrigado vai para todos aqueles que me deram apoio nesta jornada;

A minha amiga e co-orientadora Verônica Schmidt pela amizade, conselhos e ajuda quando eu achava que não havia “luz no fim do túnel”;

Ao meu orientador Prof. Cláudio Wageck Canal, pela orientação e confiança depositada;

A todos os colegas e professores do setor de Medicina Preventiva Veterinária, pela amizade, orientação e ajuda;

Ao PPGCV, em especial aos professores José Luiz Rodrigues e André da Silva Caríssimi e as secretárias Vera Luíza Saraiva da Rocha e Jociane Oliveira.

A Cooperativa Emas do Brasil, em especial a sra. Ireny de Almeida, ao sr. Jacir Dalla Vechia e o sr. Fábio Augusto dos Santos.

As médicas veterinárias do Laboratório Porto Belo, Maria Teresa Poittevin Gilmet e Ana Maria Paiva Oliveira pelo apoio e realização de sorologia.

E a todos que de alguma forma contribuíram pela realização deste trabalho, meu muito obrigado!

RESUMO

A ema (*Rhea americana*) é uma ave silvestre que habita o sudeste da América do Sul e tem sido criada em fazendas pela sua carne e penas. O comércio de carne de emas só é permitido de animais provenientes de criadouros comerciais regularizados junto ao IBAMA e abatido em frigoríficos legalizados. A presente tese teve como objetivo a pesquisa de *Salmonella* sp. em materiais oriundos de emas abatidas no Rio Grande do Sul. Coletaram-se um total de 70 aves aleatoriamente dentro de seis lotes distintos respeitando um mínimo de 10% do lote, no período de setembro a outubro de 2004. De todas as aves eram amostrados o conteúdo cecal e fígado para a detecção de *Salmonella*. De 26 aves, coletaram-se, ainda, suabe cloacal. Além disso, sangue de todas as 70 aves para exames sorológicos. Foram realizados para a pesquisa de *Salmonella* sp. exames bacteriológicos, de reação em cadeia da polimerase e sorológicos. Os resultados foram apresentados em cinco trabalhos distintos. No primeiro, se preconizou a padronização da técnica de sorologia rápida em soro de suíno utilizando-se uma amostra de *S. Typhimurium* isolada de ema, para a posterior utilização desta técnica nos soros coletados neste experimento. Foram testadas 60 amostras de soro suíno, sendo 30 sororreagentes e 30 não-reagentes no teste padrão de ELISA. Com o soro não diluído, determinou-se que a SAR exibiu sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo iguais a 96,7%, demonstrando que a soroaglutinação rápida, usando como antígeno *Salmonella* Typhimurium, é um teste de triagem eficaz para a detecção de anticorpos contra este patógeno em soro de suínos, apresentando alta sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo. O segundo trabalho teve como objetivo identificar animais portadores de *Salmonella* sp. a partir de amostras de fígado, conteúdo cecal e suabe

cloacal de emas (*Rhea americana*) ao abate e comparar o método bacteriológico padrão (MBP) com a soroaglutinação rápida utilizando *S. Typhimurium* como antígeno. Verificou-se isolamento de *Salmonella* sp. 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. Das 114 linhagens de salmonelas isoladas, identificaram-se 19 (16,6%) como *S. enterica enterica* rugosa, 41 (35,9%) como *S. Typhimurium*, 53 (46,5%) como *S. Newport* e uma amostra (0,9%) como *S. Anatum*. O terceiro trabalho relatou a detecção de *Salmonella* Anatum em uma amostra de fígado de ema. O quarto comparou o método bacteriológico para isolamento de *Salmonella* sp. e a reação em cadeia da polimerase. Os resultados obtidos demonstraram que a PCR detectou *Salmonella* sp. em um maior número de amostras provenientes de emas (*Rhea americana*) do que o MBP, concordando com resultados encontrados em outras espécies. Finalmente, no quinto estudo foi avaliada a resistência a antimicrobianos de 64 amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas. Observou-se resistência contra sulfonamida (73,44%), ácido nalidíxico (1,56%) e cefaclor (1,56%). Salienta-se o ineditismo dos trabalhos apresentados devido à pouca bibliografia na área de sanidade da produção de emas.

ABSTRACT

Greater Rhea (*Rhea americana*) is a southern South American native wild bird, which is bred in captivity for its feathers and meat. Commercialization of the Greater Rhea's meat is only allowed of animals deriving from commercial breeders who are regulated by IBAMA and slaughtered at legalized slaughterhouses. This thesis aims to research the *Salmonella* sp. presence in greater rhea samples in the Rio Grande Do Sul. We randomly collected 70 birds of 6 different flocks, respecting a minimum of 10% of the flock, in the period from September to October of 2004. All birds had liver and cecal material collected to *Salmonella* detection. Of 26 birds we collected cloacal swab. Moreover, we collected blood samples of 70 birds to serological exams. Bacteriological, serological and polymerase chain reaction (PCR) exams are made to research *Salmonella* sp. the results are presented in five different papers. At first paper, we standardize a RA test to detect anti-*Salmonella* antibodies from serum. We tested 60 samples of swine serum which were previously shown to be positive (30) and negative (30) to *S. Typhimurium* when tested with ELISA. The results show that the RA had sensitivity, specificity, predictive positive value and predictive negative value equal to 96.7% when used with non-diluted serum. Thus, this test can be applied to detect antibodies against *S. Typhimurium* in serum. The 2th paper, aims to identify *Salmonella's* reservoirs animals, using Greater Rhea (*Rhea americana*) liver samples, cecal material and cloacal swab, collected at slaughterhouse and to compare the rapid serum-agglutination method using *S. Typhimurium* antigen and the microbiological standard method (MSM). We detected *Salmonella* sp. at 66 (94.2%) birds, of this 60 (85.7%) in the liver, 42 (605) in the material cecal and 11 (42.3%) in the cloacal swab.

Of the 114 *Salmonella* strains, we identify 19 (16.6%) to *S. enterica enterica* rough, 41 (35.9%) to *S. Typhimurium*, 53 (46.5%) to *S. Newport* e one sample (0.9%) to *S. Anatum*. All birds were serum non-reactives at RSA, but 37 were serum reactives at RSA-ST. The 3th paper reported the *Salmonella* Anatum detection in the greater rhea liver. The 4th paper, aims to compare a polymerase chain reaction (PCR) protocol to a standard microbiological technique (SMT) in the generic detection of *Salmonella* in liver, cecal material and cloacal swab of Greater Rheas samples. The present report demonstrates that the PCR technique can detect a higher number of *Salmonella* sp. positive samples in Greater Rhea when compared to the SMT, which agrees with previous results from other species. Finally, the 5th paper shows the resistance pattern of *Salmonella* sp. colonies. *Salmonella-like* colonies were serologically typed. We observed resistance against sulfonamide (73.4%), nalidixic acid (1.56%) and cefaclor (1.56%). As far we concerned there are no other thesis in the same subject.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Baia de Espera	32
Figura 2 – Cochos de Alimentação	33
Figura 3 – Incubadora	33
Figura 4 - Piquetes ao Ar Livre	34
Figura 5 – Galpão	34
Figura 6 - Curva Roc da técnica de soroprecipitação rápida para identificação de resposta imune de soros suínos, utilizando <i>Salmonella</i> Typhimurium como antígeno.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição em lotes das aves coletadas, nos dois abates, em setembro e outubro de 2004	31
Tabela 2 – Tabela de contingência comparando os resultados da Soroaglutinação Rápida (SAR) com o ELISA em soros não diluídos de suínos, utilizando <i>Salmonella</i> Typhimurium como antígeno.....	43
Tabela 3 – Tabela de contingência comparando os resultados do ELISA com os da Soroaglutinação Rápida (SAR) em soros sanguíneos diluídos (1:10) de suínos, utilizando <i>Salmonella</i> Typhimurium com antígeno.....	43
Tabela 4 – Sorovares de <i>Salmonella</i> isolados de aves sororeagentes na soroaglutinação rápida rápida em placa	61
Tabela 5 – Tabela comparando os resultados positivos do Isolamento para <i>Salmonella</i> com os da SAR-ST.....	62
Tabela 6 – Avaliação da soroaglutinação rápida utilizando o sorovar Typhimurium como antígeno como método diagnóstico na infecção por salmonelas em emas (<i>Rhea americana</i>), utilizando o isolamento bacteriano como método padrão, segundo o local de isolamento.....	63
Tabela 7 – Tabela de contingência comparando os resultados do Método Bacteriológico Padrão (MBP) com os da reação em cadeia pela polimerase (PCR) para detecção de <i>Salmonella</i> sp. em emas (<i>Rhea americana</i>), tomando o indivíduo como referência.....	77
Tabela 8 – Percentual de amostras de emas (<i>Rhea americana</i>) positivas para <i>Salmonella</i> sp. segundo o método utilizado (MBP e PCR) e o tipo de amostra.....	78

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	14
CAPÍTULO 2 - REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Rheacultura	18
2.2 Programa Nacional de Sanidade Avícola	19
2.3 Salmoneloses	19
2.3.1 Salmoneloses Aviárias	21
2.3.2 Detecção de <i>Salmonella</i> sp. em aves silvestres	24
2.3.2.1 <i>S. Newport</i>	27
2.3.2.2 <i>S. Typhimurium</i>	28
2.3.2.3 <i>S. Anatum</i>	29
CAPÍTULO 3 - MATERIAS E MÉTODOS	30
3.1 Amostras	31
3.2 Isolamento bacteriano	35
3.3 Reação em cadeia da polimerase	35
3.4 Sorologia	35
CAPITULO 4 - Estabelecimento de um protocolo de Soroaglutinação Rápida (SAR) para detecção de anticorpos para <i>Salmonella</i> Typhimurium em suínos	37
CAPITULO 5 - Detecção de <i>Salmonella</i> sp. em emas (<i>Rhea americana</i>) através de sorologia e técnica microbiológica padrão	48
CAPITULO 6 - Detecção de <i>Salmonella</i> Anatum em ema (<i>Rhea americana</i>)	64
CAPÍTULO 7 - Detecção de <i>Salmonella</i> sp. em emas (<i>Rhea americana</i>): comparação entre a reação em cadeia da polimerase e método bacteriológico padrão	70
CAPÍTULO 8 - Perfil de Resistência a Antimicrobianos de amostras de <i>Salmonella</i> Typhimurium isoladas de emas (<i>Rhea americana</i>) em abatedouro, no Brasil	79
CAPÍTULO 9 - DISCUSSÃO GERAL	87

CAPITULO 10 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
ANEXO I - QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO	119
ANEXO II - <i>CURRICULUM VITAE</i> RESUMIDO	121
ANEXO III – TRABALHOS APROVADOS	125

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

No Brasil do século XXI, a produção primária vem sofrendo uma série de problemas econômicos o que tem levado o produtor a buscar, através da diversificação, sua sobrevivência. Entre as opções existentes, a criação de avestruzes, emus e emas apresentam-se como uma realidade de resultados comprovados em diversos continentes (SILVA, 2001).

A ema é uma ave silvestre brasileira, que produz carne e plumas de excelente qualidade, capaz de contribuir para viabilizar economicamente muitas propriedades rurais. Nosso país detém a maior população nativa dessa espécie, representando um patrimônio genético, um recurso faunístico a ser preservado e utilizado de forma racional (HOSKEN e SILVEIRA, 2003).

A ema pode ser hoje encarada como uma forma de pecuária eficiente, ambientalmente correta e sustentável. A partir do mesmo peso de reprodutores (uma vaca pesa o mesmo que 12 emas) a ema é capaz de produzir mais de 10 vezes a quantidade de carne vermelha que o rebanho tradicional de gado, apesar de consumir a mesma quantidade de pasto e ração (se compararmos uma vaca e 12 emas). Uma produção de carne desta magnitude pode literalmente mudar a maneira como nós, seres humanos, produzimos proteína animal no planeta (HOSKEN e SILVEIRA, 2003).

A criação de emas em cativeiro já é uma realidade para pequenos, médios e grandes proprietários rurais nos Estados Unidos, Canadá, Uruguai, Argentina e, agora também, no Brasil. No nosso país tomou impulso nos últimos cinco anos, principalmente nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul. Também há grandes criações na Paraíba, Bahia e Goiás entre outros estados.

A ema é identificada como uma ave silvestre, sendo assim, sua criação é controlada pelo IBAMA. Sua caça é proibida e a espécie está classificada como animal de baixo risco de extinção na lista vermelha do Comitê Internacional de Tráfico de Espécies Ameaçadas de Extinção (CITES, 2006). O comércio de carne de emas só é permitido de animais oriundos de criadouros comerciais regularizados junto ao IBAMA e abatido em frigoríficos legalizados com serviço de inspeção.

Em 1994 o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) foi elaborado por

um conselho técnico do Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. As ações prioritárias estão centradas em atingir os principais estados produtores e as regiões de maiores concentrações avícolas (principalmente estados da Região Sul do Brasil). O PNSA (1994) visa controlar e/ou erradicar as principais doenças aviárias de transmissão vertical como, por exemplo, as salmoneloses. Além disso, tem como objetivo prevenir a introdução de doenças exóticas nos plantéis avícolas, como a influenza aviária. Toda a criação de ave silvestre ou doméstica deve ser regulamentada e monitorada seguindo as diretrizes do PNSA. Assim, esta tese teve por objetivo pesquisar a presença de *Salmonella* sp. em lotes de emas abatidos no Rio Grande do Sul, através de exames sorológicos, bacteriológicos e de reação em cadeia pela polimerase (PCR).

CAPÍTULO 2

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Rheacultura

A ema (*Rhea americana*) é uma ave corredora, pertencente ao grupo das ratitas ao qual fazem parte o avestruz (*Struthio camelus*) e o emu (*Dromaius novaehollandiae*). Estas aves são incapazes de voar uma vez que não possuem quilha sobre o esterno e musculatura peitoral necessária para o voo (HUCHZERMEYER, 2000).

Segundo Silva (2001), embora denominada de avestruz sul-americano, o avestruz é da ordem *Struthioniformes* e a ema, *Rheiformes*. Embora possam ser encontradas cativas em vários zoológicos e criadouros do mundo, a ema é nativa das Américas, sendo considerada a maior ave deste continente. Além disso, chega a medir 1,80 m e pesar cerca de 60 kG quando adulto. Sua plumagem é predominante cinza e não há dimorfismo sexual (HOSKEN e SILVEIRA, 2003).

A criação comercial de ema é uma alternativa de diversificação e integração de sistemas produtivos dentro da propriedade, respeitando-se os conceitos de produção economicamente viável, ecologicamente sustentável e socialmente justa (geração de empregos) (MORATA et al., 2006). Além disso, oferece retorno do investimento, geralmente, do segundo ao quarto ano.

A exploração comercial desta espécie de ratita constitui uma atividade viável, devido à grande variedade de subprodutos gerados: carne, óleo, couro, ovos, penas, fígado, extrato de proteínas, dentre outros (MELLO, 1987; GIANNONI, 1996).

Os criadouros legalizados de ema se encontram em todas as regiões do país. Observa-se significativo aumento no número de registros de atividades relacionadas à ema junto ao IBAMA, ano após ano, desde a promulgação das Portarias n.ºs 117 e 118, de 1997. No ano de 1981 não existia registro, entretanto, em 2001 já computavam-se 200 registros, entre criadouros, indústrias, comerciantes, importadores e exportadores (MORATA et al., 2006).

O maior número de criações encontra-se na região sul. A Associação Brasileira de Criadores de Ema (ABRACE) pretende ampliar o número de criadores, para atingir o abate de 1000 emas/mês. Atualmente, aproximadamente 300 aves são abatidas quatro vezes ao ano.

Para obter sucesso na criação de emas é importante que o criador conte com respaldo técnico-científico nas áreas de nutrição, reprodução, genética, sanidade, ambiência, etologia e manejo, denominados fatores produtivos, os quais fornecem subsídios para melhorar os desempenhos reprodutivos e produtivos dos sistemas de criação (MORATA et al., 2006).

2.2 Programa Nacional de Sanidade Avícola

O PROGRAMA NACIONAL DE SANIDADE AVÍCOLA (PNSA), da Portaria Ministerial nº. 193 de 19 de setembro de 1994, do MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO normatiza as ações de acompanhamento sanitário, relacionadas ao setor avícola e a necessidade de estabelecimento de programas de cooperação entre as instituições públicas e privadas.

Em relação à ocorrência das principais doenças de notificação a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), o PNSA desenvolveu programas sanitários para controle da salmonelose, dentre outras (BRASIL, 1994).

Especificamente em relação às ratitas o PNSA preconiza o monitoramento de aves para as salmoneloses (*Salmonella* Gallinarum, *S. Pullorum*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*) através de coleta de fezes ou suabes cloacais para isolamento bacteriano ou reação em cadeia da polimerase (PCR). Para isso, 10% do efetivo por categoria de idade no lote devem ser controladas.

2.3 Salmoneloses

As bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família Enterobacteriaceae, abrangendo aproximadamente 3000 sorovares, caracterizados por reações bioquímicas e sorológicas. Taxonomicamente, a classificação mais recentemente proposta é a seguinte: gênero, espécie, subespécie e sorovar segundo o esquema de Kaufmann-White (POPOFF & LE MINOR, 1997). Seu emprego possibilita a diferenciação dos sorotipos predominantes em humanos, animais e ambiente, facilitando a identificação do modo de transmissão das salmonelas, permitindo a adoção de medidas específicas para sua prevenção e controle. Um exemplo de denominação seria *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorovar Enteritidis (GAST, 2003).

O gênero *Salmonella* contém duas espécies, *S. enterica* (subespécies: enterica,

salamae, arizonae, houtenae e indica) e *S. borgoni* (POPOFF & LE MINOR, 1997). Apresentam-se sob a forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, usualmente não-encapsulados, aeróbios ou anaeróbios facultativos, normalmente móveis, exceto *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* (DOYLE & CLIVER, 1990). Estudos posteriores feitos por Kauffmann dividiram-nas em subgêneros (I, II, III e IV) e Edwards & Ewing dividiram-nas em três espécies: *S. Choleraesuis*, *S. Typhi* e *S. Enteritidis*.

As salmonelas possuem, como principais características bioquímicas, a capacidade de redução de nitratos a nitritos, produção de gás a partir da glicose, utilização de citrato como única fonte de carbono, fermentação de dulcitol e inositol, produção de sulfeto de hidrogênio em ágar TSI, LIA e SIM e reações de descarboxilação de lisina, ornitina e arginina, usualmente positivas. As salmonelas não apresentam atividade ureásica e não fermentam lactose, sacarose, salicina, rafinose e inositol. Apresentam reação de indol e fenilalanina negativas (LE MINOR, 1994),

De acordo com Gálan et al. (1992), as salmonelas são parasitas intracelulares facultativos, podendo ser fagocitadas por macrófagos, não serem destruídas e ainda multiplicarem-se, o que de certa forma explicaria a resistência do microrganismo, refletindo uma tendência de cronificação das doenças provocadas por estas bactérias por meses ou até anos.

As salmonelas causadoras de diarreia invadem os tecidos epiteliais e sub-epiteliais do intestino delgado e grosso, se multiplicam na lâmina própria destes e induzem a secreção de fluidos (GAST, 2003). Estas bactérias produzem uma endotoxina, que induz a síntese de AMPc, prostaglandina e outros mediadores, afetando o transporte de fluídos eletrólitos através da mucosa. Os sintomas de infecção em humanos, causados pela ingestão de alimento contaminado por estes organismos, aparecem entre 12 e 48 horas, incluindo náuseas, vômitos e diarreias, sendo que 50% dos indivíduos afetados apresentam febre.

Doyle & Cliver (1990) citam o trato intestinal de humanos e outros animais como ambiente natural para salmonelas, sendo que alimentos de origem animal e água têm sido associados à transmissão do organismo. Conforme Varnan & Evans (1991), o grau de adaptabilidade ao hospedeiro pode afetar a patogenicidade, sendo que menos de 1% das salmonelas é específica para uma determinada espécie animal.

Muitos vertebrados podem ser infectados com *Salmonella sp.* Entretanto, a suscetibilidade do hospedeiro e o desenvolvimento do estado de portador variam

amplamente entre as espécies. Aves de vida livre podem ser portadoras subclínicas e servirem de reservatório para aviários. Além das aves, ratos e moscas também podem atuar na disseminação de *Salmonella* sp. Espécies de aves desprovidas de ceco ou que apresentam involução cecal, parecem ser mais suscetíveis à infecção por salmonelas do que aves com funcionamento completo do ceco, já que os microrganismos anaeróbios Gram-negativos presentes na flora cecal, podem funcionar como antagonistas naturais para *Salmonella* sp. A incidência de várias espécies de salmonela parece variar de acordo com a localização geográfica e do tipo de alimento consumido, particularmente com relação ao componente protéico da dieta. Aves e outros animais importados podem servir de reservatórios para espécies de salmonelas exóticas podendo causar surtos devastadores de salmoneloses (GERLACH, 1994).

Conforme Dorrestein (1997), uma ave ou um lote de aves podem infectar-se com *Salmonella* sp. através da ingestão de alimentos ou água contaminados, contato com portadores (não necessariamente da mesma espécie), ou por transmissão vertical. A ingestão oral constitui a via de infecção mais comum da salmonela, mas também ocorre transmissão aerógena a partir da poeira contaminada originária da excreta e das penas (RUPLEY, 1997). O curso da doença nas aves depende do número de microrganismos presentes, sorotipo, idade, espécie e condições do hospedeiro (MOHAN, 1983).

Sorovares adaptados ao homem, como *S. Sendai*, *S. Typhi* e *S. Paratyphi* (A e C), usualmente causam distúrbios no mesmo sem, no entanto, apresentar patogenicidade para os animais, enquanto sorovares como *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* afetam tanto animais quanto humanos, com graus variados de infecção gastrintestinal. Existem ainda sorovares altamente adaptados aos animais, como *S. Abortovis* (ovinos), *S. Choleraesuis* (suínos) e *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* (galinhas), que não produzem sintomatologia grave em humanos (GAST, 2003).

2.3.1 Salmoneloses Aviárias

As salmonelas contempladas no Programa Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 1994) são as seguintes: *S. Gallinarum*, *S. Pullorum*, *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*. Estas fazem parte do grupo de doenças de caráter agudo ou crônico, produzida por uma ou mais bactérias do gênero *Salmonella*, chamadas de salmoneloses aviárias. Sob aspecto clínico, as salmoneloses podem ser divididas em três formas de apresentação: pulrose, causada pela *S. Pullorum*; o tifo aviário, causado pela *S.*

Gallinarum; e as infecções paratifóides provocadas por um grupo de diversos sorovares de *Salmonella* (espécies móveis não adaptadas às aves), sendo estas também relacionadas com infecções de origem alimentar em humanos (SNOEYNBOS & WILLIAMS, 1991).

Gast (2003) define a Pulorose e o Tifo Aviário como doenças capazes de afetar as galinhas em qualquer idade. Dependendo da virulência da cepa e das condições e susceptibilidade do lote, os coeficientes de morbidade e mortalidade podem variar entre zero e 100%. A Pulorose ocorre predominantemente em aves jovens, de forma septicêmica aguda, podendo aparecer de modo crônico em aves adultas, enquanto o Tifo Aviário geralmente acomete aves adultas, com curso agudo ou crônico.

A disseminação da Pulorose ocorre principalmente por transmissão via transovariana, dita vertical, admitindo-se também penetração extragenital, via casca do ovo. No Tifo Aviário, a condição de transmissão mais freqüente é a horizontal e, embora a transmissão via ovo seja possível, não é unânime na literatura (NASCIMENTO et al., 1995; BERCHIERI JR., 2000)

O controle dos principais patógenos aviários de interesse da indústria, como *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* foi conseguido em muitos países através de medidas coordenadas de vigilância sanitária associadas a exames sorológicos e sacrifício compulsório das aves reagentes. No entanto, o Tifo Aviário e a Pulorose continuam entre os principais problemas da indústria avícola. Hofer et al. (1997), demonstraram que os sorovares Gallinarum e Pullorum ainda possuem grande importância na avicultura brasileira, e que, a circulação dos dois sorovares nunca deixou de existir nos trinta anos de observação (1962 a 1991) mostrando, com isso, uma situação enzoótica, tendo surtos epizoóticos freqüentes. Gast (2003) aponta a América Latina, como uma das áreas no mundo em que os surtos de pulorose e tifo aviário aumentaram, drasticamente.

Segundo Mores e Zanella (2006), a salmonelose é a segunda etiologia mais importante nas infecções alimentares em humanos e a *Salmonella* Typhimurium tem sido um dos principais sorotipo isolado (HOFER & REIS, 1994; WALL et al., 1994; DAVIES, et al., 1996; SÃO PAULO, 2005). Além disso, sorovares de *Salmonella* com importância em saúde pública, que ameaçam a aceitação de produtos de origem avícola por estarem relacionados a infecções alimentares em humanos, tais como *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* são de controle mais difícil, em função de sua epidemiologia complexa, que envolve excreção fecal intermitente, contaminação

ambiental e existência de muitos reservatórios da bactéria (NASCIMENTO et al., 1997; BERCHIERI JR., 2000).

Segundo Barrow & Duchet-Suchaux (1997), as salmonelas paratíficas estão distribuídas mundialmente, infectando principalmente aves com até duas semanas de idade e originando portadores assintomáticos quando acometem aves mais velhas. As aves adultas parecem ser mais resistentes devido a uma microbiota intestinal inibitória complexa e um sistema imune maduro, diferentemente das aves jovens, cujo intestino possui microbiota geralmente pouco diversificada. De acordo com os autores, as aves adultas têm o ingluvírio colonizado por *Lactobacillus*, mantendo um pH em torno de 4,0 a 5,0 o que previne o crescimento de *Salmonella* e *E. coli*, mas também pode provocar um aumento da resistência bacteriana a acidez. É possível que uma passagem pelo proventrículo selecione agentes com maior resistência ao pH. Já no íleo e intestino grosso, a tensão de oxigênio deve cair rapidamente para que a bactéria desenvolva-se anaerobicamente, uma vez que esta parte do intestino é povoada por um grande número de bactérias anaeróbicas, cuja presença inibe a multiplicação massiva de *Salmonella*.

Conforme Blaser & Newman (1982), a infecção provocada por exposição a microorganismos depende do número e da espécie de patógenos, do tipo de alimento envolvido e de fatores individuais, como a idade e o estado imunológico do hospedeiro. Quanto à dose infectante, os autores afirmam que muitas bactérias, mesmo que extremamente virulentas, são facilmente destruídas pelas defesas do hospedeiro. Com isso, o agente deve estar em número suficiente para ultrapassar as defesas locais, aderir às superfícies e multiplicar-se antes de causar doença.

Segundo Varnan & Evans (1991), infecções por *Salmonella* podem ser graves, principalmente em pessoas muito jovens, idosas ou imunodeprimidas, sendo consideradas como dose infectante para sadios, contagens bacterianas entre 10^5 e 10^7 unidades formadoras de colônia (UFC).

Nascimento & Silva (1994) consideram que um número pequeno de salmonelas já é suficiente como dose infectante para os humanos. Experimentalmente, constataram que apenas 17 organismos ou, dependendo das condições de infecção, apenas um organismo é suficiente para iniciar um processo de toxinfecção alimentar.

Segundo a Portaria nº 126 de 03/11/1995 da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que aprova as normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios para Diagnóstico da Púlorose e do Tifo Aviário, e a Portaria nº 08 de 23/01/1995 da Secretaria de Defesa Agropecuária do

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que estabelece os Métodos Analíticos de Carcaças de Aves e Pesquisa de *Salmonella*, o diagnóstico de *Salmonella sp.* deve ser realizado através do método bacteriológico tradicional, com isolamento e identificação do agente (UBA, 2006).

Segundo Blackburn (1993), a metodologia convencional segue passos básicos de pré-enriquecimento em caldo não-seletivo, enriquecimento seletivo, isolamento em meios sólidos seletivos e caracterização bioquímica e antigênica, possibilitando a identificação final da bactéria.

Os produtos destinados ao consumo humano devem estar livres de salmonelas, e para isto a portaria do MAPA recomenda a análise de 25g de amostra, na qual a aceitabilidade de presença de *Salmonella* é zero (UBA, 2006).

O enriquecimento não seletivo ou etapa de pré-enriquecimento tem por objetivo recuperar bactérias lesionadas para uma condição fisiológica estável (BAILEY et al., 1991), pois esta lesão pode comprometer a viabilidade do agente no cultivo. O MAPA recomenda este enriquecimento em água peptonada para análise de carcaças de aves (UBA, 2006), uma vez que a presença do agente nestes alimentos é considerada de risco potencial e, conseqüentemente, o alimento que o contém é impróprio para o consumo. O uso do enriquecimento não seletivo, em caráter opcional, em caldo cérebro coração também é recomendado (BHI).

Conforme Le Minor (1994), o enriquecimento seletivo é necessário para o isolamento a partir de amostras com flora bacteriana mista, como alimentos, órgãos, amostras ambientais e de matérias contendo fezes, tendo como função suprimir a multiplicação de outros microrganismos, facilitando a multiplicação da *Salmonella*.

2.3.2 Detecção de *Salmonella sp.* em aves silvestres

Informações sobre a incidência e distribuição dos sorovares de salmonelas na população de animais silvestres e domésticos são essenciais para relacionar os possíveis reservatórios que possam ser responsáveis pela transmissão dessas zoonoses (GAST, 2003). Vários sorovares de salmonelas paratíficas são responsáveis por infecções em aves silvestres. Aves jovens são usualmente os membros mais afetados, ocorrendo alta taxa de mortalidade. Aves sadias clinicamente podem ser portadoras, bem como aves infectadas que sobreviveram a um surto. Por isso aves destinadas para programas de soltura ou reintrodução devem ser testadas para a presença de salmonelas. Fontes

potenciais de infecção incluem depósitos de lixo, resíduos provenientes da avicultura e efluentes de esgotos não tratados (CUBAS, 1993). Além das aves, ratos e moscas também podem ser importantes na disseminação de *Salmonella sp.*

A incidência das várias espécies de salmonela parece variar de acordo com localização geográfica e o tipo de alimento consumido, particularmente com relação ao componente protéico da dieta. Aves e outros animais importados podem servir de reservatórios para espécies de salmonelas exóticas, podendo causar surtos devastadores de salmoneloses (GERLACH, 1994).

Dentre os sorovares isolados de aves silvestres, no Jardim Zoológico de Kano na Nigéria, foram encontrados *S. Gallinarum* no fígado de pavão e abutre, *S. Give* no intestino delgado de um papagaio cinza, *S. Apeyeme* no conteúdo intestinal de um flamingo e *S. Tilene* no intestino delgado de um pelicano (OKOH E ONAZI, 1980).

Segundo Wilson & Macdonald (1967), foram isoladas *S. Gallinarum* de várias espécies de aves silvestres na Inglaterra, em áreas onde ocorreram surtos de tifo aviário em galinhas. Estes autores também relatam o isolamento de *S. Pullorum* em aves que estavam em contato com criações de frango que apresentavam pulorose. Okoh & Onazi (1980) relatam que embora *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* sejam reconhecidamente importantes na determinação de doenças em aves domésticas, os índices de isolamento em aves silvestres são baixos. Sendo que, quando ocorre isolamento destes sorovares, os mesmos estão associados a surtos em criações de aves domésticas.

No Brasil, foram isolados de aves silvestres os sorovares *S. Enteritidis* (GARCIA & SCHÖNHOFEN, 1982) e *S. Bredeney* (VILELA et al, 2001). Um surto de salmonelose em aves marinhas, na Baía do Paranaguá, no Paraná, causou a morte de aproximadamente 500 aves de diferentes espécies. O sorovar predominantemente isolado foi *S. Enteritidis* e a provável causa da contaminação foram efluentes de esgoto. Os sinais clínicos observados nas aves foi desidratação, apatia, sonolência, inapetência, fraqueza, penas arrepiadas, tremores, hipertermia e diarreia aquosa negra. Os achados de necropsia incluíam opacidade conjuntival, baço congesto e friável, fígado congesto e aumentado de volume, nódulos necróticos aderidos ao pericárdio, pericardite, enterite hemorrágica com ulcerações e necrose nas camadas mucosa e submucosa (GARCIA E SCHÖNHOFEN, 1982).

Vilela et. al. (2001) relataram a presença do sorovar *S. Bredeney* em filhote de arara-azul (*Anodorhynchus hyacinthinus*) de vida livre, provenientes do pantanal do Mato Grosso do Sul.

Allgayer et. al. (2002a), através de um levantamento sorológico para a presença de anticorpos para *S. Pullorum* em 52 araras canindé (*Ara ararauna*) e 8 papagaios (*Amazona aestiva*) saudáveis provenientes de um Criadouro Comercial de Psitacídeos no Rio Grande do Sul, verificaram ausência de resposta imune. Estes mesmos autores compararam a Técnica Microbiológica Convencional (TMC) e a Reação em Cadeia Pela Polimerase (PCR) em conteúdo cloacal coletado por meio de suabe de 47 araras clinicamente sadias (*Ara ararauna*, *Ara chloroptera* e *Ara macao*), pertencentes ao plantel de um criadouro comercial, sendo que três aves foram positivas para *Salmonella* sp. (duas *Ara ararauna* e uma *Ara chloroptera*) pela PCR genérica e negativas na detecção específica de *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Pullorum* e *S. Gallinarum*. As amostras positivas na PCR foram submetidas à técnica microbiológica padrão, onde apresentaram resultado negativo. Estes autores demonstraram que a PCR foi mais sensível que a técnica microbiológica padrão na detecção de *Salmonella* sp. e que aves clinicamente sadias do gênero *Ara* podem estar infectadas por esta bactéria (ALLGAYER, et. al., 2002b).

As enterites bacterianas causadas por *Salmonella* em ratitas são comuns. (BRUNING & DOLENSK, 1986). *Salmonella* sp., *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* são os principais agentes infecciosos que ocasionam morte de filhotes de avestruzes com sinais de diarreia. More (1996) encontrou 11% de mortalidade de avestruzes jovens na Austrália devido à salmonelose. Nessas infecções, o fígado pode estar aumentado e mostrar múltiplos pontos de necrose.

S. Tilem e *S. Weltevreden* foram descritas como patógenos em avestruzes e emus (GYLSTORFF & GRIMM, 1987; SHAH & DHOLAKIA, 1987). Em filhote de avestruz já foi descrito isolamentos de *S. Azteca* (SHIVAPRASAD, 1993). Segundo Huchezermeyer (2000), na África do Sul, foram isoladas as seguintes espécies de *Salmonella* em amostras provenientes de avestruzes no ano de 1992: *S. Anatum*, *S. Brancaster*, *S. Escanaba*, *S. Tinda*, *S. Aarhus*, *S. Tallahassee* e *S. Reading*.

Casos naturais de infecção por *Salmonella* Pullorum nunca foram descritos em ratitas, porém a infecção experimental de emus de 3 a 6 meses de idade levou a soroconversão (TULLY & SHANE, 1993).

Hoszowsky & Wasyl (2002), isolaram na Bulgária de uma amostra proveniente de avestruz *Salmonella* Enteritidis. Ley et al. (2001) encontraram a presença de *Salmonella* sp. em uma carcaça de avestruz abatido em um frigorífico nos Estados Unidos, não foi possível identificar a cepa. Ley et al. (2000), examinando soros de

avestruzes abatidos nos Estados Unidos, não encontraram positividade para *S. Pullorum*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*. Flores et al. (2003), não encontraram soropositividade para *S. Pullorum* em amostras de emas no Rio Grande do Sul.

Verwoerd (2000) cita que *S. Pullorum* e *S. Gallinarum* nunca foram isoladas em avestruzes. Higgins (1981) isolou no Canadá a *Salmonella* GIVE de casos de mortalidade envolvendo um avestruz e outros animais.

Considerando a importância das salmonelas isoladas em emas no Rio Grande do Sul descreveremos a seguir os sorovares Newport, Typhimurium e Anatum.

2.3.2.1 *S. Newport*

A *Salmonella* Newport faz parte do grupo “C II” das salmonelas e é comumente isolada em surtos de humanos e animais (RANKIN et al., 2002).

Na Austrália esse sorovar foi isolado de um surto de infecção em humanos causado por ingestão de amendoim contaminado importado do Canadá e do Reino Unido (KIRK, et al., 2004).

Um surto de toxinfecção alimentar na França devido a ingestão de carne de equinos contaminadas foi descrito por Espié et al. (2005).

Ward et al. (2002) relataram um surto devido o consumo de salada verde, Gillespie (2004) de alface e Wegener et al. (1997) e Van Beneden et al. (1999) de broto de alfafa.

Nos Estados Unidos da América, a *S. Newport* foi referida como agente etiológico de vários casos de infecção. Horwitz et al. (1977) identificou esse sorovar em salada de batata. Sivapalasingam et al. (2003) relatou infecção através de mangas importadas do Brasil. Fontaine et al. (1978) e Spika et al (1987) a isolaram em hamburguers, Lyytikainen et al (2000) em presunto, Narain & Lofgren (1989) em carne suína, Heinitz et al. (2000) em peixes e frutos do mar e Anand et al. (1980) em carne de frango.

A *S. Newport* é frequentemente isolada em animais domésticos (MORSE et al., 1976; PRITCHARD & KRUSE, 1982; CLEGG et al., 1983; PACER et al., 1989; TRAUB-DARGATZ et al., 2000; RANKIN et al., 2002; D'ALTERIO et al, 2003; GUPTA et al., 2003) e silvestres (RECHE et al., 2003; ADESIYUN et al., 1998).

Em emas Giossa et al. (2004) isolaram *S. Newport* de raspados intestinais no Uruguai.

2.3.2.2 *S. Typhimurium*

Nas últimas décadas, a *Salmonella* sp. tem sido um dos principais agentes relacionados a surtos de toxinfecção alimentar em humanos (NADVORNY et al., 2000). Os alimentos de origem animal têm sido apontados como os veículos mais importantes para a salmonelose humana de origem alimentar (JACKSON et al., 1991). Segundo Mores e Zanella (2006), a salmonelose é a segunda etiologia mais importante nas infecções alimentares em humanos e a *Salmonella* Typhimurium tem sido um dos principais sorotipos isolado (HOFER & REIS, 1994; WALL et al., 1994; DAVIES, et al., 1996; SÃO PAULO, 2005; TAGUCHI et al., 2005; KIVI et al., 2005; ISAKBAEVA et al., 2005; TAKKINEN et al., 2005; DECHET et al., 2006). Este sorovar pertence ao sorogrupo B segundo o esquema de Kaufmann-White (POPOFF & LE MINOR, 1997).

Salmonella Typhimurium é a o sorovar mais isolado em pássaros selvagens e silvestres (CUBAS, 1993; CARPENTER & GENTZ, 1997). Todas as aves podem ser reservatórios de *S. Typhimurium* e as espécies mais comuns são galiformes e aquáticas (FLAMER, 1999).

Em um estudo realizado nos Estados Unidos, com cerca de 300 aves de estimação, foram isoladas *Salmonella* Typhimurium de 18 psitacídeos de diferentes espécies e *Salmonella* Stanleyville em uma ave (MOHAN, 1983).

No sudeste dos Estados Unidos, Howerth (1985) e Davidson et al. (1985) relataram o isolamento de *S. Typhimurium* em perus selvagens (*Meleagris gallopavo*). Selbitz (1989) relatou o isolamento de *S. Typhimurium* em 92 aves de espécies diferentes provenientes de diversos zoológicos da Alemanha.

Pennycott et al. (2002) relataram a detecção de *S. Typhimurium* de um pool de fezes de aves silvestres coletadas em uma floresta na Escócia. Estes mesmos autores identificaram a *S. Typhimurium* como causa de morte em passeriformes no Reino Unido (Pennycott et al., 1998). Em um estudo retrospectivo de 1995 a 2003 Pennycott et al. (2006) detectaram essa mesma bactéria em um total de 211 aves silvestres de diversas espécies.

Dentre os sorovares isolados de aves silvestres, no Jardim Zoológico de Kano na Nigéria, foram encontrados *S. Typhimurium* no fígado de três pombos (OKOH E ONAZI, 1980).

Segundo Cubas (1993), *S. Typhimurium* tem sido isolada de pingüins da Antártica e da Patagônia e de psitacídeos originários da América do Sul.

Salmonella Typhimurium tem sido recuperada de pardais mortos em várias ocasiões. Pode ser que os pardais estejam envolvidos em surtos de salmonelose em grandes criações de mandarins e lorís, pois nenhuma outra possibilidade de infecção foi encontrada (ABREY, 1993).

S. Typhimurium é comum em várias espécies de aves e causa mortalidade em avestruzes de até três meses de idade (MORE, 1996), mas raramente afeta aves de mais de seis meses ou aves no abatedouro (VERWOERD, 2000). No entanto Phalen (1995) detectou essa bactéria em um avestruz adulto com enterite.

2.3.2.3 *S. Anatum*

Salmonella Anatum tem aumentado a sua importância significativamente nos últimos anos devido a surtos ocorridos em lactentes na Europa (WEGENER et al., 1997; THRELFALL et al., 1998). Este sorovar pertence ao subgrupo E segundo o esquema de Kaufmann-White (POPOFF & LE MINOR, 1997).

Este sorovar já foi isolado de vários casos de salmonelose em humanos (CHIEH SUNG et al., 1949; BUTLER et al., 1968; ARGRAWAL, et al., 1970; PANHOTRA et al., 1979; WEGENER et al., 1997; THRELFALL et al., 1998; PEZZINO et al., 1998; GUITIERREZ-COGNO et al., 2000; KRAUSE et al., 2001).

S. Anatum é comumente isolada em equinos, bovinos, cães, gatos e aves domésticas (JONES, 2000). No Brasil, este microrganismo já foi isolado em carcaças de equídeos (HOFFER et al., 2000), carcaças e água em abatedouros de frangos (CORTEZ et al., 2006), em matéria-prima para rações para animais (HOFER & SILVA, 1998; SAENZ et al., 2001) e em ovos (BAÚ et al., 2001). Esta espécie foi isolada, ainda, em carcaças de suínos, em Portugal (VIEIRA-PINTO, 2006), equinos (HARTMAN et al., 1996) e suínos e ovinos, na Nova Zelândia (DAVIS & RUSSEL, 1960).

Segundo Huchezermeyer (2000), na África do Sul, foram isoladas várias espécies de *Salmonella* de amostras provenientes de avestruzes, estando entre elas a *S. Anatum*. Na Patagônia, *S. Anatum* foi isolada de ovos de ema (REISSIG et al., 2001).

CAPÍTULO 3
MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras

Nos meses de setembro e outubro de 2004 foram abatidas, em dois momentos distintos, 270 emas pertencentes a seis lotes (Tabela 1). O primeiro abate teve um total de 147 emas, distribuídas em dois lotes (115 e 28 aves). No segundo, foram sacrificadas 127 aves, distribuídas em quatro lotes distintos (22, 45, 7, 25 aves).

Tabela 1 – Distribuição em lotes das aves coletadas, nos dois abates, em setembro e outubro de 2004.

Lote	Número de aves abatidas	Número de aves coletadas	Mês/Ano
1	115	19	setembro/2004
2	28	7	setembro/2004
3	25	10	outubro/2004
4	73	20	outubro/2004
5	22	7	outubro/2004
6	7	7	outubro/2004
Total	270	70	outubro/2004

As aves eram provenientes de uma cooperativa do sul do país. Para determinação do tamanho da amostra, estimou-se a população em 500 a 3.000 aves, frequência esperada de 50%, erro aceitável de 40% e nível de confiança de 95%, utilizando o programa WinEpi 4.0. O tamanho de amostra calculado variou de 60 a 66 indivíduos, de acordo com o tamanho da população. Além disso, segundo normativa do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003) para pesquisa de *Salmonella* sp. deverá ser amostrado pelo menos 10% dos animais de cada lote.

Assim, coletaram-se um total de 70 aves, aleatoriamente, dentro de seis lotes distintos respeitando um mínimo de 10% do lote. De todas as aves se amostraram o conteúdo cecal e fígado para a detecção de *Salmonella*, e sangue para exames sorológicos. De 26 aves, coletaram-se, ainda, suabe cloacal para exames bacteriológicos e de reação em cadeia pela polimerase.

O frigorífico onde foram realizados os abates estava sob inspeção federal e normalmente abate suínos para o mercado interno e externo.

As emas foram transportadas em caminhões e colocadas em baia de espera (FIGURA 1). No segundo abate estas aves foram alocadas em uma baia conjunta para o abate e os lotes foram identificados por marcas de tinta de cores diferentes. O tempo de espera para o início do processamento variou de 12 a 24 horas. Não se tem a informação do manejo de desinfecção das baias de espera do frigorífico.



Figura 1 – Baia de espera

Para a caracterização do sistema produtivo das propriedades foram encaminhados questionários epidemiológicos por via postal a todos os criadores cooperados (ANEXO 1). Juntamente com o questionário havia um envelope selado e endereçado para retorno. De um total de 18 produtores, oito retornaram o questionário preenchido.

Todos os criadores produziam a ração administrada aos animais na própria propriedade (FIGURA 2). No entanto, em quatro propriedades as rações iniciais (até 4 meses) eram do tipo comercial para frangos de corte.

Segundo os proprietários as granjas possuíam outros tipos de criações como: bovinos, galinhas caipiras, perus, ovinos, suínos, caprinos e equinos.



Figura 2 – Cochos de alimentação



Figura 3 – Incubadora

Os ovos eram colocados em ninhos pelas fêmeas, retirados por tratadores, desinfetados e chocados em incubadoras (FIGURA 3). As emas eram criadas em piquetes fechados com telas e agrupadas por idade (FIGURA 4). Os filhotes ficavam em galpões cobertos a noite até os três meses de idade (FIGURA 5).



Figura 4 - Piquetes ao Ar Livre



Figura 5 – Galpão

A antibioticoterapia preventiva não é uma prática comum na rheacultura. No entanto, em caso de doenças bacterianas o uso de antibiótico como tetraciclina é freqüente (HOSKEN & SILVEIRA, 2003). Dos oito criadores que responderam ao questionário epidemiológico, cinco admitiram ter usado os antibióticos enrofloxacina e sulfamicina em casos de mortalidade. Dos outros tipos de medicamento utilizados podemos citar: complexos vitamínicos, vermífugos e probióticos.

3.2 Isolamento bacteriano

O isolamento de *Salmonella* sp. foi realizado como descrito por Michael et al. (2003). As colônias confirmadas como *Salmonella* sp. foram mantidas congeladas (-20°C) em Caldo Infusão Cérebro e Coração acrescido de 20% de glicerol, até serem remetidas para sorotipagem na Fundação Instituto Oswaldo Cruz - RJ.

3.3 Reação em cadeia da polimerase

Das 70 aves amostradas, a pesquisa de salmonelas pela reação de cadeia em polimerase (PCR) foi realizada em 69 indivíduos, sendo amostrados fígados e conteúdo cecal de 62 aves e 23 suabes cloacais.

A PCR-RV (*invA*) foi realizada como o descrito por Oliveira et al. (2002) se utilizando um “set” de pares de iniciadores específicos para do gene *invA* de *Salmonella* sp., 139 (GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA) e 141 (TCATCGCACCGTCAAAGGAACC).

3.4 Sorologia

Todas as 70 aves foram testadas sorologicamente com antígeno comercial para *Salmonella enterica* Pullorum (Biovet®). Destes soros, 66 foram testados para sorologia com uma cepa de *Salmonella* Typhimurium isolada de um dos fígados coletados.

A técnica de soroaglutinação rápida (SAR) foi adaptada da descrita por Canal et al. (2005). O antígeno utilizado foi feito utilizando-se uma cepa de *Salmonella* Typhimurium isolada de fígado de ema (*Rhea americana*) no Rio Grande do Sul e sorotipada pela Fiocruz-RJ que foi cultivada em TSA (Tryptic Soy Agar) por 24 horas. Após este período, com o auxílio de um suabe estéril, as colônias foram coletadas e

ressuspendidas em 2-3 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS). A suspensão foi homogeneizada e padronizada para a densidade do tubo 2 da escala de MacFarland. Após, o soro a ser testado foi diluído em PBS na proporção de 1:10. Misturaram-se 25 µL de suspensão bacteriana e 25 µL de soro não diluído ou 25 µL de soro diluído sobre uma placa de vidro, homogeneizando a mistura por cerca de um minuto. Decorrido este período, realizou-se a leitura indicando a amostra como positiva ou negativa pela presença ou ausência de aglutinação, respectivamente.

CAPITULO 4

Estabelecimento de um protocolo de Soroaglutinação Rápida (SAR) para detecção de anticorpos para *Salmonella* Typhimurium em suínos
Rapid Agglutination Test (RA) to *Salmonella* Typhimurium antibody detection in swine

Rosecler Alves Pereira^{1,2*}, Marisa Macagnan¹, Patrícia Schwarz¹, Verônica Schmidt³, Cláudio Wageck Canal⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 9090. CEP 91509-900 Porto Alegre/RS. E-mail: rose@rose.vet.br

²Laboratório MERCOLAB, Cascavel/PR

³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, UFRGS

⁴Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFRGS

* autor para correspondência

Trabalho submetido para a revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia UFMG – Belo Horizonte – Brasil.

**FUNDAÇÃO ESTUDO PESQUISA EM MEDICINA VETERINÁRIA
FEP MVZ EDITORA**

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

CNPJ: 16.629.388/0001-24 Insc. Municipal: 302856.001-3

Av. Antônio Carlos, 6627 - Caixa Postal 567 - 30123-970 – Belo Horizonte – MG

Fone: (31) 3499-2042 Fax: (31) 3499-2041

Http://journal.vet.ufmg.br E-mail: journal@vet.ufmg.br

Sr.(s): R.A. Pereira, M. Macagnan, P. Schwarz, V. Schmidt, C.W. Canal

Cumpre-nos informar-lhe(s) que o artigo:

Estabelecimento de um protocolo de Soroaglutinação Rápida (SAR) para detecção de anticorpos para Salmonella Typhimurium em suínos enviado para publicação nesta revista, será encaminhado para análise do Corpo Editorial.

REG.: 2301/07

Recebido em: 03/jan/2007

Atenciosamente,

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Estabelecimento de um protocolo de Soroaglutinação Rápida (SAR) para detecção de anticorpos para *Salmonella* Typhimurium em suínos

Rapid Agglutination Test (RA) to *Salmonella* Typhimurium antibody detection in swine

Rosecler Alves Pereira^{1,2*}, Marisa Macagnan¹, Patrícia Schwarz¹, Verônica Schmidt³, Cláudio Wageck Canal⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 9090. CEP 91509-900 Porto Alegre/RS. E-mail: rose@rose.vet.br

²Laboratório MERCOLAB, Cascavel/PR

³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, UFRGS

⁴Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, UFRGS

* autor para correspondência

Resumo

A *Salmonella* Typhimurium é um dos principais agentes isolados de casos de toxinfecção alimentar humana no Brasil. Os produtos de origem animal são as principais fontes de infecção e a carne suína e seus derivados são muito relevantes na sua manutenção e transmissão para o homem. A monitoria das salmoneloses na suinocultura é realizada com testes bacteriológicos e sorológicos, como o ELISA. No entanto, estes testes demandam tempo e possuem um custo elevado. A soroaglutinação rápida (SAR) é um teste rápido, pouco dispendioso e que pode ser realizado a campo. Com o intuito de padronizar um teste de SAR utilizando-se como antígeno uma amostra de *S. Typhimurium* isolada de ema (*Rhea americana*) foram testadas 60 amostras de soro suíno, sendo 30 sororreagentes e 30 não-reagentes frente ao ELISA padrão. Com o soro não diluído, determinou-se que a SAR exibiu sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo iguais a 96,7%, demonstrando que a soroaglutinação rápida, usando como antígeno *Salmonella* Typhimurium, é um teste de triagem eficaz para a detecção de anticorpos contra este patógeno em soro apresentando alta sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo.

Palavras-chaves: soroaglutinação rápida, *Salmonella* Typhimurium, suíno, anticorpo, diagnóstico, ratita.

Abstract

Salmonella Typhimurium is one of the most agent isolated from cases of human food poisoning in Brazil. Products from animal origin are the main sources of infection, and pork and processed meats are very important in transmitting these bacteria to humans. The screening for *Salmonella* in swine herds are carried out through bacteriological and serological tests, as the indirect ELISA. However, this test is time consuming and are expensive. The rapid agglutination test (RA) is a cheaper, fast and easy to perform test. Aiming to standardize a RA test to detect anti-*Salmonella* antibodies in swine sera, we tested 60 samples of porcine sera which were previously shown to be positive (30) and negative (30) to *S. Typhimurium* by the ELISA test. The results show that the RA had sensitivity, specificity, predictive positive value and predictive negative value equal to 96.7% when used with non-diluted serum. Thus, this test can be applied to detect antibodies against *S. Typhimurium* in pig serum.

Key-words: rapid agglutination test, *Salmonella* Typhimurium, pig, antibody, diagnosis, ratite.

Introdução

Nas últimas décadas, a *Salmonella* sp. tem sido um dos principais agentes relacionados a surtos de toxinfecção intestinal em humanos (Nadvorny et al., 2000). Os alimentos de origem animal têm sido apontados como os veículos mais importantes para a salmonelose humana de origem alimentar (Jackson et al., 1991). Segundo Mores e Zanella (2006), a salmonelose é a segunda etiologia mais importante nas infecções alimentares em humanos e a *Salmonella* Typhimurium tem sido um dos principais sorotipos isolados (Hofer e Reis, 1994; Wall et al., 1994; Davies, et al., 1996; São Paulo, 2005).

Recentemente houve um aumento no número de casos de salmonelose humana em decorrência do consumo de carne suína contaminada (Berends et al., 1998; Magnani et al., 2000). Sugere-se que isso ocorreu devido ao aumento na prevalência de *Salmonella* na produção, no abate e no processamento da carne desses animais (Borch et al., 1996; Swanenburg et al., 2001; Bessa et al., 2004).

Em um trabalho para determinar a prevalência de *Salmonella* isolada ao abate de suínos no Rio Grande do Sul, Bessa et al. (2004) encontraram como os sorovares mais prevalentes Typhimurium (24,3%), seguido por Agona (19,9%), Derby (13,2%) e Bredeney (12%). Este trabalho confirmou dados de outros países (Kampelmacher et al.

1963, Di Guardo et al., 1992, Käsbohrer et al., 1997, Ganter et al., 1998) e do Brasil (Peluffo et al., 1946; Zebral et al., 1974) onde a *Salmonella* Typhimurium foi a mais isolada de suínos sadios.

Devido ao aumento do consumo e da produção da carne suína deveria haver um maior controle sanitário em todas as etapas de produção, visando a diminuição do risco para a saúde pública. Por exemplo, Swanenburg et al. (2001) propuseram que o abate de animais provenientes de rebanhos livres separadamente de rebanhos sororreagentes ou infectados por *Salmonella* pode ser útil na redução do número de carcaças de suínos contaminadas após o abate. Para isto, vários métodos vêm sendo utilizados para o monitoramento de rebanhos, como isolamento do agente e técnicas sorológicas, como o ELISA indireto.

Teoricamente, qualquer técnica sorológica pode ser utilizada como teste de triagem. Entretanto, a escolha é feita em função de diferentes propriedades das mesmas, em favor daquelas que são simples, práticas, rápidas e econômicas (Toma et al., 1999). A maioria das técnicas não pode ser realizada a campo, decorrendo em maior tempo para a emissão de resultados, prejudicando a agilidade do processo de monitoria e conseqüentemente na tomada de decisões.

Na avicultura industrial, a soroaglutinação rápida é um teste de triagem utilizado no monitoramento de várias doenças, inclusive salmoneloses. Segundo Wray e Davies (1994), a soroaglutinação rápida é uma prova simples, prática e pouco dispendiosa. No entanto, sua prática não é comum na suinocultura e não há antígenos comerciais disponíveis para *S. Typhimurium* no mercado. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi a padronização de uma técnica de soroaglutinação rápida (SAR) para determinar a presença de anticorpos para *Salmonella* Typhimurium e outras salmonelas paratíficas em soro suíno.

Material e Métodos

Utilizaram-se 60 amostras de soros sanguíneos de suínos previamente testados pela técnica de ELISA (Kich et al., 2003) para a presença de anticorpos para *Salmonella* sp. Destas, 30 amostras eram provenientes de animais sororreagentes para salmonela e 30 de animais não reagentes.

A técnica de soroaglutinação rápida (SAR) foi adaptada da descrita por Canal et al. (2005). O antígeno utilizado foi feito utilizando-se uma cepa de *Salmonella* Typhimurium isolada de fígado de ema (*Rhea americana*) no Rio Grande do Sul e

sorotipada pela Fiocruz-RJ que foi cultivada em TSA (Tryptic Soy Agar) por 24 horas. Após este período, com o auxílio de um suabe estéril, as colônias foram coletadas e ressuspensas em 2-3 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS). A suspensão foi homogeneizada e padronizada para a densidade do tubo 2 da escala de MacFarland. Após, o soro a ser testado foi diluído em PBS na proporção de 1:10. Misturaram-se 25 µL de suspensão bacteriana e 25 µL de soro não diluído ou 25 µL de soro diluído sobre uma placa de vidro, homogeneizando a mistura por cerca de um minuto. Decorrido este período, realizou-se a leitura indicando a amostra como positiva ou negativa pela presença ou ausência de aglutinação, respectivamente.

A determinação da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo, índice kappa e a construção da curva ROC (Receiver Operator Characteristics) foram realizados utilizando o software SPSS for Windows, versão 12.0.2 (SPSS Inc., Chicago, 2004), tomando o teste ELISA como padrão. O índice kappa foi categorizado como sem concordância ($k < 0,00$) a quase perfeito ($0,81 < k < 1,0$) (Abraira, 2000).

Resultados e Discussão

As 60 amostras foram, inicialmente, testadas pela técnica de SAR utilizando-se o soro não diluído. Observou-se concordância quase perfeita entre os resultados obtidos por esta técnica e os resultados do teste de ELISA ($k = 0,933$), sendo que apenas duas amostras não apresentaram concordância de resultado entre os dois testes (Tab. 1).

Segundo Toma et al. (1999), um bom teste de triagem é aquele que fornece um máximo de resultados corretos e um mínimo de resultados falsos, ou seja, possui alta sensibilidade e especificidade. Os mesmos autores indicam que, ao suprimirem-se os resultados falsos negativos de um teste diagnóstico, aumenta-se consideravelmente o número de resultados falsos positivos e vice-versa. Nos testes de triagem com a finalidade de identificar animais infectados, seria preferível identificarem-se erroneamente animais sadios como doentes (falsos positivos) a manterem-se as fontes de infecção (falsos negativos) no rebanho, indicando a sensibilidade como propriedade desejável em técnicas diagnósticas de triagem.

Tomando-se o teste ELISA como padrão, determinou-se que a SAR, nestas condições, possui sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo iguais a 96,7%. Estes resultados indicam um pequeno número tanto de resultados falsos positivos quanto negativos.

Tabela 1 – Tabela de contingência comparando os resultados da Soroaglutinação Rápida (SAR) com o ELISA em soros não diluídos de suínos, utilizando *Salmonella* Typhimurium como antígeno.

SAR	ELISA		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	29	1	30
Negativo	1	29	30
Total	30	30	60

Entretanto, utilizando-se a SAR com os soros na diluição de 1:10, obteve-se concordância mediana ($k = 0,633$) nos resultados entre os dois testes, observando-se apenas 20 amostras reagentes frente à SAR (Tab. 2). Neste caso, esta técnica apresentou menor sensibilidade (66,7%), valor preditivo positivo (95,2%) e valor preditivo negativo (74,4%), mantendo a mesma especificidade (96,7%). Observou-se que a SAR, quando realizada com soro diluído, gerou um maior número de resultados falsos negativos não sendo, então, indicada como um teste adequado de triagem na infecção por *Salmonella* sp. Isto por que, a sensibilidade é a capacidade de um instrumento de reconhecer os verdadeiros positivos em relação ao total de doentes, ou seja, quanto maior a sensibilidade menor será o número de resultados falsos negativos.

Tabela 2 – Tabela de contingência comparando os resultados do ELISA com os da Soroaglutinação Rápida (SAR) em soros sanguíneos diluídos (1:10) de suínos, utilizando *Salmonella* Typhimurium com antígeno.

SAR	ELISA		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	20	10	30
Negativo	10	20	30
Total	30	30	60

A sensibilidade e a especificidade são atributos intrínsecos do teste. No entanto, para estimar a validade de um instrumento diagnóstico em condições operacionais devemos calcular um indicador denominado valor preditivo positivo (probabilidade de um caso identificado com um determinado instrumento de ser de fato positivo), cujo

valor varia com a prevalência (Brasil, 2006). No presente estudo a SAR, apresentou o valor preditivo positivo de 95,2% em soro diluído.

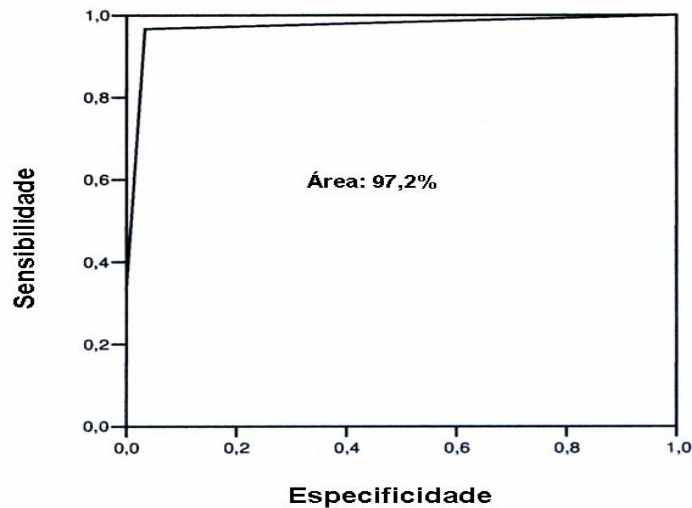


Figura 1 – Curva ROC da técnica de soroaglutinação rápida para identificação de resposta imune de soros suínos, utilizando *Salmonella* Typhimurium como antígeno.

A acurácia global ou validade da SAR no diagnóstico presuntivo de *Salmonella* foi de 97,2% (Fig. 1). A área sob a curva ROC mede a probabilidade de concordância entre duas medidas (Fletcher et al., 1996), onde uma área de 50% reflete ausência de força (poder discriminatório) na relação e uma área de 100% reflete concordância perfeita (Schroeder et al., 2001).

Com base nos resultados apresentados, verificamos que o teste de SAR em soro de suínos para determinar animais sororreagentes frente a *S. Typhimurium* é válido e possível de ser realizado utilizando-se soro suíno bruto (não-diluído).

Conclusões

O protocolo descrito de soroaglutinação rápida que usa antígeno de *Salmonella* Typhimurium foi um teste de triagem eficaz para detectar anticorpos em soro de suínos, apresentando alta sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo.

Referências

ABRAIRA, V. El índice kappa. **SEMERGEN**, v. 27, p. 247-249, 2000.

BERENDS B.R., KNAPEN F., MOSSEL D.A.A., et al. Impact on human health of *Salmonella spp.* on pork in the Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 44, n. 3, p. 219-229, 1998.

BESSA, M.C., COSTA, M., CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 24, n. 2, 2004.

BORCH E., NESBAKKEN T., CHRISTENSEN, H.. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 30, n. 1/2, p. 9-25, 1996.

BRASIL, Ministério da Saúde, Validade de instrumento diagnóstico (Anexo 2). Disponível em: http://www.saude.sc.gov.br/gestores/sala_de_leitura/saude_e_cidadania/ed_07/pdf/09_02.pdf. Acesso em: 15 set. 2006.

CANAL, C.W., LEÃO, J.A., ROCHA, S.L.S., et al. Isolation and characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* from chickens in Brazil. **Res. Vet. Sci.**, v. 78, p. 225-230, 2005.

DAVIES, A., O'NEILL, P., TOWERS, L., et al. An outbreak of *Salmonella* Typhimurium DT104 food poisoning associated with eating beef. **Commun. Dis. Rep. CDR. Rev.**, v. 11, n. 6, p. 159-62, 1996.

DI GUARDO G., FONTANELLI G., PANFILI G., et al. Occurrence of *Salmonella* in swine in the Latium Region (Central Italy) from 1980 to 1989: a retrospective study. **Vet. Quarterly**, v. 14, n. 2, p. 62-65, 1992.

FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W.; WAGNER, E.H. **Epidemiologia clínica: elementos essenciais**. 3 ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 281 p., 1996.

GANTER M., MULLER K., TEGELER R., et al. Prevalence of *Salmonella* in finishing pigs of Northwest Germany. **15th IPVS Congress**, Birmingham, England, p. 70, 1998.

HOFER, E., REIS, E.M.F DOS. *Salmonella* serovars in food poisoning episodes recorded in Brazil from 1991 to 1992. **Ver. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 36, n. 1, p. 7-9, 1994.

JACKSON, G.J., LANGFORD, C.F., ARCHER, D.L. Control of salmonellosis and similar foodborne infections. **Food Control**, v. 2, p. 26-34, 1991.

KAMPELMACHER, E.H., GUINÉE, P.A., HOFSTRA, K., et al.. Further studies on *Salmonella* in slaughterhouses and in normal slaughter pigs. **Zentralbl. Vet. Med.**, v. 10, n. 2, p. 27, 1963.

KÄSBOHRER, A.M., GEUE, L., STAAK, C.H., et al. Prevalence of *Salmonellae* in German slaughter pigs as detected by cultural, serological and PCR techniques, In: **Salmonella and Salmonellosis**, France, p. 315-320, 1997.

KICH, J.D., CARDOSO, M., COLDEBELLA, A., et al. Teste de ELISA para monitoramento da infecção por *Salmonella* em suínos. In: CONGRESSO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2003. Resumo.

MAGNANI, A.L., GIOMBELLI, A., SHUCK, M.S., et al. Incidência de *Salmonella* e *Escherichia coli* em carne suína *in natura* e salame colonial consumidos pela população de Chapecó, SC. **Hig. Aliment.**, n. 14, p. 44– 47, 2000.

MORES, N., ZANELLA, J.C. **Perfil sanitário da suinocultura no Brasil**. Disponível em: <<http://www.nordeste rural.com.br/dev/nordeste rural/matler.asp?newsId=3402>> Acesso em: 01 set. 2006.

NADVORNY, A., FIGUEIREDO, D.M.S., SCHMIDT, V. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul, em 2000. **Acta Sci. Vet.**, v. 32, p. 47-51, 2004.

PELUFFO, C.A., BIER, O., AMARAL, J.P.J. Estudos sobre as salmoneloses em São

Paulo. **Mem. Inst. Butantan**, n. 19, p. 211-228, 1946.

SÃO PAULO, Toxinfecção alimentar por *Salmonella* em um evento científico, São Paulo, 2004, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar do CVE/CCD-SES, **Rev. S. Pub.**, v. 39, n. 3, 2005.

SCHROEDER, K., WEGSCHEIDER, K., ZEYMER, U. 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**, n. 358, p. 1479–1486, 2001.

SWANENBURG, M., URLINGS, H.A., SNIJDERS, J. M., et al. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 70, n. 3, p.243-254, 2001.

TOMA, B., DUFOUR, B., SANAA, M., et al. **Applied Veterinary Microbiology and the Control of Disease in Populations**. Maison-Alfort: FAO, 1999. 676 p.

WALL, P.G., MORGAN, D., LAMDEN, K., et al. A case control study of infection with an epidemic strain of multiresistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in England and Wales. **Commun. Dis. Rep. CDR. Rev.**, v. 4, n. 11, p. 130-135, 1994.

WRAY, C., DAVIES, R.H. Guidelines on detection and monitoring of *Salmonella* infected poultry flocks with particular reference to *Salmonella* Enteritidis. In: **REPORT OF A WHO CONSULTATION ON STRATEGIES FOR DETECTION AND MONITORING OF SALMONELLA INFECTED POULTRY FLOCKS**, Austria: WHO - Veterinary Public Health Unit, p. 29-34, 1994.

ZEBRAL, A.A., FREITAS, C.A., HOFER, E. Ocorrência de *Salmonella* em gânglios linfáticos de suínos aparentemente normais, abatidos no matadouro de Santa Cruz, cidade do Rio de Janeiro, Guanabara. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 72, n. 3, p. 223-235, 1974.

CAPITULO 5

Detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*) através de sorologia e técnica microbiológica padrão

Detection of *Salmonella* sp. from Greater Rhea (*Rhea americana*) using serology and standard microbiological technique

Rosecler Alves Pereira¹, Marisa Macagnan², Jardel Pereira Tessari³, Verônica Schmidt³,
Cláudio Wageck Canal²

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária-
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9090.
CEP 91.509-900 Porto Alegre/RS. rose@rose.vet.br

² Departamento de Patologia Clínica. Faculdade de Veterinária - UFRGS

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva . Faculdade de Veterinária –
UFRGS.

Trabalho formatado segundo as regras da revista Ciência Rural – UFSM – Santa Maria
– Brasil.

Trabalho não submetido.

Detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*) através de sorologia e técnica microbiológica padrão

Detection of *Salmonella* sp. from Greater Rhea (*Rhea americana*) using serology and standard microbiological technique

Rosecler Alves Pereira¹, Marisa Macagnan², Jardel Pereira Tessari³, Verônica Schmidt³, Cláudio Wageck Canal²

RESUMO

A rheacultura está em constante expansão e surge como uma nova alternativa para a pecuária. No entanto, publicações na área são escassas comparando-se com espécies domésticas, tanto em nível de manejo e reprodução quanto ao status sanitário dos rebanhos existentes. O presente trabalho teve como objetivo identificar animais portadores de *Salmonella* sp. a partir de amostras de fígado, conteúdo cecal e suabe cloacal de emas (*Rhea americana*) ao abate e comparar o método bacteriológico padrão (MBP) com a soroaglutinação rápida utilizando *S. Typhimurium* como antígeno para diagnóstico da infecção por este microrganismo. De 70 emas, foram coletados sangue, para exame sorológico, e conteúdo cecal e fígado, para a detecção de *Salmonella* sp. As 70 aves foram testadas sorologicamente com antígeno comercial para *Salmonella* Pullorum. Destas, 66 também foram testadas por macroaglutinação utilizando como antígeno uma cepa de *Salmonella* Typhimurium isolada de ema (SAR-ST). Verificou-se isolamento de *Salmonella* sp. 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. Das 114 linhagens de salmonelas isoladas, identificaram-se 19 (16,6%) como *S. enterica* subsp. *enterica* rugosa, 41 (35,9%) como *S. Typhimurium*, 53 (46,5%) como *S. Newport* e uma amostra (0,9%) como *S. Anatum*. Todas as aves foram não reagentes frente ao antígeno comercial de *S. Pullorum*, contudo, 37 foram reagentes no SAR-ST. Conste à ampla revisão de literatura realizada, este é o primeiro trabalho do gênero em amostras desta espécie.

Palavras-chaves: diagnóstico, soroaglutinação, método microbiológico padrão, *Salmonella* sp., *Rhea americana*, ratitas.

ABSTRACT

The Greater Rhea breeding is a new alternative to breeders. Although, papers about this subject are rare when compare with traditional breeding. This paper aims to identify *Salmonella*'s reservoirs animals, using Greater Rhea (*Rhea americana*) liver samples, cecal material and cloacal swab, collected at slaughterhouse and to compare the rapid serum-agglutination method using *S. Typhimurium* antigen and the microbiological standard method (MSM). To *Salmonella* detection we collected liver samples, cecal material and blood samples of 70 birds. All this birds were serologically tested to *Salmonella enterica Pullorum* with commercial antigen (Biovet®). Of this, 66 were also tested to macroagglutination with a *Salmonella Typhimurium* strain (RSA-ST) isolated of a greater rhea. We detected *Salmonella* sp. At 66 (94.2%) birds, of this 60 (85.7%) in the liver, 42 (60.5) in the material cecal and 11 (42.3%) in the cloacal swab. Of the 114 *Salmonella* strains, we identify 19 (16.6%) to *S. enterica enterica* rough, 41 (35.9%) to *S. Typhimurium*, 53 (46.5%) to *S. Newport* e one sample (0.9%) to *S. Anatum*. All birds were serum non-reactives at RSA, but 37 were serum reactives at RSA-ST. As far as we concerned this is the first work like that uses greater rhea samples.

Key-words: diagnosis, serum-agglutination, standard microbiological technique, *Salmonella* sp., *Rhea americana*, ratites.

INTRODUÇÃO

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. Embora a criação de emas para o comércio de carne tenha aumentado exponencialmente nos últimos anos, o abate destas aves é realizado ainda em pequena escala. Os estabelecimentos abatedores possuem inspeção federal ou estadual estando, portanto, sujeitos às normativas dos respectivos órgãos regulamentadores.

O controle dos patógenos aviários de interesse da indústria, como *Salmonella Pullorum* (SP) e *Salmonella Gallinarum* (SG), foi alcançado, em muitos países, através de medidas coordenadas de vigilância sanitária associada aos exames sorológicos e sacrifício compulsório dos lotes positivos. No entanto, o Tifo Aviário (causado pela SG) e a Pulorose (causada pela SP) continuam entre os principais problemas da indústria avícola. Além disso, sorovares de *Salmonella* com importância em saúde pública, que ameaçam a aceitação de produtos de origem avícola por estarem relacionados a

infecções alimentares em humanos, tais como *Salmonella* Typhimurium (ST) e *Salmonella* Enteritidis (SE), são de controle mais difícil, em função de sua epidemiologia complexa, que envolve excreção fecal intermitente, contaminação ambiental e existência de muitos reservatórios da bactéria (BERCHIERI Jr., 2000).

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) estabelece ações prioritárias centradas em atingir os principais estados produtores e as regiões de maior concentração avícola (especialmente a Região Sul do Brasil) 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* sp. na avicultura comercial é freqüente. O método de eleição para triagem de lotes infectados e vigilância sorológica é a Soroaglutinação Rápida (SAR) com antígeno comercial corado (BRASIL, 1994). Este identifica aves infectadas com SP, SG e SE, devido ao compartilhamento do antígeno somático do Grupo D (BUCHALA, et al. 2006). No entanto, este antígeno comercial não identifica aves infectadas com *Salmonella* Typhimurium e outras salmonelas paratíficas. Assim, no presente trabalho, foi utilizado um teste de soroaglutinação rápida em placa utilizando *S. Typhimurium* como antígeno para uma possível detecção de aves sororeagentes frente a outras salmonelas.

O presente trabalho teve como objetivo identificar animais portadores de *Salmonella* sp. a partir de amostras de fígado, conteúdo cecal e suabe cloacal de emas (*Rhea americana*) ao abate e comparar o método bacteriológico padrão (MBP) com a soroaglutinação rápida utilizando *S. Typhimurium* como antígeno para diagnóstico da infecção por este microrganismo. Conste à ampla revisão de literatura realizada, este é o primeiro trabalho do gênero em amostras desta espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

Na tomada de amostras, para fim deste trabalho, utilizaram-se critérios qualitativos, recorrendo à chamada amostra intencional (THIOLLENT, 1992; MARCONI & LAKATUS, 1996). As aves estudadas eram pertencentes a criadores filiados a uma cooperativa no sul do Brasil e um questionário epidemiológico, juntamente com um envelope selado e endereçado para retorno, foram encaminhados por via postal a todos os cooperados para caracterização do sistema produtivo.

Para determinação do tamanho da amostra, estimaram-se a população em 500 a 3.000 aves, frequência esperada de 50%, erro aceitável de 40% e nível de confiança de 95%, utilizando o programa WinEpi 4.0. O tamanho de amostra calculado variou de 60 a 66 indivíduos, de acordo com o tamanho da população. Nos meses de setembro e outubro de 2006, foram abatidas 270 emas pertencentes a seis lotes compostos por 115, 28, 22, 45, 7 e 25 aves.

Um total de 70 aves foi aleatoriamente amostrado, respeitando a coleta de pelo menos 10% de animais de cada lote (BRASIL, 2003). De todas as aves, foi coletado sangue, para sorologia, e conteúdo cecal e fígado, para isolamento de *Salmonella*. De 26 aves, coletaram-se ainda suabes cloacais. As coletas foram realizadas na linha de abate de um frigorífico com inspeção federal que, normalmente, abate suínos para o mercado interno e externo.

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

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). A técnica de soroadglutinação rápida (SAR) foi adaptada da descrita por Canal et al. (2005). O antígeno utilizado foi feito utilizando-se uma cepa de *Salmonella* Typhimurium isolada de fígado de ema (*Rhea americana*) no Rio Grande do Sul e sorotipada pela Fiocruz-RJ que foi cultivada em TSA (Tryptic Soy Agar) por 24 horas. Após este período, com o auxílio de um suabe estéril, as colônias foram coletadas e ressuspendidas em 2-3 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS). A suspensão foi homogeneizada e padronizada para a densidade do tubo 2 da escala de MacFarland. Após, o soro a ser testado foi diluído em PBS na proporção de 1:10. Misturaram-se 25 µL de suspensão bacteriana e 25 µL de soro não diluído ou 25 µL de soro diluído sobre uma placa de vidro, homogeneizando a mistura por cerca de um minuto. Decorrido este período, realizou-se a leitura indicando a amostra como positiva ou negativa pela presença ou ausência de aglutinação, respectivamente.

A comparação entre os resultados obtidos no isolamento bacteriano e na SAR-ST foi realizada pelo teste de McNemar (PAGANO & GAUVREAU, 2004) utilizando-

se o programa SPSS versão 12.0.2 (SPSS INC., CHICAGO, 2004). O índice kappa foi categorizado como sem concordância ($k < 0,00$) a quase perfeito ($0,81 < k < 1,0$) (ABRAIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As aves amostradas eram provenientes de um sistema cooperativo constituído por 18 criadores de emas. Destes, apenas oito (44,5%) retornaram o questionário preenchido.

Todas as granjas utilizavam ração produzida na própria propriedade para alimentação das aves. No entanto, em quatro propriedades, aves jovens recebiam ração inicial comercial para frangos de corte. Os ovos eram chocados em incubadoras e as emas, criadas em piquetes fechados com telas e agrupadas por idade. Os filhotes ficavam em galpões cobertos a noite até os três meses de idade.

A terapia preventiva com antimicrobianos não é uma prática comum na Rheacultura. No entanto, em caso de doenças bacterianas, o uso de antimicrobianos, como tetraciclina, é frequente (HOSKEN & SILVEIRA, 2003). De oito criadores, cinco utilizaram enrofloxacin e sulfamicina, em casos de doença. Além disso, todos os criatórios utilizavam complexos vitamínicos, anti-helmínticos e probióticos na produção de emas.

O frigorífico onde foram realizados os abates possuía inspeção federal e normalmente abatia suínos para o mercado interno e externo. As emas foram transportadas em caminhões e colocadas em baia de espera, sendo que na segunda coleta, as aves foram alocadas em uma baia conjunta para o abate e os lotes foram identificados por marcas de tinta de cores diferentes. O tempo de espera para o início do processamento variou de 12 a 24 horas. Não se tem a informação do manejo de desinfecção das baias de espera pelo frigorífico.

Verificou-se isolamento de *Salmonella* sp. 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. Destes 66, havia a presença de *Salmonella* sp. concomitantemente no fígado e no conteúdo cecal em 41 aves (61,7%). Somente de 7 aves (10,6%) foi possível isolar salmonela de todas as amostras (fígado, conteúdo cecal e suabe cloacal).

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

Newport e Anatum são importantes para a saúde pública e frequentemente isolados de casos de salmonelose em humanos (THRELFALL et al., 1998; PEZZINO et al., 1998; GUITIERREZ-COGNO et al., 2000; KRAUSE et al., 2001; GILLESPIE, 2004; KIRK et al., 2004; ESPIÉ et al., 2005; KIVI et al., 2005; ISAKBAEVA et al., 2005; TAKKINEN et al., 2005; DECHET et al., 2006).

S. Newport é frequentemente isolada em animais domésticos (PRITCHARD & KRUSE, 1982; CLEGG et al 1983; PACER et al. 1989; TRAUB-DARGATZ et al. 1990; RANKIN et al., 2002; D'ALTERIO et al 2003; GUPTA et al., 2003) e silvestres (RECHE et al., 2003; ADESIYUN et al. 1998). GIOSSA et al. (2004) isolaram *S. Newport* de raspados intestinais de emas no Uruguai.

Já a *S. Typhimurium* é comum em várias espécies de aves e causa mortalidade em avestruzes de até três meses de idade (MORE, 1996), mas raramente afeta aves de mais de seis meses ou aves no abatedouro (VERWOERD, 2000).

Quanto a *S. Anatum*, na África do Sul, foram isoladas várias espécies de *Salmonella* de amostras provenientes de avestruzes, estando entre elas a *S. Anatum* (HUCHEZERMEYER, 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 eqüinos, as quais poderiam servir como reservatórios destes sorovares.

Em relação aos dados de sorologia verificou-se que os 70 soros examinados não reagiram frente o antígeno comercial de *S. Pullorum*. O mesmo já havia sido observado em emas no Rio Grande do Sul (FLORES et al., 2003). Em um abatedouro de avestruzes nos Estados Unidos, não foi observada soropositividade nesta espécie para *S. Pullorum*, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* (LEY et al., 2000), embora *Salmonella* sp. já tenha sido isolada desta espécie (LEY et al., 2001).

Por outro lado, quando se utilizou o sorovar *Typhimurium* como antígeno, 56,1% (37/66) das aves testadas foram positivas. Destas, isolou-se *Salmonella* de 35 indivíduos. Os sorovares isolados destas amostras estão discriminados na Tabela 1.

Comparando-se os resultados obtidos no isolamento de *Salmonella* sp. com os da sorologia, 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 (Tabela 2).

Comparando estes resultados, determinou-se que a SAR-ST possui baixa sensibilidade e especificidade no diagnóstico de infecção por salmonelas em emas. Verificou-se variabilidade nos valores preditivos positivo e negativo, segundo o local de isolamento bacteriano utilizado como método diagnóstico padrão (Tabela 3). Utilizando-se o isolamento no indivíduo, determinou-se valor preditivo positivo de 94,6%, indicando que as aves com resultado sorológico positivo possuíam alta probabilidade de terem sido infectadas por salmonelas. Verificou-se que a maioria das aves (73%) com isolamento bacteriano apresentou resultado sorológico negativo. Determinou-se concordância 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.

O período necessário para a soroconversão, em aves e animais, varia de 10 dias a duas semanas após a infecção, dependendo da população bacteriana presente (VAN DER WOLF et al., 2001a; VAN DER WOLF et al., 2001b; VAN DER GAAG et al., 2004; PRAKASH et al., 2005). Uma possibilidade é a de que as emas tenham se infectado com salmonela nas baías de espera (ROSTAGNO et al., 2005) onde são normalmente alojados suínos neste abatedouro. A presença de indivíduos com isolamento de salmonela no fígado e não reatividade sorológica pode ser devido ao fato de que há casos em que ocorre apenas a contaminação, mas não a infecção do indivíduo, não ocorrendo à absorção do microrganismo, mas sim sua excreção pelas fezes, sendo chamadas salmonelas de trânsito (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 ocorre de modo intermitente (BARROW & LOWELL, 1991). Além disso, a presença de *Salmonella* sp. em vísceras pode ser decorrente do seqüestro da bactéria por células do sistema retículo-endotelial e não à septicemia. Estudos apontam 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 neste trabalho demonstraram que novos estudos devem ser realizados a fim de identificar possíveis fontes de infecção a estas aves. A detecção de *Salmonella* sp. pelos métodos bacteriológicos e sorológicos em amostras de emas deve ser considerada como importante, pois as aves testadas não apresentavam nenhuma manifestação clínica de salmonelose e podem ser importantes na toxinfecções

alimentares por salmonelas. Além disso, embora apresente uma ampla revisão de literatura, este trabalho é pioneiro em relação a *Rhea americana*.

CONCLUSÕES

Isolaram-se linhagens de *Salmonella* de emas pertencentes a diferentes sorovares e observou-se sororeatividade, indicando que a infecção de salmonelas em emas está presente no Rio Grande do Sul.

BIBLIOGRAFIA

- ADESIYUN, A.A. et al. Some bacterial enteropathogens in wildlife and racing pigeons from Trinidad. **J. Wildl. Dis.**, v.34, n.1, p.73-80, Jan 1998.
- ABRAIRA, V. El índice kappa. **Semergen**, v.27, p. 247-249, 2000.
- BARROW, P.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.
- BERCHIERI JUNIOR, A. Salmoneloses Aviárias. In: BERCHIERI JUNIOR, A; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, v. 1, p. 185-196, 2000.
- BESSA, M.C., et al. Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 24, n. 2, 2004.
- BRASIL, Secretaria de Defesa Agropecuária 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, Secretaria de Defesa Agropecuária Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa conjunta n. 2. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Edição número 40. Poder Executivo, Brasília – DF, 25 jan. 2003. Seção 1.
- BUCHALA, F.G., 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, n.1, p.1-5, jan./mar., 2006.
- CLEGG, F.G., et al. Outbreaks of *Salmonella* Newport infection in dairy herds and their relationship to management and contamination of the environment. **Vet. Rec.**, v. 112, n. 25, p. 580-584, 1983.

- D'ALTERIO, G.L., et al. Meningitis associated with *Salmonella* Newport in a neonatal alpaca (*Lama pacos*) in the United Kingdom, **Vet. Rec.**, v.152, p. 56-57, 2003.
- DECHET, A., et al. Outbreak of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Definitive Type 104 Infection Linked to Commercial Ground Beef, Northeastern United States, 2003–2004. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, p. 747–752, 2006.
- ESPIÉ, E., et al. An outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections linked to the consumption of imported horse meat in France. **Epidemiol. Infect.**, v. 133, n. 2, p. 373-376, 2005.
- FLETCHER, R.H., et al. **Epidemiologia clínica: elementos essenciais**. 3 ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 281 p., 1996.
- FLÔRES, M. L., et al. Avaliação sorológica em emas (*Rhea americana*) para patologias aviárias selecionadas, no Estado do Rio Grande do Sul. In: Conferência APINCO 2003 de Ciência e Tecnologia Avícola, 2003, Campinas. Revista **Brasileira de Ciência Avícola, Suplemento 5 - Premio Lamas**. Campinas : FACTA, 2003. p. 143-143.
- GAST, R.K. *Salmonella* infections. In: SAIF, Y.M. **Diseases of poultry**. 11. ed. Iowa: Iowa State University Press, CD-Rom, p. 567-614, 2003.
- GILLESPIE, I. Outbreak of *Salmonella* Newport infection in England, Scotland, and Northern Ireland: association with the consumption of lettuce. **Commun. Dis. Rep. CDR. Weekly**, v. 14, n. 41, 2004.
- GIOSSA, G., et al. Hallazgos bacteriológicos y parasitológicos en una fauna de ñandú (*Rhea americana*). **Veterinaria**, v. 39, n. 154, p. 11-16, 2004.
- GUPTA, A., et al. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections Resistant to Expanded-Spectrum Cephalosporins in the United States. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 188, p. 1707–1716, 2003.
- GUITIERREZ-COGCO, L. et al. *Salmonella* serotypes isolated in Mexico's health services. **Sal. Pub. Mex.**, v. 42, n. 6, p. 490-495, Nov./Dec. 2000.
- HOFER, E., et al. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v.17, n. 2, p.55-62, abr./jun. 1997.
- HOSKEN, F.M. & SILVEIRA, A.C. **Criação de Emas**. Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 362 p., 2003.

- HOSZOWSKI, A. & WASYL, D. *Salmonella* serovars found in animals and feeding stuffs in 2001 and their antimicrobial resistance. **Bull. Vet. Inst. Pulawy**, v. 46, p. 165-178, 2002.
- HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de Avestruzes e Outras Ratitas**. Jaboticabal:Funep, 391 p., 2000.
- ISAKBAEVA, E., et al. *Salmonella* Typhimurium DT104 outbreak linked to imported minced beef, Norway, October-November 2005. **Euro. Surveill.**, v. 10, p. 11, 2005.
- KIRK, M.D., et al. An outbreak due to peanut in their shell caused by *Salmonella enterica* serotypes Stanley and Newport. **Epidemiology e Infection**, v. 132, n. 4, p. 571-577, 2004.
- KIVI, M., et al. Large outbreak of *Salmonella* Typhimurium DT104, the Netherlands, September-November 2005. **Euro. Surveill.**, v. 10, n. 12, 2005.
- KRAUSE, G., et al. Outbreak of *Salmonella* serotype Anatum infection associated with unpasteurized orange juice. **South Med. J.**, v. 94, n. 12, p. 1168-1172, 2001.
- LEY, E.C., et al. Serologic survey of slaughter-age ostriches (*Struthio camelus*) for antibodies to selected avian pathogens. **Avian Disease**, v. 44, n. 4, p.989-992, 2000.
- LEY, E.C., 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 Diseases**, v.45, n.3, p.696-700, 2001.
- MARCONI, M.A. & LAKATUS, E.M. **Técnicas de pesquisa**. 3. ed. São Paulo: Atlas, 1996. 231 p.
- MICHAEL, G.B. et al. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 138-142, 2003.
- MORE, S.J. The performance of farmed ostrich chicks in eastern Australia. **Preventive Veterinary Medicine**, v, 29, p. 91-106, 1996.
- OKOH, A.E.J.& ONAZI, M. Notes on *Salmonellae* isolated from wildlife in Kano Zoological Gardens. **Journal of Wildlife Diseases**. v.16, n.1, p.7-10. 1980.
- PACER, R.E., et al. Prevalence of *Salmonella* and multiple antimicrobial-resistant *Salmonella* in California dairies. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.195, n.1, p.59-63, 1989.
- PAGANO, M. & GAUVREAU, K. **Princípios de Bioestatística**. 2 ed. São Paulo: Thomson, 2004. 506 p.
- PEZZINO, G., et al. A multi-state outbreak of *Salmonella* serotypes Infantis and Anatum-Kansas and Missouri, 1997. **Kans. Med.**, v. 98, n. 3, p. 10-12, 1998.

- PHALEN, D.N; Differentiating abdominal disorders in the ostrich and emu. Association of Avian Veterinarians 1995, **Main Conference Proceedins**, p. 209-213, 1995.
- PRAKASH, B. et al. Evaluation of *Salmonella* Gallinarum outer membrane protein based enzyme linked immunosorbent assay for detecting antibodies in vaccinated and infected chickens.. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 4, p. 222-227, 2005.
- PRITCHARD, M.H. & KRUSE, G.O.W. **The Collection and Preservation of Animal Parasites**. University of Nebraska Press, 1982, 132p.
- RANKIN, S. C., et al. Molecular characterization of cephalosporin-resistant *Salmonella* enterica serotype Newport isolates from animals in Pennsylvania. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 4679-4684, 2002.
- RECHE, M.P., et al. Incidence of *Salmonellae* in captive and wild free-living raptorial birds in central Spain. **J. vet. med., Ser. B**, v. 50, n. 1, p.42-44, 2003.
- REISSIG, E.C.; ROBLES, C.A.; OLAECHEA, F.V.; WILLEMS, P.M. Determinación de parâmetros fisiológicos normales y principales problemas sanitários de choiques criados em granjas. Informe preliminar. CR-394, INTA EEA, Bariloche 2001. **On-line**. Capturado em 22 de outubro de 2006. Disponível na internet em: http://www.produccionbovina.com/produccion_de_nandues/32- hoiques_en_granjas.pdf
- ROSTAGNO, M.H., et al. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella* enterica. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n. 8, p. 4489-4494, 2003.
- SCHROEDER, K., et al. 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**, n. 358, p. 1479–1486, 2001.
- SILVA, L.E., et al. *Salmonella* infection in pigs raised in a multiple-site swine production system from southern Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.58, n.4, p.455-461. 2006.
- TAKKINEN, J., et al. A nationwide outbreak of multiresistant *Salmonella* Typhimurium in Finland due to contaminated lettuce from Spain, May 2005. **Euro Surveill.**, v.10, n. 6, 2005.
- THRELFALL, J., et al. An outbreak due to peanut in their shell caused by *Salmonella enterica* serotypes Stanley and Newport. **Epidemiology e Infection**, v. 132, n. 4, p. 571-577, 2004.

- THIOLLENT, M. **Metodologia da pesquisa-ação**. 5. ed. São Paulo: Cortez, 1992. 107p.
- TRAUB-DARGATZ, J.L., et al. Fecal shedding of *Salmonella* spp. by horses in the United States during 1998 and 1999 and detection of *Salmonella* spp. In grain and concentrate sources of equine operations. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**,v. 217, p. 226-230, 2000.
- TULLY, T.N. & SHANE, S.M. *Salmonella* Pullorum serum conversion in emus (*Dromaius novaehollandiae*). **Proceedings Association of Avian Veterinarians**, p.315-317, 1993.
- VAN DER GAAG, M.A., et al. A state-transition simulation model for the spread of *Salmonella* in the pork supply chain. **Europ. J. Oper. Res.**, v.156, p.782-798, 2004.
- VAN DER WOLF, P.J., et al. Administration of acidified drinking water to finishing pigs in order to prevent *Salmonella* infections. **Vet. Quaterly**, v.23, p.121-125, 2001a.
- VAN DER WOLF, P.J.,et al. Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finishing pig herds in The Netherlands. **Vet. Microbiol.**, v.78, p.205-219, 2001b.
- VERWOERD, D.J. Ostrich diseases. **Reviews in Science Technology**, v.19, n.2, p.638-661, 2000.
- WILSON, J.E. & MACDONALD, J.W. *Salmonella* infection in wild birds. **British Veterinary Journal**, v. 123, p. 212-219, 1967.

Tabela 1 – Sorovares de *Samonella* isolados de aves sororeagentes na Soroagluinação rápida em placa com antígeno *S. Typhimurium*

Sorovar isolado	Número de reagentes
<i>S. Newport</i>	17
<i>S. Typhimurium</i>	7
<i>S. enterica enterica rugosa</i>	3
<i>S. Typhimurium</i> & <i>S. Newport</i>	1
<i>S. Typhimurium</i> & <i>S. enterica enterica rugosa</i>	3
<i>S. Newport</i> & <i>S. enterica enterica rugosa</i>	4
<i>Isolamento negativo</i>	2
<i>Total</i>	37

Tabela 2 – Tabela comparando os resultados positivos do Isolamento para *Salmonella* com os da SAR-ST

Amostras	Microbiológico Padrão	Sorologia
Fígado	85,7% (60/70)	48,5% (32/66)
Conteúdo cecal	60% (42/70)	36,4% (24/66)
Suabe cloacal	42,3% (11/26)	23% (6/26)
Indivíduo	94,2% (66/70)	56,1% (37/66)

Tabela 3 – Avaliação da soroglutinação rápida utilizando o sorovar Typhimurium como antígeno como método diagnóstico na infecção por salmonelas em emas (*Rhea americana*), utilizando o isolamento bacteriano como método padrão, segundo o local de isolamento.

	Indivíduo	Fígado	Conteúdo cecal	suabe
Sensibilidade (%)	56,5	57,1	58,5	54,5
Especificidade (%)	50	50	48	46,7
Valor Preditivo Positivo (%)	94,6	86,5	64,9	42,9
Valor Preditivo Negativo (%)	6,9	17,2	41,4	58,3

CAPITULO 6

Detecção de *Salmonella* Anatum em ema (*Rhea americana*)
Detection of *Salmonella* Anatum in the Greater Rhea (*Rhea americana*)

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

Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária (FAVET), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9090 CEP 91.590-900 Porto Alegre/RS. rose@rose.vet.br

²Laboratório Mercolab – Cascavel/PR.

³Departamento de Patologia Clínica Veterinária, FAVET/UFRGS.

⁴ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, FAVET/UFRGS.

* Autor para correspondência

Trabalho submetido para a revista Ciência Rural – UFSM – Santa Maria – Brasil.

Ciência Rural		Página Inicial 
		Busca Interna 
		Assinatura
Artigos Científicos Comissão Editorial Situação do Trabalho Normas de Publicação Endereço		

Tramitação do Trabalho

Número:	860/06
Título:	DETECÇÃO DE Salmonella Anatum EM EMA (Rhea americana)
Data da tramitação:	Tramitação:
13/12/2006	AVISO AO PESQUISADOR SOBRE RECEBIMENTO DE TRABALHO
14/12/2006	SOLICITAR PARECER PARA O CONSULTOR 1 SOBRE O TRABALHO
14/12/2006	SOLICITAR PARECER PARA O CONSULTOR 2 SOBRE O TRABALHO
16/01/2007	AVISO DE ENVIO DE TRABALHO AO CONSULTOR 1
16/01/2007	AVISO DE ENVIO DE TRABALHO AO CONSULTOR 2
19/01/2007	RECEBIMENTO DE PARECER DO CONSULTOR 2
25/01/2007	RECEBIMENTO DE PARECER DO CONSULTOR 1
08/02/2007	ENVIO DE CÓPIA PARECER PARA O AUTOR

Detecção de *Salmonella* Anatum em ema (*Rhea americana*)
Detection of *Salmonella* Anatum in the Greater Rhea (*Rhea americana*)

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

- NOTA -

RESUMO

Para pesquisa de *Salmonella* sp., foram coletadas amostras de fígado e conteúdo cecal de 70 emas (*Rhea americana*) abatidas no Rio Grande do Sul. Em uma ave, verificou-se, macroscopicamente, fígado ligeiramente esverdeado. Colônias morfológica e bioquimicamente compatíveis com *Salmonella* sp. foram sorotipadas como *Salmonella* Anatum. Considerando-se o alto potencial zoonótico deste microrganismo, destaca-se a relevância do controle microbiológico efetivo em frigoríficos que abatem espécies silvestres, assim como no produto final.

Palavras-chaves: *Salmonella* Anatum, *Rhea americana*, diagnóstico.

ABSTRACT

Aiming to investigate the *Salmonella* sp. presence, we collected at one slaughter house in Rio Grande do Sul – Brazil, liver and cecal samples from 70 Greater Rhea (*Rhea Americana*). Macroscopically, the liver of one bird was slightly green. *Salmonella-like* colonies were serologically typed, and one colony was identified as *Salmonella* Anatum. Considering the high zoonotical potencial of this microorganism, an effective microbiological control of wild animal's slaughter houses and the final product are needed.

Key-words: *Salmonella* Anatum, *Rhea Americana*, diagnosis.

A *Salmonella* sp. é um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos por estar amplamente distribuída na natureza, por possuir um grande número de reservatórios, como as aves silvestres, por apresentar sorotipos inespecíficos quanto ao hospedeiro e cepas multiresistentes aos antimicrobianos (BERSOT, 2006). Certos sorovares são específicos de algumas espécies animais, embora alguns possam acarretar tanto a salmonelose animal quanto a humana (ANDREATTI FILHO et al., 2001). Informações sobre a incidência e distribuição dos sorovares de salmonelas na população de animais silvestres e domésticos são essenciais para relacionar os possíveis

reservatórios que possam ser responsáveis pela transmissão dessa zoonose (GAST, 2003). Vários sorovares de salmonelas paratíficas são responsáveis por infecções em aves silvestres. Tanto aves clinicamente saudáveis quanto infectadas que sobreviveram a um surto, podem ser portadoras de salmonelas. Deste modo, aves destinadas a programas de soltura ou reintrodução no ambiente natural devem ser avaliadas quanto à presença deste microrganismo uma vez que possuem acesso a fontes potenciais de infecção, que incluem depósitos de lixo, resíduos provenientes da avicultura e efluentes de esgotos não tratados (CUBAS, 1993).

A ema (*Rhea americana*) pertence ao grupo de aves conhecido como ratitas (HUCHZERMAYER, 2000) e é identificada como uma ave silvestre, sendo sua criação controlada pelo IBAMA. Sua caça é proibida e a espécie está classificada como animal de baixo risco de extinção na lista vermelha do Comitê Internacional de Tráfico de Espécies Ameaçadas de Extinção (CITES, 2006). O comércio de carne de emas só é permitido de animais oriundos de criadouros comerciais regularizados junto ao IBAMA e abatido em frigoríficos regularizados e com serviço de inspeção.

Como a criação e comercialização de carne de emas estão em uma fase inicial, pouco se conhece sobre as patologias que afetam esta espécie em criações intensivas. Desta forma, o presente trabalho faz parte de um esforço para determinar a ocorrência de patologias nesta espécie. Para isto, foram coletadas amostras de fígado e conteúdo cecal de 70 emas abatidas no Rio Grande do Sul. As amostras foram processadas para isolamento de *Salmonella*, segundo Michael et al. (2003). Um total de 114 colônias isoladas, morfológica e bioquimicamente compatíveis com *Salmonella sp.*, foram encaminhadas para sorotipificação na Fiocruz/RJ. Destas, identificaram-se 19 (16,6%) como *S. enterica enterica rugosa*, 41 (35,9%) como *S. Typhimurium*, 53 (46,5%) como *S. Newport* e uma amostra (0,9%) como *S. Anatum*; sendo esta proveniente de um fígado que se apresentou, macroscopicamente, ligeiramente esverdeado.

Segundo Huchezermeyer (2000), no Instituto de Veterinária de Onderstepoort, foram isoladas várias espécies de *Salmonella* de amostras provenientes de avestruzes, estando entre elas a *S. Anatum*. Na Patagônia, *S. Anatum* foi isolada de ovos de ema (REISSIG et al., 2001). A *Salmonella Anatum* é comumente isolada de equínos, bovinos, cães, gatos e aves domésticas (JONES, 2000). No Brasil, este microrganismo já foi isolado de carcaças de equídeos (HOFFER et al., 2000), carcaças e água em abatedouros de frangos (CORTEZ et al., 2006) e em matéria-prima de rações para animais (HOFER & SILVA, 1998; SAENZ et al., 2001). Este sorovar foi isolado, ainda,

de carcaças de suínos em Portugal (VIEIRA-PINTO, 2006) e de suínos e ovinos na Nova Zelândia (DAVIS & RUSSEL, 1960). Casos de infecção humana já foram registrados no México (GUITIERREZ-COGNO et al., 2000), na China (CHIEH SUNG et al., 1949) e de um surto em lactentes na Dinamarca (WEGENER et al., 1997).

A detecção de *S. Anatum* alerta para o risco à saúde pública demonstrando a relevância de um controle efetivo em frigoríficos que abatem espécies de criações alternativas, bem como do controle microbiológico no produto final.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREATTI FILHO, R.L. et al. Sorovares de *Salmonella* isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999. **Rev. Educ. Contin. CRMV – SP**, v. 4, n. 3, p. 90-101, 2001.
- BERSOT, L.C. *Salmonella* no Brasil: sua importância no abate de aves. **V Simpósio de Sanidade Avícola da UFSM**, Santa Maria, 10-11 de agosto de 2006, p. 90-94, 2006.
- CHIEH SUNG M.D., et al. Systemic infection with *Salmonella* Anatum – Report of first case. **Pediatrics**, v. 4, n. 2, p. 249-253, Aug. 1949.
- CITES - The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Capturado em 28 out. 2006. **On-line**. Disponível na Internet http://www.cites.ec.gc.ca/eng/sct0/index_e.cfm.
- CORTEZ, A.L.L. et al. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* sp. isoladas de abatedouros de aves. **Arq. Inst. Biol.**, v. 73, n. 2, p. 157-163, Abr./Jun., 2006.
- CUBAS, Z.S. Natural diseases of free-ranging birds in South America. In: FOWLER, M.E. **Zoo & wild animal medicine: current therapy 3**. Colorado: Saunders Company, 1993. p.166-172.
- DAVIS, E.A.; RUSSEL, R.R. The isolation of *Salmonella* Anatum from the pig and sheep in New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v. 8, n. 6, p. 116-117, 1960.
- GAST, R.K. *Salmonella* infections. In: SAIF, Y.M. **Diseases of poultry**. 11. ed. Iowa: Iowa State University Press, CD-Rom, p. 567-614, 2003.
- GUTIERREZ-COGCO, L. et al. *Salmonella* serotypes isolated in Mexico's health services. **Sal. Pub. Mex.**, v. 42, n. 6, p. 490-495, Nov./Dec. 2000.
- HOFER, E.; SILVA, S.J.da. Sorovares de *Salmonella* isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 18, n. 1, Jan./Mar. 1998.
- HOFER, et al. *Salmonella* serovars in meat of horses slaughtered in northeastern Brazil.

Pesq. Vet. Bras., v. 20, n. 2, p.80-84, Apr./Jun. 2000.

HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de Avestruzes e Outras Ratitas**. Jaboticabal:Funep, 391 p., 2000.

JONES T.C. et al. Patologia Veterinária, 6^a ed., São Paulo: Ed. Manole, 1415 p., 2000.

MICHAEL, G.B. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Braz. J. Microbiol.**, v. 34, p. 138-142, 2003.

REISSIG, E. et al. Determinacion de parametros fisiológicos y principales problemas sanitários de choiques criados em granjas. Informe Técnico. Bariloche, Noviembre 2001. Capturado em 22 out. 2006. **On-line**. Disponível na Internet http://www.produccionbovina.com/produccion_de_nandues/32-choiques_en_granjas.pdf

SAENZ, E.P et al. Serotipos de *Salmonella* aisladas en pienso para gallinas ponedoras. **Rev. Cub. Aliment. Nutr.**, v. 15, n. 1, p. 26-30, 2001.

VIEIRA-PINTO, M. et al. Unveiling contamination sources and dissemination routes of *Salmonella* sp. in pigs at a Portuguese slaughterhouse through macrorestriction profiling by pulsed-field gel electrophoresis. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 110, n. 1, p. 77-84, 2006.

WEGENER, H.C. et al. Surveillance of antimicrobial resistance in humans, food stuffs and livestock in Denmark. **Euro Surveillance**, v. 2, n. 3, 1997.

CAPÍTULO 7

Detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*): comparação entre a reação em cadeia da polimerase e método bacteriológico padrão

Detection of *Salmonella* sp. from Greater Rhea (*Rhea Americana*) origin: a comparison between a PCR method and standard microbiological techniques

Rosecler Alves Pereira¹, André Streck², Verônica Schmidt³, Cláudio Wageck Canal²

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária- Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9090. CEP 91.509-900 Porto Alegre/RS. rose@rose.vet.br

² Departamento de Patologia Clínica. Faculdade de Veterinária - UFRGS

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva . Faculdade de Veterinária – UFRGS.

Trabalho formatado segundo as regras da revista Ciência Rural, UFSM, Santa Maria, Brasil.

Trabalho não submetido.

Detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*): comparação entre a reação em cadeia da polimerase e método bacteriológico padrão

Detection of *Salmonella* sp. from Greater Rhea (*Rhea Americana*) origin: a comparison between a polimerase chain reaction protocol and a standard microbiological technique

Rosecler Alves Pereira¹, André Felipe Streck², Verônica Schmidt³, Cláudio Wageck Canal²

RESUMO

A ema (*Rhea americana*) é uma ave silvestre que habita o sudeste da América do Sul e tem sido criada em fazendas pela sua carne e penas. O comércio de carne de emas só é permitido de animais oriundos de criadouros comerciais regularizados junto ao IBAMA e abatidos em frigoríficos legalizados. O presente trabalho teve como objetivo comparar o método bacteriológico padrão (MBP) e a reação em cadeia pela polimerase (PCR) na identificação de animais portadores de *Salmonella* sp. a partir de amostras de fígado, conteúdo cecal e suabe cloacal de emas (*Rhea americana*) ao abate. Apesar da ampla revisão de literatura realizada, este é o primeiro trabalho do gênero em amostras desta espécie. Verificou-se isolamento de *Salmonella* sp. em 66 (94,2%) aves, representadas por 60 (85,7%) amostras de fígado, 42 (60%) conteúdos cecais e 11 (42,3%) suabes cloacais. Os resultados da PCR foram positivos em 67 (97,1%) aves, sendo 59 (95,2%) amostras de fígado, 46 (74,2%) materiais cecais e 10 (43,5%) suabes cloacais. Os resultados obtidos demonstraram que a PCR detectou *Salmonella* sp. em um maior número de amostras provenientes de emas (*Rhea americana*) do que o MBP, concordando com resultados encontrados em outras espécies.

Palavras-chaves: *Salmonella* sp., diagnóstico, PCR, método bacteriológico padrão, *Rhea americana*

ABSTRACT

The Greater Rhea (*Rhea americana*) is a southern South American native wild bird, which is bred in captivity for its feathers and meat. Commercialization of the Greater

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária-Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9090. CEP 91.509-900 Porto Alegre/RS. rose@rose.vet.br

² Departamento de Patologia Clínica Veterinária. Faculdade de Veterinária – UFRGS.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Faculdade de Veterinária – UFRGS.

Rhea's meat is only allowed of animals deriving from commercial breeders who are regulated by IBAMA and slaughtered at legalized slaughterhouses. This work aims to compare a polymerase chain reaction (PCR) protocol to a standard microbiological technique (SMT) in the generic detection of *Salmonella* in liver, cecal material and cloacal swab of Greater Rheas samples collected in a slaughterhouse. As far as we are concerned, this is the first study comparing these two techniques using Greater Rhea samples. The results showed the *Salmonella* sp. isolation from 66 (94.2%) birds, being 60 (85.7%) found in liver, 42 (60%) in cecal material and 11 (42.3%) in cloacal swabs. The PCR was positive in 67 (97.1%) birds, being 59 (95.2%) found in liver, 46 (74.2%) in cecal material and 10 (43.5%) in cloacal swabs. The present report demonstrates that the PCR technique can detect a higher number of *Salmonella* sp. positive samples in Greater Rhea when compared to the SMT, which agrees with previous results from other species.

Key-words: *Salmonella* sp., diagnosis, PCR, standard microbiological technique, *Rhea americana*

INTRODUÇÃO

A ema (*Rhea americana*) pertence ao grupo de aves conhecido como ratitas, o qual inclui o avestruz (*Struthio camelus*), da África; o casuar (*Casuarium casuarium*) e o emu (*Dromaius novaehollandiae*), da Austrália; e o kiwi (*Apteryx sp.*), da Nova Zelândia (HUCHZERMEYER, 2000). Esta ave, nativa dos pampas do sudeste da América do Sul, tem sido criada em fazendas no sul do Brasil para a obtenção de carne e penas, estando bem adaptada à região.

A ema é identificada como uma ave silvestre, sendo assim, sua criação é controlada pelo IBAMA. Sua caça é proibida e a espécie está classificada como animal de baixo risco de extinção, na lista vermelha do Comitê Internacional de Tráfico de Espécies Ameaçadas de Extinção (CITES, 2006). O comércio de carne de emas só é permitido de animais oriundos de criadouros comerciais regularizados junto ao IBAMA e abatido em frigoríficos legalizados.

Mesmo que a criação de ema tenha aumentado exponencialmente nos últimos anos, o abate destas aves ainda é feito em pequena escala. Mesmo assim, todos são realizados em estabelecimentos sob inspeção federal ou estadual estando, portanto, sujeitos às normativas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

O Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) estabelece ações prioritárias centradas em atingir os principais estados produtores e as regiões de maior concentração avícola (especialmente a Região Sul do Brasil) e visa controlar e/ou erradicar as principais doenças aviárias de transmissão vertical, como as salmoneloses. Toda a criação de ave silvestre ou doméstica deve ser regulamentada e monitorada seguindo as diretrizes do PNSA (BRASIL, 1994). Segundo este plano, o método de detecção de *Salmonella* sp. padrão é o isolamento bacteriológico.

Considerando esta normativa, o presente trabalho teve como objetivo comparar o método bacteriológico padrão (MBP) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) na identificação de animais portadores de *Salmonella* sp. em amostras de fígado, conteúdo cecal e suabe cloacal de emas ao abate. Conste à ampla revisão de literatura realizada, este é o primeiro trabalho do gênero em amostras desta espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coletaram-se conteúdo cecal e fígado de 70 aves escolhidas aleatoriamente de seis lotes distintos, respeitando-se um mínimo de 10% do lote (BRASIL, 2003), além de suabes cloacais de 26 aves.

O método bacteriológico padrão (MBP) para isolamento de *Salmonella* sp. foi realizado como descrito por Michael (2003). As colônias confirmadas como *Salmonella* sp. foram mantidas congeladas (-20°C) em Caldo Infusão Cérebro e Coração acrescido de 20% de glicerol, até serem remetidas para sorotipificação na fundação Instituto Oswaldo Cruz.

Das 70 aves amostradas, a pesquisa de salmonela pela reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada em 69 indivíduos, sendo amostrados fígados e conteúdo cecal de 62 aves e 23 suabes cloacais.

O protocolo da PCR foi realizado como descrito por Oliveira et al. (2002) se utilizando de um par de iniciadores específicos para o gene *invA* de *Salmonella* sp.

A comparação entre os resultados obtidos no MBP e na PCR foi realizada pelo teste de McNemar (PAGANO & GAUVREAU, 2004) utilizando-se o programa SPSS versão 12.0.2 (SPSS INC., CHICAGO, 2004). O índice kappa foi categorizado como sem concordância ($k < 0,00$) a quase perfeito ($0,81 < k < 1,0$) (ABRAIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se isolamento de *Salmonella sp.* em 66 (94,2%) aves, sendo positivas no MBP 60 (85,7%) amostras de fígado, 42 (60%) materiais cecais e 11 (42,3%) suabes cloacais. Das 114 cepas isoladas, uma (0,9%) foi identificada como *S. Anatum* e 19 (16,6%), como *S. enterica enterica rugosa*; de 94 (82,4%) cepas paratíficas, 53 (46,5%) pertenciam ao sorovar Newport e 41 (35,9%) ao Typhimurium.

Os resultados da PCR demonstraram positividade em 67 (97,1%) aves, sendo positivas 59 (95,2%) no fígado, 46 (74,2%) no material cecal e 10 (43,5%) nos suabes cloacais.

Tendo o indivíduo como referência e não o local amostrado, verificou-se que 63 (91,3%) indivíduos apresentaram resultados positivos nas duas técnicas (Tabela 1). Entretanto, determinou-se que não houve concordância ($k=0,04$) entre os resultados das duas técnicas. Este resultado deve-se ao fato da PCR ter identificado *Salmonella sp.* em 4 (6%) amostras em que não houve isolamento do agente pelo MBP, além da PCR ter sido negativa em duas amostras positivas pela MBP.

Tomando-se a origem da amostra como referência, observou-se concordância na indicação da presença de salmonelas por ambas as técnicas em 51 (86,4%) fígados, 38 (82,6%) conteúdos cecais e oito (80%) suabes cloacais (Tabela 2).

Verificou-se diferença significativa ($p=0,008$) entre os resultados obtidos a partir de amostras cecais e um índice de acordo substancial ($k=0,71$) entre os dois métodos. Já nos resultados dos suabes cloacais, determinou-se o índice de acordo quase perfeito ($k=0,81$) entre os dois métodos.

Observou-se maior número de amostras positivas para *Salmonella sp.* pela PCR quando comparada com o MBP, semelhante ao descrito no diagnóstico de *Salmonella sp.* em suínos (FEDER et al., 2001; CASTAGNA et al., 2005) e aves (OLIVEIRA et al., 2003; FLORES et al., 2003; EYIGOR et al., 2005). Além disso, o protocolo de PCR diminui o tempo necessário para a detecção de *Salmonella* e pode ser facilmente implementado em laboratórios de diagnóstico (OLIVEIRA et al., 2002).

Assim, devido a sua eficiência, custo e tempo significativamente menores do que o MBP enfatiza-se a importância da utilização da PCR no diagnóstico de *Salmonella sp.* em emas.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que a reação em cadeia da polimerase foi capaz de detectar *Salmonella* sp. em maior número de amostras provenientes de emas (*Rhea americana*) quando comparada ao método bacteriológico padrão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAIRA, V. El índice kappa. **Semergen**, v.27, p.247-249, 2000.
- BRASIL, Secretaria de Defesa Agropecuária 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, Secretaria de Defesa Agropecuária Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa conjunta n.2. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Edição número 40. Poder Executivo, Brasília – DF, 25 jan. 2003. Seção 1.
- CASTAGNA, S.M.F. et al. Detecção de *Salmonella* sp. Em amostras de origem suína: comparação entre a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase e o isolamento bacteriano convencional. **Braz. J. Microbiol.**, v. 36, n.4, p. 373-377, out/dez 2005.
- CITES - The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Capturado em 28 out. 2006. **On-line**. Disponível na Internet <http://www.cites.ec.gc.ca/eng/sct0.cfm>.
- COHEN, N. D. et al. Detection of *Salmonella* Enteritidis in feces from poultry using booster polymerase chain reaction and oligonucleotide primers specific for all members of the genus *Salmonella*. **Poultry Sci.**, Champaign, v.73, n.2, p.354-357, 1994.
- EYIGOR, A. et al. *Salmonella* profile in chickens determined by real-time polymerase chain reaction and bacteriology from years 2000 to 2003 in Turkey. **Avian Path.**, v. 34, n. 2, p. 101-105, April 2005.
- FEDER, I. et al. Comparison of cultivation and PCR-Hybridization for detection of *Salmonella* in porcine fecal and water sample. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 7, p. 2477-2484, July 2001.
- FLORES, M. L. et al. Análise da contaminação por *Salmonella* em ovos do tipo colonial através da reação em cadeia da polimerase. **Ciên. Rural**, v.33, n.3, p.553-557, 2003.

- HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de Avestruzes e Outras Ratitas**. Jaboticabal: Funep, 391 p., 2000.
- MICHAEL, G.B. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Braz. J. Microbiol.**, v. 34, p. 138-142, 2003.
- OLIVEIRA, S.D. et al. Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. **Let. Appl. Microbiol.**, v. 36, p. 217-221, 2003.
- OLIVEIRA, S.D. et al. Detection and identification of *Salmonellas* from poultry-related samples by PCR. **Vet. Microbiol.**, v. 87, p. 25-35, 2002.
- PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de Bioestatística**. 2 ed. São Paulo: Thomson, 2004. 506 p.
- PEREIRA, R.A. et al. Detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*): sorologia e técnica microbiológica padrão. **Ciên. Rural**, artigo não submetido, 2007a.
- PEREIRA R.A. et al. Detecção de *Salmonella* Anatum em ema (*Rhea americana*). **Ciên. Rural**, artigo submetido à publicação, 2007b.

Tabela 1 – Comparação de resultados do Método Bacteriológico Padrão (MBP) com os da reação em cadeia pela polimerase (PCR) para detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*), tomando o indivíduo como referência.

PCR	MBP		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	63	4	67
Negativo	2	0	2
Total	65	4	69

Tabela 2 – Percentual de amostras de emas (*Rhea americana*) positivas para *Salmonella* sp. segundo o método utilizado (MBP e PCR) e o tipo de amostra.

Amostras	MBP	PCR
Fígado	85,7% (60/70)	95,2% (59/62)
Conteúdo cecal	60% (42/70)	74,2% (46/62)
Suabe cloacal	42,3% (11/26)	43,5% (10/23)
Indivíduo	94,2% (65/70)	97,1% (67/69)

CAPÍTULO 8

Perfil de Resistência a Antimicrobianos de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de emas (*Rhea americana*) em abatedouro, no Brasil
Resistance Patterns of *Salmonella* Typhimurium Strains Isolated from Greater Rhea (*Rhea americana*) at Slaughterhouse in Brazil

Rosecler Alves Pereira¹ Fernanda Assaife de Mello² Cláudio Wageck Canal³ Verônica Schmidt²

Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária (FAVET), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Av. Bento Gonçalves, 9090 CEP 91.590-900 Porto Alegre/RS. rose@rose.vet.br

²Departamento de Patologia Clínica Veterinária, FAVET/UFRGS.

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, FAVET/UFRGS.

Trabalho formatado segundo normas da revista Ciência Rural – UFSM – Santa Maria – RS

Trabalho não submetido.

Perfil de Resistência a Antimicrobianos de amostras de *Salmonella* Typhimurium
isoladas de emas (*Rhea americana*) em abatedouro, no Brasil
Resistance Patterns of *Salmonella* Typhimurium Strains Isolated from Greater Rhea
(*Rhea americana*) at Slaughterhouse in Brazil

Rosecler Alves Pereira¹ Fernanda Assaife de Mello² Cláudio Wageck Canal³ Verônica
Schmidt²

RESUMO

No presente estudo avaliaram-se a resistência a antimicrobianos de 64 amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de emas (*Rhea americana*) ao abate. O perfil de resistência foi determinado pelo método de difusão em ágar, usando 14 antimicrobianos. Observou-se resistência contra sulfonamida (73,44%), ácido nalidíxico (1,56%) e cefaclor (1,56%). Determinou-se índice MAR 0,0538.

Palavras-chave: *Salmonella* Typhimurium; resistência a antimicrobianos, emas, *Rhea americana*, abatedouro.

ABSTRACT

In this study the antibiotic resistance of 64 *Salmonella* Typhimurium strains isolated from Greater Rhea (*Rhea americana*) at slaughter. Strains were tested for their resistance against 14 antibiotics through the agar diffusion method. *S.* Typhimurium strains showed resistance to sulfonamide (73.44%), nalidixic acid (1.56%) e cefaclor (71.5%). The multiple antibiotic resistance index was 0.0538

Key words: *Salmonella* Typhimurium; antibiotic-resistant, Greater Rhea, *Rhea Americana*, slaughterhouse.

INTRODUÇÃO

A *Salmonella* sp. tem sido um dos principais agentes relacionados a surtos de toxinfecção alimentar em humanos (NADVORNY et al., 2000). Os alimentos de origem animal são apontados como os veículos mais importantes para a salmonelose humana de origem alimentar (JACKSON et al., 1991). Segundo Mores e Zanella (2006), a salmonelose é a segunda etiologia mais importante nas infecções alimentares em humanos e *S.* Typhimurium tem sido um dos principais sorovares isolados (HOFER e REIS, 1994; WALL et al., 1994; DAVIES et al., 1996; SÃO PAULO, 2005).

O desenvolvimento de resistência antimicrobiana tem aumentado vertiginosamente, tornando-se um problema mundial (MUSGROVE et al., 2006), especialmente em microrganismos como *Salmonella* sp., considerando seu potencial risco à saúde pública.

Os produtos de origem animal como fonte de contaminação por *Salmonella* sp. em humanos tem resultado na preocupação em avaliar e controlar a presença desta bactéria em rebanhos de todo o mundo (BLAHA, 2001). O uso de antimicrobianos na produção animal intensiva tem sido acompanhado pela emergência de linhagens resistentes em diversos microrganismos, especialmente na suinocultura (FEDORKA-CRAY et al., 1999) e avicultura (HERNANDEZ et al., 2002). Salientando assim, a importância de estudos em relação à resistência a antimicrobianos na pecuária brasileira tradicional e alternativa.

Vários trabalhos sobre resistência de *Salmonella* sp. em amostras isoladas em humanos e animais de produção tem sido realizado (CASTAGNA et al., 2001; WEIS, et al., 2002; SCHMIDT & CARDOSO, 2003; LÁZARO et al., 2004; ADASKA et al., 2006; ARLET et al., 2006; BOROWSKY et al., 2006). No entanto, o estudo em relação à pesquisa de *Salmonella* e perfil de resistência em criações de animais silvestres comerciais não é comum. Amostras de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas de avestruzes (*Struthio camelus*), com sintomatologia respiratória, apresentaram sensibilidade a amoxiciclina+ácido clavulânico (SAHINDURAN, 2004), porém a determinação do perfil de resistência de bactérias isoladas em ratitas e, principalmente, de emas não é freqüente.

O objetivo do presente estudo foi determinar o perfil de resistência a antimicrobianos de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas em emas (*Rhea americana*) ao abate. Apesar da ampla revisão bibliográfica sobre o assunto, no que consta, este é o primeiro trabalho realizado em relação a esta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram isoladas 64 amostras de *Salmonella* Typhimurium em fígado e ceco de emas (*Rhea americana*) coletadas ao abate no Rio Grande do Sul. O isolamento de *Salmonella* sp. foi feito como descrito por Michael (2003). As colônias confirmadas como *Salmonella* sp. foram mantidas congeladas (-20°C) em caldo Infusão Cérebro e Coração acrescido de 20% de glicerol, até serem remetidas para sorotipagem no Instituto Oswaldo Cruz. Estas amostras foram testadas quanto à resistência a

antimicrobianos. Para tanto, foi utilizado o método de difusão em ágar (BARRY & THORNSBERRY, 1985), sendo testados discos (Cecon) impregnados com os seguintes antimicrobianos: ácido nalidíxico (**na**; 30 µg), amicacina (**a**; 30 µg), amoxicilina/ácido clavulânico (**ac**; 20/10 µg), ampicilina (**ap**; 10 µg), cefaclor (**cf**; 30 µg), ciprofloxacina (**cp**; 5 µg), cloranfenicol (**c**; 30 µg), estreptomicina (**e**; 10 µg), gentamicina (**g**; 10 µg), neomicina (**n**; 30 µg), sulfonamida (**su**; 300 µg), sulfa/trimetoprima (**s**; 5 µg); tetraciclina (**t**; 30 µg) e tobramicina (**tb**; 10 µg).

Para o cálculo do índice de multiresistência (MAR) utilizou-se a fórmula $a/(bxc)$, onde a é o escore de resistência agregada de todas as amostras de *Salmonella* sp. pertencentes ao grupo; b é o número de antimicrobianos testados no estudo e c é o número de amostras de *Salmonella* sp. no grupo testado (KRUMPERMAN, 1983; KASPAR & BURGESS, 1990).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários estudos têm apontado fontes animais como principais reservatórios da *S. Typhimurium* ao homem (BEAUDIN et al., 2002). Neste sentido, o desenvolvimento de resistência bacteriana tem sido uma preocupação crescente (WITTE, 2000). Observaram-se resistência à sulfonamida (73,44%), ácido nalidíxico (1,56%) e cefaclor (1,56%). Todas as amostras foram sensíveis à amicacina, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina, ciprofloxacina, cloranfenicol, estreptomicina, gentamicina, neomicina, sulfa/trimetoprima, tetraciclina e tobramicina. Resistência ao ácido nalidíxico (63,4%) foi observada em amostras de *S. Typhimurium* isoladas em casca de ovos (MUSGROVE et al., 2006). Estudos recentes indicam que o perfil de resistência de salmonelas aos antimicrobianos é sorotipo-dependente (MUSGROVE et al., 2006); entretanto, observa-se perfil de resistência (7,7% ao ácido nalidíxico; 2,2% à cefalotina; 75,8% a sulfonamidas, entre outros) semelhante em amostras de *S. Enteritidis* de origem humana e aviária (OLIVEIRA et al., 2005).

O número de marcadores de resistência concomitantes apresentado pelas amostras foi de no máximo dois (2 amostras), sendo a maioria das amostras (70,3%) resistentes a um antimicrobiano e 17 (26,56%) amostras sensíveis a todos os antimicrobianos testados. Em amostras isoladas de humanos, percentual maior (47,5%) dos isolados foi sensível a todos os antimicrobianos testados (BEAUDIN et al., 2002), indicando que os fatores determinantes de resistência, nestas amostras, não estavam presentes.

O sorovar Typhimurium tem apresentado maior índice de multirresistência entre as salmonelas (HERNADEZ et al., 2002; MUSGROVE et al., 2006). Entretanto, no presente estudo este fato não foi observado, sugerindo que a pressão seletiva dos antimicrobianos exercida sobre as bactérias (HERNADEZ et al., 2002), neste sistema não está presente.

Três fatores têm sido apontados como responsáveis pela emergência de resistência em microrganismos: a associação de genes de resistência com elementos transponíveis (*transposons*); o contato estreito entre bactérias no ambiente; e a pressão de seleção exercida pelo uso de antimicrobianos (SCHWARZ & CHASLUS-DANCLA, 2001; BEAUDIN et al., 2002; COLDHAM et al., 2006). O uso de antimicrobianos na produção animal tem sido apontado como possível causa de emergência de organismos multirresistentes (MATHEW et al., 1999), tendo em vista que a proibição do uso profilático de tetraciclina na ração de suínos, resultou na redução de resistência aos antimicrobianos em amostras de *Salmonella* isoladas de humanos e suínos (D'AOUST et al., 1991). Entretanto, nos sistemas de produção de origem das aves amostradas, o uso de antimicrobianos na ração não é freqüente, sendo sua indicação restrita a casos de doença clínica (PEREIRA et al., 2007). Na cadeia produtiva avícola, a pressão de seleção exercida pelo uso freqüente de antimicrobianos não foi observada na produção de ratitas, especialmente nos sistemas amostrados no presente estudo. Este fato justificaria a baixa freqüência de resistência aos antimicrobianos observada.

KRUMPERMAN (1983) definiu o índice MAR de 0,2 para classificar as amostras de *E. coli* como potenciais reservatórios de determinantes de resistência. Segundo o índice proposto, a média do índice MAR das amostras de *Salmonella* Typhimurium encontrada (0,0538) estaria fora da faixa de risco.

CONCLUSÕES

Amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de emas apresentam baixo perfil de resistência a antimicrobianos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADASKA J.M., et al. Genetic and phenotypic variability among *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from California dairy cattle and humans. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 72, n. 10, p.6632-6637, oct. 2006.
- ALECRIM, W. D., et al. Typhoid fever: relapse due to antimicrobial resistance. Case

report. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 6, p. 661-663, 2002.

ARLET G., et al. *Salmonella* resistant to extended-spectrum cephalosporins: prevalence and epidemiology. **Microbes Infect.**, v. 8, n. 7, p. 1945-1954, jun. 2006.

BARRY, A.L. & THORNSBERRY, C. Susceptibility test: diffusion test procedures. In: LENNETE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER JR, W.J.; SHADOMY, H.J. **Manual of clinical microbiology**, 4 ed. Washington: ASM, 1985. Cap. 102. p.978-987.

BEAUDIN, B.A., et al. Susceptibility of human isolates of *Salmonella* Typhimurium DT104 to antimicrobial agents used in human and veterinary medicine. **Diagnostic Microbiology and Infection Disease**, v. 42, p. 17-20, 2002.

BLAHA, T. Pre-harvest Food Safety as integral part of quality assurance systems in the pork chain from stable to table. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 2001. Leipzig. **Anais...** Leipzig: ADDIX, 2001. p. 7-13.

BOROWSKY, L. M., et al. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicos quaternário de amônio e iodoform. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1474-1479, set./out. 2006.

CASTAGNA S.M.F., et al. Resistência a antimicrobianos de amostras de *Salmonella* sp. isoladas de suínos abatidos no estado do Rio Grande do Sul. **Arq. Fac. Vet. UFRGS.**, v. 29, p. 44-49, 2001.

COLDHAM, N.G., et al. Effect of fluoroquinolone exposure on the proteome of *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, p. 1145-1153, 2006.

CORTEZ, A.L.L., et al. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* sp. isoladas de abatedouros de aves. **Arq. Inst. Biol.**, v. 73, n. 2, p. 157-163, Abr./Jun., 2006.

D'AOUST, J., et al. Antibiotic resistance of agricultural and food-borne *Salmonella* isolates in Canada. **Journal of food Protection**, v.55, p.428-434, 1991.

DAVIS, E.A. & RUSSEL, R.R. The isolation of *Salmonella* Anatum from the pig and sheep in New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v. 8, n. 6, p. 116-117, 1960.

FEDORKA-CRAY, P.J., et al. National antimicrobial resistance monitoring system: results for swine. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 1999, Washington. **Anais...** Washington: ADDIX, 1999. p. 248-249.

GHILARDI, A. C. R., et al. Antimicrobial susceptibility, phage types, and pulsetypes of

- Salmonella* Typhimurium, in São Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 3, p. 281-286, 2006.
- HERNANDEZ, T., et al. Antimicrobial-resistant *Salmonella* enterica serovars isolated from chickens in Spain. **J. Chemother.**, v.14, n. 4, p. 346-350, 2002.
- HOFER, E. & REIS, E.M.F DOS. *Salmonella* serovars in food poisoning episodes recorded in Brazil from 1992 to 1991. **Ver. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 36, n. 1, p. 7-9, 1994.
- JACKSON, G.J., et al. Control of salmonellosis and similar foodborne infections. **Food Control**, v. 2, p. 26-34, 1991.
- KASPAR, C.W. & BURGESS, J.L. Antibiotic resistance Indexing of *Escherichia coli* to identify sources of fecal contamination in water. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v. 36, p. 891 - 894, 1990.
- KRUMPERMAN, P. H. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.46, n.1, p. 165 - 170, 1983.
- LAZARO, N. S., et al. Padrão de susceptibilidade a antimicrobianos e perfil plasmidial em *Salmonella* Muenster isoladas de suínos e do ambiente de abatedouros. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 24, n.2, p.65-70, abr./jun 2004.
- MATHEW, A.G., et al. Multiple antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* isolates from swine farms. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v. 65, n.6, p. 2770-2772, 1999.
- MICHAEL, G.B. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Braz. J. Microbiol.**, v. 34, p. 138-142, 2003.
- MORES, N. & ZANELLA, J.C. Perfil sanitário da suinocultura no Brasil. **On-line**. Disponível em: <<http://www.nordeste rural.com.br/dev/nordeste rural/matler.asp?newsId=3402>>. Acesso em: 01 set. 2006.
- MUSGROVE, M.T., et al. Antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Escherichia coli* isolated from commercial shell eggs. **Poult. Sci.**, v. 85, n. 9, p. 1665-1669, 2006.
- NADVORNY, A., et al. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul, em 2000. **Acta Sci. Vet.**, v. 32, p. 47-51, 2004.
- OLIVEIRA, S.D., et al. Antimicrobial resistance in *Salmonella* enteritidis strains isolated from broiler carcasses, food, human and poultry-related samples. **International**

Journal of Food Microbiology, v. 97, p. 297-305, 2005.

PEREIRA, R.A. et al. Detecção de *Salmonella* sp. em emas (*Rhea americana*): sorologia e técnica microbiológica padrão. **Ciên. Rural**, artigo não submetido, 2007.

REIS, R.B., et al. *Salmonella* spp. Em produtos cárneos comercializados no município de Cuiabá-MT. Avaliação da metodologia de pesquisa. Modelos de resistência a drogas antimicrobianas. **Ciência e Tecnologia**, v.15, n.1, p.74-78, 1995.

SAHINDURAN, S. Isolation of **Escherichia coli** and **Staphylococcus aureus** from ostriches with conjunctivitis and respiratory disease. **Revue Méd. Vét.**, v. 155, n. 3, p. 167-169, 2004.

SÃO PAULO, Toxinfecção alimentar por *Salmonella* em um evento científico, São Paulo, 2004, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar do CVE/CCD-SES, **Rev. S. Pub.**,v. 39, n. 3, 2005.

SCHWARZ, S. & CHARLU-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. **Vet. Res.**, Cambridge, v. 32, n. ¾, p. 201-226, 2001.

WALL, P.G., et al. A case control study of infection with an epidemic strain of multiresistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in England and Wales. **Commun. Dis. Rep. CDR. Rev.**, v. 4, n. 11, p. 130-135, 1994.

WEISS, L. H. N., et al. Ocorrência de *Salmonella* sp em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 22, n. 3 , p. 104-108, 2002

WITTE, W. Ecological impact of antibiotic use in animals on different complex microflora: environment. **Int. J. Antim. Ag.**, Amsterdam, v. 14, p. 321-325, 2000.

CAPÍTULO 9

DISCUSSÃO GERAL

9 DISCUSSÃO GERAL

A rheacultura está em constante expansão e surge como uma nova alternativa para a pecuária. No entanto, publicações na área são escassas comparando-se com espécies domésticas, tanto em nível de manejo e reprodução quanto sobre o status sanitário dos rebanhos existentes.

Este trabalho buscou determinar a ocorrência de *Salmonella* sp. na rheacultura através de exames bacteriológicos, reação em cadeia pela polimerase e exames sorológicos. Em um primeiro momento realizou-se exames bacteriológicos onde, de um total de 70 aves 65 (94,2%) foram positivas para *Salmonella* sp., destas, 60 (85,7%) amostras de fígado, 42 (60%) conteúdo cecal e 11 (42,3%) suabe cloacal.

Os resultados da PCR demonstraram positividade em 67 (97,1%) aves, sendo positivas 59 (95,2%) no fígado, 46 (74,2%) no conteúdo cecal e 10 (43,5%) nos suabes cloacais. Os resultados obtidos demonstram que a reação em cadeia da polimerase detectou *Salmonella* sp. em maior número de amostras provenientes de emas, quando comparada ao método bacteriológico padrão, semelhante aos encontrados em outras espécies (FEDER et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2003; FLORES et al., 2003; CASTAGNA et al., 2005; EYIGOR et al., 2005).

Tendo em vista a elevada frequência de animais portadores de salmonelas em todos os lotes amostrados, buscou-se determinar as possíveis fontes de contaminação às aves. Para tanto, enviou-se um questionário epidemiológico (ANEXO I) aos 18 criadores filiados a Cooperativa a fim de determinar o perfil das propriedades. Apenas oito produtores retornaram o questionário preenchido, sendo que destes apenas dois tiveram aves abatidas neste experimento, prejudicando a análise destes resultados

Mesmo assim, através de relatos de criadores responsáveis pela cooperativa, podemos ter uma idéia do perfil epidemiológico destas propriedades. Segundo os proprietários as granjas possuíam outros tipos de criações como: bovinos, galinhas caipiras, perus, ovinos, suínos, caprinos e equinos. Estas criações podem servir como fonte de infecção de *Salmonella* para as emas, pois relatos de isolamento deste microrganismo nestas espécies são comuns (JONES, 2000; BERCHIERI JR., 2000; GAST, 2003).

Ainda, com base nas informações dos produtores, outra possível fonte de

infecção poderia ser o caminhão de transporte, uma vez que nestes haviam sido previamente transportadas outras espécies de animais, tais como eqüinos e bovinos.

A infecção poderia, ainda, ter ocorrido no frigorífico. Este, normalmente abate suínos e a infecção nas baias de espera já foi comprovada (ROSTAGNO et al., 2003). As aves foram alocadas em baias de espera sendo, inclusive, colocados lotes de origem distinta em uma baia conjunta. O tempo de permanência nas baias de espera variou de 12 a 24 horas e não se obteve informações quanto ao manejo de limpeza e desinfecção destes locais.

Considerando que através da caracterização do sistema produtivo não foi possível estabelecer a fonte de infecção das aves, realizou-se exame sorológico para verificar a presença de anticorpos para *Salmonella* nos soros das aves coletadas. Todas as 70 aves já haviam sido testadas sorologicamente com antígeno comercial corado para *Salmonella* Pullorum, não sendo verificada sororeatividade. Este antígeno identifica aves infectadas pelos sorovares Pullorum, Galinarum e Enteritidis, devido ao compartilhamento do antígeno somático do Grupo D (BUCHALA, et al. 2006). No entanto, o antígeno comercial não identifica aves infectadas com *Salmonella* Typhimurium e outras salmonelas paratíficas.

Através da utilização de soros de suínos pré-testados por ELISA indireto (KICH et al. 2003) padronizou-se um método de Soroaglutinação Rápida (SAR) utilizando-se uma cepa de *S. Typhimurium* isolada de uma ave desse experimento (SAR-ST). Determinou-se que a SAR-ST possui altas sensibilidade e especificidade (96,7%), indicando que este é um teste eficaz para a detecção de anticorpos contra este patógeno em soro.

Considerando-se estes resultados, realizou-se a SAR-ST no soro das 66 aves e verificou-se que 56,1% (37/66) das aves testadas foram positivas, tendo sido anteriormente isolada *Salmonella* em 35 destes indivíduos. Além disso, a maioria das aves com isolamento bacteriano (73%) apresentou resultado sorológico negativo indicando que a infecção por salmonela nas aves ocorreu em período inferior ao necessário para que ocorresse a soroconversão.

Segundo a literatura, o período necessário para a soroconversão, em aves e animais, varia de 10 dias a duas semanas após a infecção, dependendo da população bacteriana presente (VAN DER WOLF et al., 2001a; VAN DER WOLF et al., 2001b; VAN DER GAAG et al., 2004; PRAKASH et al., 2005). Assim, a partir destes dados é improvável que a contaminação tenha ocorrido nas propriedades. No entanto, novos

trabalhos deverão ser realizados para a comprovação desta hipótese.

A presença de indivíduos com isolamento de salmonela no fígado e não reatividade sorológica pode ser devido ao fato de que há casos em que ocorre apenas a contaminação, mas não a infecção do indivíduo, não ocorrendo à absorção do microrganismo, mas sim sua excreção pelas fezes, sendo chamadas salmonelas de trânsito (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 ocorre de modo intermitente (BARROW & LOWELL, 1991). Além disso, a presença de *Salmonella* sp. em vísceras pode ser decorrente do seqüestro da bactéria por células do sistema retículo-endotelial e não à septicemia BARROW et al., 1987).

As 114 linhagens de salmonelas isoladas foram identificadas como *S. enterica enterica* rugosa (16,6%), *S. Typhimurium* (35,9%), *S. Newport* (46,5%) e *S. Anatum* (0,9%). Estes sorovares são importantes para a saúde pública e associados a casos de salmonelose em animais e seres humanos.

Não foram detectados os sorovares Gallinarum, Pullorum e Enteritidis no presente estudo, tanto em exames sorológicos quanto no isolamento bacteriano. Resultados semelhantes foram encontrados em emas e outras ratitas (LEY et. al., 2000; FLORES et al., 2003). Entretanto, o sorovar Enteritidis já foi isolado em avestruzes (HOSZOWSKI & WASYL, 2002). Hofer et al. (1997) demonstraram que os sorovares Gallinarum e Pullorum ainda possuem grande importância na avicultura brasileira, uma vez que a circulação destes sorovares nunca deixou de existir nos trinta anos de observação (1962 a 1991) demonstrando, com isso, uma situação endêmica, tendo surtos epidêmicos frequentes. Gast (2003) apontou a América Latina como uma das áreas no mundo em que os surtos de pulorose e tifo aviário aumentaram, drasticamente.

Embora os sorovares Gallinarum e Pullorum não tenham sido isolados de avestruzes (VERWOERD, 2000) ou em outras espécies de ratitas (TULLY & SHANE, 1993), já foram isolados em aves silvestres (WILSON & MACDONALD, 1967), sendo que a ocorrência nestas espécies está associada à doença em criações comerciais de aves domésticas (OKOH & ONAZI, 1980; TULLY & SHANE, 1993). Tendo em vista que as granjas amostradas não possuíam criação comercial de aves domésticas, a não detecção de aves portadoras destes sorovares seria esperada, uma vez que, a infecção experimental de emus, com 3 a 6 meses de idade, levou a soroconversão (TULLY & SHANE, 1993). No entanto, BUCHALA et al. (2006) verificaram 16,5%

soroaglutinação com antígeno SP comercial em 16,5% de galinhas de criação de “fundo de quintal” próximo a matrizeiros, em São Paulo. Demonstrando, assim, uma possível fonte de infecção destes patógenos a outras criações.

Sessenta e quatro amostras isoladas neste trabalho e confirmadas como *S. Typhimurium* foram testadas quanto à resistência a antimicrobianos. Observaram-se resistência à sulfonamida (73,44%), ácido nalidíxico (1,56%) e cefaclor (1,56%). Todas as amostras foram sensíveis à amicacina, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina, ciprofloxacina, cloranfenicol, estreptomicina, gentamicina, neomicina, sulfa/trimetoprima, tetraciclina e tobramicina.

O sorovar *Typhimurium* tem apresentado maior índice de multirresistência entre as salmonelas (HERNADEZ et al., 2002; MUSGROVE et al., 2006). Entretanto, este fato não foi observado, sugerindo que a pressão seletiva dos antimicrobianos exercida sobre as bactérias (HERNADEZ et al., 2002), neste sistema não está presente. Além disso, a terapia preventiva com antimicrobianos não é uma prática comum na Rheacultura, o que poderia indicar que as *Salmonellas Typhimurium* isoladas neste experimento não tenham origem nos suínos. No entanto, não é possível confirmar esta hipótese apenas com os dados apresentados.

Através dos dados de detecção de *Salmonella* e soroconversão não foi possível identificar o local e/ou fonte de infecção. Os locais possíveis de ocorrência de infecção são: a propriedade, o caminhão de transporte e as baias de espera do frigorífico. Novos trabalhos devem ser feitos em relação à identificação destas possíveis fontes de infecção, para entender a importância da salmonela na cadeia produtiva de emas e desta espécie na cadeia epidemiológica das salmonelas.

Para minimizar os riscos de contaminação das carcaças, o ideal é a realização de abate em frigorífico próprio de emas. No entanto, com base na quantidade da produção atual isto se torna inviável economicamente.

A detecção de *Salmonella* sp. pelos métodos bacteriológicos e sorológicos em amostras de emas deve ser considerada como importante, pois as aves testadas não apresentavam nenhuma manifestação clínica de salmonelose e podem ser importantes na toxinfecções alimentares por salmonelas, uma vez que estas aves destinam-se ao consumo humano

Em relação às emas, conste a ampla revisão literária este trabalho é pioneiro e procura determinar a importância em relação à monitoria de doenças na pecuária alternativa.

CAPITULO 10

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAIRA, V. El índice kappa. **Semergen**, v. 27, p. 247-249, 2000.

ABREY, A.N.S. In: FOWLER, M.E. **Zôo and Wild Animal Medicine: current therapy 3**, 3th ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 163-166, 1993.

ADASKA J.M.; SILVA A.J.; BERGE A.C.; SISCHO W.M. Genetic and phenotypic variability among *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates from California dairy cattle and humans. **Appl. Environ. Microbiol**, v. 72, n. 10, p.6632-6637, oct. 2006.

ADESIYUN, A.A.; SEEPERSADSINGH, N.; INDER, L.; CAESAR, K. Some bacterial enteropathogens in wildlife and racing pigeons from Trinidad. **J. Wildl. Dis.**, v. 34, n. 1, p. 73-80, jan. 1998.

ALECRIM, W. D.; LOUREIRO, A. C. S. P.; MORAES, R. S.; MONTE, R.L.; LACERDA, M.V.G. Typhoid fever: relapse due to antimicrobial resistance. Case report. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 6, p. 661-663, 2002.

ALLGAYER, M.C.; MORAES, H.L.S; ANDELIERI, S.L.; PEREIRA, R.A; MARIA, J.L; SALLE, F.O.; KELLERMANN, A.; SALLE, C.T.P.. Avaliação Sorológica para Verificação da Infecção Natural de *Salmonella Pullorum* em Psitacídeos do Criadouro Asas do Brasil no Rio Grande do Sul In: 2 ENCONTRO DE ZOOLOGICOS DO MERCOSUL - 26 CONGRESSO DA SOCIEDADE DE ZOOLOGICOS DO BRASIL, Porto Alegre, **Anais...** p. 128-128, 2002a.

ALLGAYER, M.C.; OLIVEIRA, S.D.; PEREIRA, R.A.; MARIA, J.L.; RODENBUSCH, C.R.; LIMA-ROSA, C.A.V.; LEÃO, J.A.; CANAL, C.W.. Detecção e Identificação de *Salmonella* em Araras através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) In: 2 ENCONTRO DE ZOOLOGICOS DO MERCOSUL - 26 CONGRESSO

DA SOCIEDADE DE ZOOLOGICOS DO BRASIL, Porto Alegre, **Anais...** p. 129-129, 2002b.

ANAND, C.M.; FINLAYSON, M.C.; GARSON, J.L.; LARSON, M.L. An institutional outbreak of Salmonellosis due to lactose-fermenting *Salmonella* Newport. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 74, n. 5, p. 657-660, 1980.

ANDREATTI FILHO, R.L. Sorovares de *Salmonella* isolados de materiais avícolas no período de 1994 à 1999. **Rev. Educ. Contin. CRMV – SP**, v. 4, n. 3, p. 90-101, 2001.

ARGAWAL, D.S.; BHATIA, S.L.; NATARAJAN, R. **An outbreak of Salmonella anatum infection in a hospital in Delhi. Indian J. Med. Res.**, v. 58, n.1, p.20-23, 1970.

ARLET G.; BARRETT T.J.; BUTAYE P.; CLOECKAERT A.; MULVEY M.R.; WHITE D.G. *Salmonella* resistant to extended-spectrum cephalosporins: prevalence and epidemiology. **Microbes Infect.**, v. 8, n. 7, p. 1945-1954, jun. 2006.

BACK, A.; BELTRÃO, N.; LEÃO, J.A. Monitoria e Controle de Salmonela: aspectos práticos. In:VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura, 2006, Chapecó(SC). **Anais...**Chapecó: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários, p. 95-103, 2006.

BAILEY, J.S.; COX, A. C.; BLANKENSHIP, L.C.. A comparison of an enzyme immunoassay, DNA hybridization, antibody immobilization, and conventional methods for recovery of naturally occurring *Salmonella* from processed broiler carcasses. **Journal of Food Protection**. Annes, v.54, n.5, p.354-356, 1991.

BANDEIRA, R. Isolamento e caracterização de *Salmonella* sp. em suínos ao abate e em cortes de pernil. 2003. 92 f. **Dissertação de Mestrado** – Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

BARROW, P.A.; HUGGINS, M.B; LOVELL, M.A.; SIMPSON, J.M. Observations on the pathogenesis of experimental *Salmonella* Typhimurium infection in chickens. **Veterinary Science**, v. 42, p.194-199, 1987

BARROW, P.A.; DUCHET-SUCHAUX, M. *Salmonella* carriage and the carrier state. **Proceedings of *Salmonella* and salmonellosis'97 Symposium**. Plougragan France. p. 241-249, 1997.

BARROW, P.A.; SIMPSON, J.M; LOVELL, M.A. Intestinal colonization in the chicken by food-poisoning *Salmonella* serotypes; microbial characteristics associated with faecal excretion. **Avian Pathology**, v.17, p. 571- 588, 1988.

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

BARRY, A.L., THORNSBERRY, C. Susceptibility test: diffusion test procedures. In: LENNETE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER JR, W.J.; SHADOMY, H.J. **Manual of clinical microbiology**, 4 ed. Washington: ASM, 1985. Cap. 102. p.978-987.

BAÚ, A.C.; CARVALHAL, J.B.; ALEIXO, J.A.G. Prevalência de *Salmonella* em produtos de frangos e ovos de galinha comercializados em Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 31, n. 2, 2001.

BEAUDIN, B.A.; BROSNIKOFF, C.A.; GRIMSRUD, K.M.; HEFFNER, T.M.; RENNIE, R.P.; TALBOT, J.A. Susceptibility of human isolates of *Salmonella* Typhimurium DT 104 to antimicrobial agents used in human and veterinary medicine. **Diagnostic Microbiology and Infection Disease**, v. 42, p. 17-20, 2002.

BERCHIERI JUNIOR, A. Salmoneloses Aviárias. In: BERCHIERI JUNIOR, A; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, v. 1, p. 185-196, 2000.

BERENDS, B.R.; KNAPEN, F.; MOSSEL, D.A.A.; BURT, S.A.; SNIJDERS, J.M.A. Impact on human health of *Salmonella* spp. on pork in the Netherlands and the anticipated effects of some currently proposed control strategies. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 44, n. 3, p. 219-229, 1998.

BERSOT, L.C. *Salmonella* no Brasil: sua importância no abate de aves. **V Simpósio de Sanidade Avícola da UFSM**, Santa Maria, 10-11 de agosto de 2006, p. 90-94, 2006.

BESSA, M.C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos do Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 24, n. 2, 2004.

BLACKBURN, C.W. Rapid and alternative methods for the detection of salmonellas in foods. A review. **Journal of Applied Bacteriology**, v.75, p.199-214, 1993.

BLAHA, T. Pre-harvest Food Safety as integral part of quality assurance systems in the pork chain from stable to table. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 2001. Leipzig. **Anais...** Leipzig: ADDIX, 2001. p. 7-13.

BLASER, M.J.; NEWMAN, L.S. A review of human salmonellosis: infective dose. **Reviews of Infectious Diseases**. v. 4, p.1096-1106, 1982.

BORCH E.; NESBAKKEN T.; CHRISTENSEN, H. Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 30, n. 1/2, p. 9-25, 1996.

BOROWSKY, L. M., BESSA, M. C., CARDOSO, M.; AVANCINI, C.A.M. Sensibilidade e resistência de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos abatidos no Rio Grande do Sul/Brasil frente aos desinfetantes químicos quaternário de amônio e iodoform. **Ciência Rural**, v. 36, n.5, p.1474-1479, set./out. 2006.

BRASIL, Secretaria de Defesa Agropecuária 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, Secretaria de Defesa Agropecuária Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa conjunta n. 2. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Edição número 40. Poder Executivo, Brasília – DF, 25 jan. 2003. Seção 1.

BRASIL, Ministério da Saúde, Validade de instrumento diagnóstico (Anexo 2). **Online**. Capturado em: 15 set. 2006. Disponível em: http://www.saude.sc.gov.br/gestores/sala_de_leitura/saude_e_cidadania/ed_07/pdf/09_02.pdf.

BRITTINGHAM, M.C.; TEMPLE, S.A.; DUNCAN, R.M. A survey of the prevalence of selected bacteria in wild birds. **Journal of Wildlife Disease**, v. 24, p. 299-307, 1988.

BRUNING, D.F.; DOLENSEK, E.P. Ratites (Struthioniformes, Casuariiformes, Rheiformes, Tinamiformes and Apterygiformes). Chapter 22. In: FOWLER, M.E. **Zoo and Wild Animal Medicine**, Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 277-292, 1986

BUCHALA, F.G.; ISHIZUKA, M.M.; MATHIAS, L.A.; BERCHIERI JR., A.; CASTRO, A.G.M.; CARDOSO, A.L.S.P.; TESSARI, E.N.C.; KANASHIRO, A.M.I. Ocorrência de reação sorológica contra *Salmonella* Pullorum em aves de “fundo de quintal” do Estado de São Paulo, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, v.73, n.1, p.1-5, jan./mar., 2006.

BUTLER, C.E.; MARROW, C.T.; MILLER, W.L.; EVANS, R.D. **Salmonella anatum: report of an Alaskan outbreak. Alaska Med.**, v. 10, n. 3, p. 145-147, 1968.

CANAL, C.W.; LEÃO, J.A.; ROCHA, S.L.S.; MACAGNAN, M.; LIMA-ROSA, C.A.V; OLIVEIRA, S.D.; BACK, A. Isolation and characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* from chickens in Brazil. **Res. Vet. Sci.**, v. 78, p. 225-230, 2005.

CARPENTER, J.; GENTZ, E. Zoonotic Diseases of Avian Origin. In: ALTMAN, R.; CLUBB, S.; DORRESTEIN, G.; QUESENBERY, K. **Avian Medicine and Surgery**, USA: W.B. Saunders Co., p.350-363, 1997.

CASTAGNA, S.M.F.; BESSA, M.C.; CARVALHO, D.A; CARDOSO, M.; COSTA, M. Resistência a antimicrobianos de amostras de *Salmonella* sp. isoladas de suínos abatidos no estado do Rio Grande do Sul. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v. 29, p. 44-49, 2001.

CASTAGNA, S.M.F.; MULLER, M.; MACAGNAN, M.; RODENBUSCH, C.R.; CANAL, C.W.; CARDOSO, M. Detecção de *Salmonella* sp. em amostras de origem suína: comparação entre a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase e o isolamento bacteriano convencional. **Braz. J. Microbiol.**, v. 36, n.4, p. 373-377, out/dez 2005.

CHIEH SUNG, M.D; FOURNIER, M.D.; SIANG-YUEN CHANG, M.D. Systemic infection with *Salmonella* Anatum – Report of first case. **Pediatrics**, v. 4, n. 2, p. 249-253, Aug. 1949.

CITES - The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Capturado em 28 out. 2006. **On-line**. Disponível na Internet http://www.cites.ec.gc.ca/eng/sct0/index_e.cfm.

CLEGG, F.G.; CHIEJINA, S.N.; DUNCAN, A.L.; KAY, R.N.; WRAY, C. Outbreaks of *Salmonella* Newport infection in dairy herds and their relationship to management and contamination of the environment. **Vet. Rec.**, v. 112, n. 25, p. 580-584, 1983.

COHEN, N. D.; MCGRUDER, E.D.; NEIBERGS, H.L.; BEHLE, R.W.; WALLIS, D.E.; HARGIS, B.M. Detection of *Salmonella* Enteritidis in feces from poultry using booster polymerase chain reaction and oligonucleotide primers specific for all members of the genus *Salmonella*. **Poultry Sci.**, Champaign, v.73, n.2, p.354-357, 1994.

COLDHAM, N.G; RANDALL, L.P.; PIDDOCK, L.J.V.; WOODWORD, M.J. Effect of fluoroquinolone exposure on the proteome of *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 58, p. 1145-1153, 2006.

CORTEZ, A.L.L.; CARVALHO, A.C. de F.B.; IKUNO, A.A.; BÜRGER, K.P.; VIDAL-MARTINS, A.M.C. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* sp. isoladas de abatedouros de aves. **Arq. Inst. Biol.**, v. 73, n. 2, p. 157-163, Abr./Jun., 2006.

CUBAS, Z.S. Natural diseases of free-ranging birds in South America. In: FOWLER, M.E. **Zoo & wild animal medicine: current therapy 3**. Colorado: Saunders Company, 1993. p.166-172.

D'ALTERIO, G.L.; BAZELEY, K.J.; PEARSON, G.R.; JONES, J.R.; JOSE, M.; WOODWARD, M.J. Meningitis associated with *Salmonella* Newport in a neonatal alpaca (*Lama pacos*) in the United Kingdom, **Vet. Rec.**, v.152, p. 56-57, 2003.

D'AOUST, J.; SEWELL, A.M.; DAILEY, E.; GRECO, P. Antibiotic resistance of agricultural and food-borne *Salmonella* isolates in Canada. **Journal of food Protection**, v.55, p.428-434, 1991.

DAVIS, E.A.; RUSSEL, R.R. The isolation of *Salmonella* Anatum from the pig and sheep in New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v. 8, n. 6, p. 116-117, 1960.

DAVIDSON, W.R.; NETTLES, V.F.; COUVILLION, C.E.; HOWERTH, E.W. Diseases diagnosed in wild turkeys (*Meleagris gallopavo*) of the southeastern united states. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 21, n.4, p.386-390, 1985.

DAVIES, A.; O'NEILL, P.; TOWERS, L.; COOKE, M. An outbreak of *Salmonella* typhimurium DT104 food poisoning associated with eating beef. **Commun. Dis. Rep. CDR. Rev.**, v. 11, n. 6, p. 159-62, 1996.

DECHET, A.; SCALLA,, E.; GENSHEIMER, K.; HOEKSTRA, R.; GUNDERMAN-KING, J.; LOCKETT, J.; WRIGLEY, D.; CHEGE, W.; SOBEL, J. Outbreak of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Definitive Type 104 Infection Linked to Commercial Ground Beef, Northeastern United States, 2003–2004. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, p. 747–752, 2006.

DI GUARDO, G.; FONTANELLI, G.; PANFILI, G.; CONDOLEO, R.; DE GROSSI, L.; BROZZI, A.M.; BOZZANO, A.I. Occurrence of *Salmonella* in swine in the Latium Region (Central Italy) from 1980 to 1989: a retrospective study. **Vet. Quarterly**, v. 14, n. 2, p. 62-65, 1992.

DORRESTEIN, G.M. Bacteriology. In: ALTMAN, R.B.; CLUBB, S.L.; DORRESTEIN, G.M.; QUESENBERRY, K. **Avian medicine and surgery**. Philadelphia: Saunders Company, p. 255-280, 1997.

DOYLE, M.P.; CLIVER, D.O. *Salmonella*. In: CLIVER, D.O. **Foodborne diseases**. San Diego: Academic Press, p.185-204, 1990.

ESPIÉ, E.; DE VALK, H.; VAILLANT, V.; QUELQUEJEU, N.; LE QUERREC, F.; WEILL, F.X. An outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections linked to the consumption of imported horse meat in France. **Epidemiol. Infect.**, v. 133, n. 2, p. 373-376, 2005.

EYIGOR, A.; GONCAGUL, G.; CARLI, K.T. *Salmonella* profile in chickens determined by real-time polymerase chain reaction and bacteriology from years 2000 to 2003 in Turkey. **Avian Path.**, v. 34, n. 2, p. 101-105, 2005.

FEDER, I.; NIETFELD, J.C.; GALLAND, J.; YEARY, T.; SARGEANT, J.M.; OBERST, R.; TAMPLIN, M.L.; LUCHANSKY, J.B. Comparison of cultivation and PCR-Hybridization for detection of *Salmonella* in porcine fecal and water sample. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 7, p. 2477-2484, 2001.

FEDORKA-CRAY, P.J.; PETERSEN, K.E.; DARGATZ, D. A. National antimicrobial resistance monitoring system: results for swine. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF *SALMONELLA* IN PORK, 1999, Washington. **Anais...** Washington: ADDIX, p. 248-249, 1999.

FERDMAN, M.M.; HARRIS, I.T.; TORREMORELL, M.; WILT, V.M.; HARRIS, D.L. 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**, v. 227, n 3, p.460-466, 2005.

FLAMER, K. In: FOWLER, M.E.; MILLER, R.E. **Zôo and Wild Animal Medicine: current therapy 4**, 4th ed., Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 152-153, 1999.

FLETCHER, R.H.; FLETCHER, S.W.; WAGNER, E.H. **Epidemiologia clínica: elementos essenciais**. 3 ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 281 p., 1996.

FLORES, M. L.; NASCIMENTO, V.P.; KADER, I.I.T.A.; CARDOSO, M.; SANTOS, L.R.; LOPES, R.F.F.; WALD, V.B.; BARBOSA, T.M.C. Análise da contaminação por *Salmonella* em ovos do tipo colonial através da reação em cadeia da polimerase. **Ciência Rural**, v.33, n.3, p.553-557, 2003.

FONTAINE, R.E.; ARNON, S.; MARTIN, W.T.; VERNON JR., T.M.; GANGAROSA, E.J.; FARMER III, J.J.; MORAN, A.B.; SILLIKER, J.H.; DECKER, D.L. Raw Hamburger: an interstate common source of human salmonellosis. **American Journal of Epidemiology**, v. 107, n.1, p. 36-45, 1978.

GÁLAN, J.E.; GINNOCHIO, C.; COSTEAS, P. Molecular and funcional characterization of the *Salmonella* invasion gene *invA*: homology of *invA* to members of a new protein family. **Journal of Bacteriology**. v. 174, n. 13, p. 4338-4339, 1992.

GANTER, M.; MULLER, K.; TEGELER, R.; FRIEDEL, K. Prevalence of *Salmonella* in finishing pigs of Northwest Germany. **15th IPVS Congress**, Birmingham, England, p. 70, 1998.

GARCIA, R.F.G.; SCHÖNHOFEN, C.A. Salmonelose em aves marinhas na Bahia de Paranaguá. **Arq. Biol. Tecnol.**, v. 25, n. 2, p. 237-242, 1982.

GAST, R.K. *Salmonella* infections. In: SAIF, Y.M. **Diseases of poultry**. 11. ed. Iowa: Iowa State University Press, CD-Rom, p. 567-614, 2003.

GERLACH, H. Bacteria. In: RITCHIE, B.W.; HARRISON, G.J.; HARRISON, L.R. **Avian medicine: principles and application**. Florida: Wingers Publishing, p. 953-956, 1994.

GHILARDI, A. C. R.; TAVECHIO, A. T.; FERNANDES, S. A. Antimicrobial susceptibility, phage types, and pulsetypes of *Salmonella* Typhimurium, in São Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 3, p. 281-286, 2006.

GIANNONI, M. L. **Emas e Avestruzes – uma alternativa para o produtor rural**. Jaboticabal: FUNEP, 49p, 1996.

GILLESPIE, I. Outbreak of *Salmonella* Newport infection in England, Scotland, and Northern Ireland: association with the consumption of lettuce. **Commun. Dis. Rep. CDR. Weekly**, v. 14, n. 41, 2004.

GIOSSA, G.; TRENCHI, H.; CASTRO RAMOS, M.; MORGADES, D.; DE SOUZA, G.; CASTRO, O.; CASAS, L.; SALAZAR, M.; PERDOMO, L.; VENZAL, J. Hallazgos bacteriológicos y parasitológicos en una faena de ñandú (*Rhea americana*). **Veterinaria**, v. 39, n. 154, p. 11-16, 2004.

GOODCHILD, W.M.; TUCKER, J.F. *Salmonellae* in British wild birds and their transfer to domestic fowl. **British Veterinary Journal**, v. 124, p. 95-101, 1968.

GUPTA, A.; FONTANA, J.; CROWE, C.; BOLSTORFF, B.; STOUT, A.; DUYNE, S.V.; HOEKSTRA, M. P.; WHICHARD, J. M.; BARRETT, T.J.; ANGULO, F.J. Emergence of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Newport Infections Resistant to Expanded-Spectrum Cephalosporins in the United States. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 188, p. 1707–1716, 2003.

GUITIERREZ-COGCO, L.; MONTIEL-VAZQUEZ, E.; AGUILERA-PEREZ, P.; GONZALEZ-ANDRADE, M.C. *Salmonella* serotypes isolated in Mexico's health services. **Sal. Pub. Mex.**, v. 42, n. 6, p. 490-495, Nov./Dec. 2000.

GYLSTORFF, I.; GRIMM, F. **Vogelkrankheiten**. Stuttgart: Eugen Ulmer GmbH & Co; p.296-297, 1987.

HARTMANN, F.A.; CALLAN, R.J.; McGUIRK, S.M.; WEST, S.E. Control of an outbreak of salmonellosis caused by drug-resistant *Salmonella* Anatum in horses at a veterinary hospital and measures to prevent future infections. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 209, p. 629-631, 1996.

HEINITZ, M.L.; RUBLE, R.D.; WAGNER, D.E.; TATINI, S.R. Incidence of *Salmonella* in fish and seafood. **J. Food Prot.**, v. 63, n. 5, p. 579-592, 2000.

HERNANDEZ, T.; RODRIGUEZ-ALVAREZ, C.; AREVALO, M.P.; TORRES, A.; SIERRA, A.; ARIAS, A. Antimicrobial-resistant *Salmonella* enterica serovars isolated from chickens in Spain. **J. Chemother.**, v.14, n. 4, p. 346-350, 2002.

HIGGINS, R. Studies on the dissemination of *Salmonella* in nine broiler flocks. **Avian Diseases**. v. 26, p. 26-33, 1981.

HILTON, A.C.; WILLIS, R.J.; HICKIE, S.J. Isolation of *Salmonella* from urban wild brown rats (*Rattus norvegicus*) in the West Midlands, UK. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 12, n. 2, p. 163-168, 2002.

HOFER, E.; REIS, E.M.F. *Salmonella* serovars in food poisoning episodes recorded in Brazil from 1991 to 1992. **Ver. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 36, n. 1, p. 7-9, 1994.

HOFER, E.; SILVA FILHO, S.J.; REIS, E.M.F. Prevalência de sorovares de *Salmonella* isolados de aves no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v.17, n. 2, p.55-62, abr./jun. 1997.

HOFER, E.; SILVA, S.J. Sorovares de *Salmonella* isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 18, n. 1, Jan./Mar. 1998.

HOFER, E.; ZAMORA, M.R.N.; LOPES, A.E.; MOURA, A.M.C.; ARAÚJO, H.L.; LEITE, J.D.D.; LEITE, M.D.D.; SILVA FILHO, S.J. *Salmonella* serovars in meat of horses slaughtered in northeastern Brazil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 20, n. 2, p.80-84, Apr./Jun. 2000.

HORWITZ, M. A.; POLLARD, R.A.; MERSON, M. H.; MARTIN, S.M. A large outbreak of foodborne salmonellosis on the Navajo National Indian Reservation, epidemiology and secondary transmission. **Am. J. Public Health**, v. 67, p.1071-1076, 1977.

HOSKEN, F.M.; SILVEIRA, A.C. **Criação de Emas**. Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 2003, 362 p.

HOSZOWSKI, A.; WASYL, D. *Salmonella* serovars found in animals and feeding stuffs in 2001 and their antimicrobial resistance. **Bull. Vet. Inst. Pulawy**, v. 46, p. 165-178, 2002.

HOWERTH, E.W. Salmonellosis in a wild turkey. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 21, n. 4, p. 433-434, 1985.

HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de Avestruzes e Outras Ratitas**. Jaboticabal:Funep, 2000, 391 p.

ISAKBAEVA, E.; LINDSTEDT, B.A.; SCHIMMER, B.; VARDUNDT, T.; STAVNES, T.L.; HAUGE, K.; GONDROSEN, B.; BLYSTAD, H.; KLOVSTAD, H.; AAVITSLAND, P.; NYGARD, K.; KAPPERUD, G. *Salmonella* Typhimurium DT104 outbreak linked to imported minced beef, Norway, October-November 2005. **Euro. Surveill.**, v. 10, p. 11, 2005.

IUCN. Guidelines for Re-introduction. Anex 6 to Minutes of Meeting of Council 1995. **On-line**. Capturado em 25 de out. 2006. Disponível em: <http://www.iucn.org/themes/ssc/publications/policy/reinte.htm>

JACKSON, G.J.; LANGFORD, C.F.; ARCHER, D.L. Control of salmonellosis and similar foodborne infections. **Food Control**, v. 2, p. 26-34, 1991.

JONES T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**, 6ª ed., São Paulo: Ed. Manole, 2000, 1415 p.

JOUY, E.; PROUX, K.; HUMBERT, F.; ROSE, V.; LALANDE, F.; HOUDAYER, C.; PICAULT, J.P.; SALVAT, G. Evaluation of a French ELISA for the detection of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium in flocks of laying and breeding hens. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 71, n. 1-2, p. 91-103, 2005.

KAMPELMACHER, E.H.; GUINÉE, P.A.; HOFSTRA, K.; VAN KEULEN, A. Further studies on *Salmonella* in slaughterhouses and in normal slaughter pigs. **Zentralbl. Vet. Med.**, v. 10, n. 2, p. 27, 1963.

KÄSBOHRER, A.M.; GEUE, L.; STAAK, C.H.; STEINBACH, G.; RABSCH, W.; HELMUTH, R.; BLAHA, T.H.; PROTZ, D. Prevalence of *Salmonellae* in German slaughter pigs as detected by cultural, serological and PCR techniques, In: *Salmonella and Salmonellosis*, France, p. 315-320, 1997.

KASPAR, C.W.; BURGESS, J.L. Antibiotic resistance Indexing of *Escherichia coli* to identify sources of fecal contamination in water. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v. 36, p. 891 - 894, 1990.

KICH, J.D.; CARDOSO, M.; COLDEBELLA, A.; VIZZOTO, R. Teste de ELISA para monitoramento da infecção por *Salmonella* em suínos. In: CONGRESSO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2003. Resumo.

KIRK, M.D.; LITTLE, C. L.; LEM, M.; FYFE, M.; GENOBILE, D.; TAN, A.; THRELFALL, J.; PACCAGNELLA, A.; LIGHTFOOT, D.; LYI, H.; McINTYRE, L.; WARD, L.; BROWN, D.J.; SURNAM, S.; FISHER, I.S.T. An outbreak due to peanut in their shell caused by *Salmonella enterica* serotypes Stanley and Newport. **Epidemiology e Infection**, v. 132, n. 4, p. 571-577, 2004.

KIRKPATRICK, C.E.; TREXLER-MYREN, V.P. A survey of free-living falconiform birds for *Salmonella*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 189, p. 997-998, 1986.

KIRKPATRICK, C.E.; COLIN, B. A. *Salmonella* spp. in nestling common barn-owls (*Tyto alba*) from southwestern New Jersey. **Journal of Wildlife Disease**, v. 22, n. 3, p. 340-343, 1986.

KIVI, M.; VAN PELT, W.; NOTERMANS, D.; VAN DE GIESSEN, A.; WANNET, W.; BOSMAN, A. Large outbreak of *Salmonella* Typhimurium DT104, the Netherlands, September-November 2005. **Euro. Surveill.**, v. 10, n. 12, 2005.

KRAUSE, G.; TERZAGIAN, R.; HAMMOND, R. Outbreak of Salmonella serotype Anatum infection associated with unpasteurized orange juice. **South Med. J.**, v. 94, n. 12, p. 1168-1172, 2001.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple Antibiotic Resistance Indexing of *Escherichia coli* to identify High-Risk Sources of Fecal Contamination of Foods. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.46, n.1, p. 165 - 170, 1983.

LÁZARO, N. S.; TIBANA, A.; REIS, E. M.F.; QUINTAES, B.R.; HOFER, E. Padrão de susceptibilidade a antimicrobianos e perfil plasmidial em *Salmonella* Muenster isoladas de suínos e do ambiente de abatedouros. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 24, n. 2, p. 65-70, 2004.

LE MINOR, L.. Genus III *Salmonella* (Lignières). **Bergey's manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Willians & Wilkins, v.1, p. 427-458, 1994.

LEY, E.C.; MORISHITA, T.Y.; HARR, B.S.; MOHAN, R.; BRISKER, T. Serologic survey of slaughter-age ostriches (*Struthio camelus*) for antibodies to selected avian pathogens. **Avian Disease**, v. 44, n. 4, p.989-992, 2000.

LEY, E.C.; MORISHITA, T.Y.; BRISKER, T.; HARR, B.S. Prevalence of *Salmonella*, *Campylobacter*, and *Escherichia coli* on ostrich carcasses and the susceptibility of ostrich-origin E. coli isolates to various antibiotics. **Avian Disease**, v.45, n.3, p. 696-700, 2001.

LILLEHAUG, A.; MONCEYRON, J.C.; BERGSJO, B.; HOFSHAGEN, M.; THARALDSEN, J.; NESSE, L.L.; HANDELAND, K. Screening of Feral Pigeon (*Colomba livia*), Mallard (*Anas platyrhynchos*) and Graylag Goose (*Anser anser*) Populations for *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., Avian Influenza Virus and Avian Paramyxovirus. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 46, p. 193-202, 2005.

LOMBARDO, M.P.; THORPE, P.A.; CICHEWICZ, R.; HENSHAW, M.; MILLARD, C.; STEEN, C.; ZELLER, T.K. Communities of cloacal bacteria in trees swallow families. **The Condor**, v. 98, p. 167-172, 1996.

LYYTIKAINEN, O.; KOORT, J.; WARD, J.; SCHILD, R.; RUUTU, P.; JAPISSON, E.; TIMONEN, M.; SIITONEN, A. Molecular epidemiology of an outbreak caused by *Salmonella enterica* serovar Newport in Finland and the United Kingdom. **Epidemiol. Infect.**, v. 124, p. 185-192, 2000.

MAGNANI, A.L.; GIOMBELLI, A.; SHUCK, M.S.; BUSATO, M.A.; SILVA, N.L. Incidência de *Salmonella* e *Escherichia coli* em carne suína *in natura* e salame colonial consumidos pela população de Chapecó, SC. **Hig. Aliment.**, n. 14, p. 44– 47, 2000.

MARCONI, M.A.; LAKATUS, E.M. **Técnicas de pesquisa**. 3. ed. São Paulo: Atlas, 1996. 231 p.

MATHEW, A.G.; SAXTON, A.M.; UPCHURCH, W.G.; CHATTIN, S.E. Multiple antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* isolates from swine farms. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 65, n.6, p. 2770-2772, 1999.

MCEVOY, J.M.; NDE, C.W.; SHERWOOD, J.S.; LOGUE, C.M. An evaluation of sampling methods for the detection of *Escherichia coli* and *Salmonella* on Turkey carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 1, p.34-39, 2005.

MELLO, N.H., A ficha do Bicho – Ema, **Globo Rural**, n.5, p.56-60, 1987.

MICHAEL, G. B.; SIMONETI, R.; CARDOSO, M.R.I.; COSTA, M. Sorotipos de *Salmonella* isolados em uma propriedade e suínos de terminação no sul do Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 3, p. 525 – 527, 2002.

MICHAEL, G.B. Comparision of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* sp. from feces of finishing swine. **Braz. J. Microbiol.**, v. 34, p. 138-142, 2003.

MIKOLAJCZYK, A.; RADKOWSKI, M. *Salmonella* spp. on chicken carcasses in processing plants in Poland. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 9, p. 1475-1479, 2002.

MOHAN, R. *Salmonella* infection in pet birds. **Proc. Assoc. Avian Vet.** p.78-86, 1983.

MORATA, R.L.; MACHADO, T.M.M.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; DETMANN, E.; FERNANDES, L.T.O.; PARENTE, H.N.; ANTUNES, K.V.; ALMEIDA, A.C.; CSERMAK JR, A.C. Técnicas de avaliação dos valores energéticos e dos coeficientes de digestibilidade de alguns alimentos para emas (*Rhea americana*) em crescimento. **R. Bras. Zootec.**, v. 35, n. 4, 2006.

MORE, S.J. The performance of farmed ostrich chicks in eastern Australia. **Preventive Veterinary Medicine**, v, 29, p. 91-106, 1996.

MORES, N.; ZANELLA, J.C. Perfil sanitário da suinocultura no Brasil. **On-line**. Capturado em: 01 set. 2006. Disponível em: <<http://www.nordeste rural.com.br/dev/nordeste rural/matler.asp?newsId =3402>>

MORSE, E.V.; DUNCAN, M.A.; PAGE, E.A.; FESSLER, J.F. Salmonellosis in equidae: a study of 23 cases. **Cornell Vet.**, v. 66, p.198-213, 1976.

MUIR, W.I.; BRYDEN, W.L.; HUSBAND A.J. Comparison of *Salmonella* typhimurium challenge models in chickens. **Avian Diseases**, Athens, v. 42, p.257- 264, 1998.

MUSGROVE, M.T.; JONES, D.R.; NORTHCUTT, J.K.; COX, N.A.; HARRISON, M.A.; FEDORCA-CRAY, P.J.; LADELY, S.R. Antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Escherichia coli* isolated from commercial shell eggs. **Poult. Sci.**, v. 85, n. 9, p. 1665-1669, 2006.

NADVORNY, A.; FIGUEIREDO, D.M.S.; SCHMIDT, V. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul, em 2000. **Acta Sci. Vet.**, v. 32, p. 47-51, 2004.

NARAIN, J.P.; LOFGREN, J.P. **Epidemic** of restaurant-associated illness due to *Salmonella newport*. **South Med. J.**, v. 82, n. 7, p. 837-840, 1989.

NASCIMENTO, V. P.; SILVA, A. B.. Controle de qualidade de produtos de origem avícola: programas de monitorização em salmonelas. In: IV CICLO DE CONFERÊNCIAS EM AVICULTURA (AVE). 4, 1994, Porto Alegre, AVE, 1994. **Anais...** p. 33-44, 1994.

NASCIMENTO, V.P.. Programas de monitorização em salmonelas: uma garantia na preservação da imagem dos produtos avícolas junto ao consumidor. In: V SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS DA ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE AVICULTURA (APA), 1995, São Paulo. **Anais...** p. 95-108, 1995.

NASCIMENTO V.P. Salmoneloses paratíficas: Uma revisão e situação atual. **Simpósio Técnico de Produção de Ovos – APA**, p. 93-116, 1996.

NASCIMENTO, V.P.; MORAES, H.L.S.; RIBEIRO, A.R.; SANTOS, L.R.; CARDOSO, M.O.; PONTES, A.P.; OLIVEIRA, S.D. Aspectos favoráveis e desfavoráveis dos programas de vacinação e controle sanitário da salmonelose. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS, 7, 1997, Campinas. **Anais...** Campinas, p.143-152, 1997.

OIE - OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Manual of standards diagnostic tests and Vaccines, part 3, section X, chapter X.4, 2000. Capturado em 15 abr. 2003. **On-line.** Disponível na Internet http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_summry.htm>

OKOH, A.E.J.; ONAZI, M. Notes on *Salmonellae* isolated from wildlife in Kano Zoological Gardens. **Journal of Wildlife Diseases.** v.16, n.1, p.7-10. 1980.

OLIVEIRA, S.D.; RODENBUSCH, C.R.; CÉ, M.C.; ROCHA, S.L.S.; CANAL; C.W. Evaluation of selective and non-selective enrichment PCR procedures for *Salmonella* detection. **Let. Appl. Microbiol.**, v. 36, p. 217-221, 2003.

OLIVEIRA, S.D.; SANTOS, L.R.; SCHUCH, D.M.T.; SILVA, A.B.; SALLE, C.T.P.; CANAL, C.W. Detection and identification of salmonellas from poultry-related samples by PCR. **Vet. Microbiol.**, v. 87, p. 25-35, 2002.

PACER, R.E.; SPIKA, J.S.; THURMOND, M.C.; HARGRETT-BEAN, N.; POTTER, M.E. Prevalence of *Salmonella* and multiple antimicrobial-resistant Salmonella in California dairies. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 195, n. 1, p.59-63, 1989.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de Bioestatística**. 2 ed. São Paulo: Thomson, 2004. 506 p.

PALMGREN, H., SELLIN, M., BERGSTRÖM, S. & OLSEN, B. (1997) Enteropathogenic bacteria in migrating birds arriving in Sweden. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 29, p.565-568, 1997.

PANHOTRA, B.R.; PANDEY, D.; AYYAGARI, A.; BHAKOO, O.N.; AGARWAL, K.C. An outbreak of *Salmonella* anatum infection in a premature nursery at Chandigarh. **Indian J. Med. Res.**, v. 69, p. 901-906, 1979.

PEEK, S.E.; HARTMANN, F.A.; THOMAS, C.B.; NORDLUND, K.V. Isolation of *Salmonella* spp from the environment of dairies without any history of clinical salmonellosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 225, n. 4, p. 574-577, 2004.

PELUFFO, C.A.; BIER, O.; AMARAL, J.P.J. Estudos sobre as salmoneloses em São Paulo. **Mem. Inst. Butantan**, n. 19, p. 211-228, 1946.

PENNYCOTT, T.W.; ROSS, H.M.; McLAEN, I.M.; PARK, A.; HOPKINS, G.F.; FOSTER, G. Causes of death of wild birds of the family *Fringillidae* in Britain. **Vet. Rec.**, v. 143, n.6, p. 155-158, 1998.

PENNYCOTT, T.W.; CINDERREY, R.N.; PARK, A.; MATHER, H.A.; FOSTER, G. *Salmonella enterica* subspecies enterica serotype Typhimurium and *Escherichia coli*

O86 in wild birds at two garden sites in south-west. **Vet. Rec.**, v. 151, n. 19, p. 563-567, 2002.

PENNYCOTT, T.W.; PARK, A.; MATHER, H.A. Isolation of different serovars of **Salmonella enterica** from wild birds in Great Britain between 1995 and 2003. **Vet Rec.**, v. 158, n. 24, p. 817-820, 2006.

PEZZINO, G.; MILLER, C.; FLAHART, R.; POTSIC, S.R. A multi-state outbreak of Salmonella serotypes Infantis and Anatum-Kansas and Missouri, 1997. **Kans. Med.**, v. 98, n. 3, p. 10-12, 1998.

PHALEN, D.N; Differentiating abdominal disorders in the ostrich and emu. **Association of Avian Veterinarians 1995 Main Conference Proceedings**, p. 209-213, 1995.

POPIEL, I.; TURNBULL, P.C.B.. Passage of Salmonella Enteritidis thompson through chick ileocaecal mucosa. **Infection and Immunity**. p.786-792, 1985.

POPOFF, M.Y.; LE MINOR, L. **Antigenic formulas of the Salmonella serovars**. 7.ed. Paris: Institut Pasteur. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on **Salmonella**, 1997. p. 1-93.

PRAKASH, B.; SURYNARAYANA, T.; MUNIYAPPA, L.; KRISHNAPPA, G. Evaluation of **Salmonella** Gallinarum Outer Membrane Protein Based Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Detecting Antibodies in Vaccinated and Infected Chicken. **International Journal of Poultry Science**, v. 4, n. 4, p. 222-227, 2005.

PRITCHARD, M.H., KRUSE, G.O.W. **The Collection and Preservation of Animal Parasites**. University of Nebraska Press, 1982, 132p.

RANKIN, S. C.; H. ACETO, J.; CASSIDY, J.; HOLT, S.; YOUNG, B.; LOVE, D.; TEWARI, D.; MUNRO, S.; BENSON, C.E. Molecular characterization of cephalosporin-resistant **Salmonella enterica** serotype Newport isolates from animals in Pennsylvania. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. 4679-4684, 2002.

RECHE, M.P., JIMÉNEZ, P.A., ALVAREZ, F., GARCIA DE LOS RIOS, J.E., ROJAS, A.M.; DE PEDRO, P. Incidence of *Salmonellae* in captive and wild free-living raptorial birds in Central Spain. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 50, 42-44, 2003.

REIS, R.B.; KRUGER, C.S.; MACIEL, M.S. *Salmonella* spp. em produtos cárneos comercializados no município de Cuiabá-MT. Avaliação da metodologia de pesquisa. Modelos de resistência a drogas antimicrobianas. **Ciência e Tecnologia**, v.15, n.1, p.74-78, 1995.

REISSIG, E.C.; ROBLES, C.A.; OLAECHEA, F.V.; WILLEMS, P.M. Determinación de parâmetros fisiológicos normales y principales problemas sanitários de choiques criados em granjas. Informe preliminar. CR-394, INTA EEA, Bariloche 2001. **On-line**. Capturado em 22 de outubro de 2006. Disponível na internet em: http://www.produccionbovina.com/produccion_de_nandues/32-hoiques_en_granjas.pdf

RODRIGUES, L.B. Levantamento sorológico e detecção de *Salmonella* sp. em granjas de postura comercial de pequeno porte em um município do estado do Rio Grande do Sul. 2003. 88 f. **Dissertação de Mestrado** – Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

ROSTAGNO, M.H.; HURD, H.S.; MCKEAN, J.D.; ZIEMER, C.J.; GAILEY, J.K.; LEITE, R.C. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella* enterica. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n. 8, p.4489-4494, 2003.

RUPLEY, A.E. **Manual of avian practice**. Philadelphia: Saunders Company, p. 267-268, 1997.

SAELINGER, C.A.; LEWBART, G.A.; CHRISTIAN, L.S.; LEMONS, C.L. Prevalence of *Salmonella* spp in cloacal, fecal, and gastrointestinal mucosal samples from wild North American turtles. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 229, n. 2, p. 266-258, 2006.

SAENZ, E.P.; CASTILLO, V.L.; RODRIGUEZ, O.P.; TORRES, M.R.; MARQUEZ, Y.F. Serotipos de *Salmonella* aisladas en pienso para gallinas ponedoras. **Rev. Cub. Aliment. Nutr.**, v. 15, n. 1, p. 26-30, 2001.

SAHINDURAN, S. Isolation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from ostriches with conjunctivitis and respiratory disease. **Revue Méd. Vét.**, v. 155, n. 3, p. 167-169, 2004.

SÃO PAULO, Toxinfecção alimentar por *Salmonella* em um evento científico, São Paulo, 2004, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar do CVE/CCD-SES, **Rev. S. Pub.**, v. 39, n. 3, 2005.

SCHMIDT, V.; CARDOSO, M.R.I. Sobrevivência e perfil de resistência a antimicrobianos de *Salmonella* sp. em um sistema de tratamento de dejetos de suínos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 881-888, 2003.

SCHROEDER, K.; WEGSCHEIDER, K.; ZEYMER, U. 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**, n. 358, p. 1479–1486, 2001.

SCHWARZ, S; CHARLU-DANCLA, E. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. **Vet. Res.**, Cambridge, v. 32, n. 3/4, p. 201-226, 2001.

SELBITZ, H.J. Epizootiology of salmonellosis in wild and zoo animals. **Z. Gesamte Hyg.**, v. 35, n. 11, p. 655-657, 1989.

SHAH, N.M.; DHOLAKIA P.M. A note on isolation of *Salmonella weltrvreden* from Emu (*Dromiceius novaehollandie*). **Indian Veterinary Journal**, v. 64, p. 801-802, 1987.

SHIVAPRASAD, H. L. Neonatal mortality in ostriches: An overview of possible causes. **Proceedings Association of Avian Veterinarians**, p. 283-293, 1993.

SILVA, J.B.G. **Criação de Emas**. Guaíba: Ed. Agropecuária, 2001, 144p.

SILVA, L.E.; GOTARDI, C.P.; VIZZOTTO, R.; KICH, J.D.; CARDOSO, M.R.I. *Salmonella* infection in pigs raised in a multiple-site swine production system from southern Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 58, n. 4, p. 455-461. 2006.

SPIKA, J.S.; WATERMAN, S.H.; HOO, G.W.; ST LOUIS, M.E.; PACER, R.E.; JAMES, S.M.; BISSET, M.L.; MAYER, L.W.; CHIU, J.Y.; HALL, B. Chloramphenicol-resistant *Salmonella* newport traced through hamburger to dairy farms. A major persisting source of human salmonellosis in California. **N. Engl. J. Med.**, v. 316, n. 10, p. 565-570, 1987.

SIVAPALASINGAM, S.; BARRET, E.; KIMURA, A.; VAN DUYN, S.; DE WITT, W.; YING, M.; FRISCH, A.; PHAN, Q.; GOULD, E.; SHILLAM, P.; REDDY, V.; COOPER, T. HOEKSTRA, M.; HIGGINS, C.; SANDERS, J.P.; TAUXE, R.V.; SLUTSKER, L. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* Serotype Newport infection linked to mango consumption: impact of water-dip disinfestation technology. **Clin. Infect. Dis.**, v. 37, n. 1, p.1585-1590, 2003.

SNOEYENBOS, G.H.; WILLIAMS, J.E. Salmonellosis: introduction. In: CALNEK, B.W. **Diseases of Poultry**. 9.ed. Iowa: Iowa State University Press, 1991. p.72-73.

STEWART, R.; RAMBO, T.B. Cloacal microbes in house sparrows. **The Condor**, v. 102, p. 679-684, 2000.

SWANENBURG, M.; URLINGS, H.A.; SNIJDERS, J. M.; KEUZENKAMP, D.A.; KNAPEN, F. *Salmonella* in slaughter pigs: prevalence, serotypes and critical control points during slaughter in two slaughterhouses. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 70, n. 3, p.243-254, 2001.

TAGUCHI, M.; SETO, K.; KANKI, M.; TSUKAMOTO, T.; IZUMIYA, H.; WATANABE, H. Outbreak of food poisoning caused by lunch boxes prepared by a company contaminated with multidrug resistant *Salmonella typhimurium* DT104. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 58, n. 1, p. 55-56, 2005.

TAKKINEN, J.; NAKARI, U.M.; JOHANSSON, T.; NISKANEN, T.; SIITONEN, A.; KUUSI, M. A nationwide outbreak of multiresistant *Salmonella* Typhimurium in Finland due to contaminated lettuce from Spain, May 2005. **Euro Surveill.**, v.10, n. 6, 2005.

THIOLLENT, M. **Metodologia da pesquisa-ação**. 5. ed. São Paulo: Cortez, 1992. 107p.

THRELFALL, E.J.; WARD, L.R.; HAMPTON, M.D.; RIDLEY, A.M.; ROWE, B.; ROBERTS, D.; GILBERT, R.J; VAN SOMEREN, P.; WALL, P.G.; GRIMONT, P. Molecular fingerprinting defines a strain of *Salmonella* enterica serotype Anatum responsible for an international outbreak associated with formula-dried milk. **Epidemiol. Infect.**, v. 121, n. 2, p. 289-293, 1998.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária**. 2.ed. São Paulo: ROCA, 2004. 556 p.

TOMA, B.; DUFOUR, B.; SANAA, M.; BÉ, J.J; MOUTOU, F.; LOUZA, A.; ELLIS, P. **Applied Veterinary Microbiology and the control of disease in populations**. Maison-Alfort: FAO, 1999. 676 p.

TRAUB-DARGATZ, J.L.; GARBER, L.P.; FEDORKA-CRAY, P.J.; LADELY, S.; FERRIS K.E. Fecal shedding of *Salmonella* spp. by horses in the United States during 1998 and 1999 and detection of *Salmonella* spp. In grain and concentrate sources of equine operations. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**,v. 217, p. 226-230, 2000.

TULLY, T.N.; SHANE, S.M. *Salmonella* Pullorum serum conversion in emus (*Dromaius novaehollandiae*). **Proceedings Association of Avian Veterinarians**, p.315-317, 1993.

UBA – União Brasileira de Avicultura. **On-line**. Capturado em 25 de novembro de 2006. Disponível na internet em: < <http://www.uba.org.br/>>

VAN BENEDENM C.A.; KEENE, W.E.; STRANG, R.A.; WERKER, D.H.; KING, A.S.; MAHON, B.; HEDBERG, K.; BELL, A.; KELLY, M.T.; BALAN, V.K.; MAC

KENZIE, W.R.; FLEMING, D. Multinational Outbreak of *Salmonella enterica* Serotype Newport Infections Due to Contaminated Alfalfa Sprouts. **JAMA.**, v. 281, p. 158-162, 1999.

VAN DER GAAG, M.A.; VOS, F.; SAATKAMP, H.W.; VAN BOVEN, M. VAN BEEK, P.; HUIJME, R.B.M. A state-transition simulation model for the spread of *Salmonella* in the pork supply chain. **Europ. J. Oper. Res.**, v. 156, p. 782-798, 2004.

VAN DER WOLF, P.J.; VAN SCHIE, F.W.; ELBERS, A.R.W.; ENGEL, B.; VAN DER HEIJDEN, H.M.; HUNNEMAN, W.A.; TIELEN, M.J. Administration of acidified drinking water to finishing pigs in order to prevent *Salmonella* infections. **Vet. Quaterly**, v.23, p.121-125, 2001a.

VAN DER WOLF, P.J.; WOLBERS, W.B.; ELBERS, A.R.; VAN DER HEIJDEN, H.M.; KOPPEN, J.M.; HUNNEMAN, W.A.; VAN SHIE, F.W.; TIELEN, M.J. Herd level husbandry factors associated with the serological *Salmonella* prevalence in finishing pig herds in The Netherlands. **Vet. Microbiol.**, v.78, p.205-219, 2001b.

VAN IMMERSEEL, F.; PASMANS, F.; DE BUCK, J.; HRADECKA, H.; WILDEMAUWE, C.; HEYNDRIKX, M.; DUCATELLE, R.; HAESENBROUCK, F. Cats as a risk for transmission of antimicrobial drug-resistant *Salmonella*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 12, p. 2169-2174, 2004.

VARNAN, A.H. & EVANS, M.G. - Salmonella. In: VARNAN, A.H. & EVANS, M.G. **Foodborn pathogens**. St. Louis, Mosby Year Book; Wolfe Publ., 1991. p, 51-85.

VERWOERD, D.J. Ostrich diseases. **Reviews in Science Technology**, v.19, n.2, p. 638-661, 2000.

VIEIRA-PINTO, M.; TENREIRO, R.; MARTINS, C. Unveiling contamination sources and dissemination routes of *Salmonella* sp. in pigs at a Portuguese slaughterhouse through macrorestriction profiling by pulsed-field gel electrophoresis. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 110, n. 1, p. 77-84, 2006.

VILELA, V.O.; GUEDES, N.M.R.; ARAÚJO, F.R.; SOLARI, C.A.; FILIÚ, W.F.O.; CATELAN, V.L.; ALVES, M.M.; CARMO, M.A.; SOUZA, R.A.; VARGAS, F.C. *Salmonella* Bredney em arara-azul (*Anodorhynchus hyacinthinus*). In: IX CONGRESSO BRASILEIRO DE ORNITOLOGIA. 2001, Curitiba-Paraná. **Ornitologia sem Fronteiras**. Curitiba: Fernando Costa Straube, 2001. p.390-391.

WALL, P.G.; MORGAN, D.; LAMDEN, K.; RYAN, M.; GRIFFIN, M.; THRELFALL, E.J.; WARD, L.R.; ROWE, B. A case control study of infection with an epidemic strain of multiresistant *Salmonella typhimurium* DT104 in England and Wales. **Commun Dis Rep CDR Rev.**, v. 4, n. 11, p. 130-135, 1994.

WANJTAL, A.; SILVEIRA, L. F. A soltura de aves contribui para a sua conservação? **Atualidades Ornitológicas**, v.98, p.7, 2000.

WARD, L.R.; MAGUIRE, C.; HAMPTON, M.D.; DE PINNA, E.; SMITH, H.R.; LITTLE, C.L.; GILLESPIE, I.A.; O'BRIEN, S.J.; MITCHELL, R.T.; SHARP, C.; SWANN, R.A.; DOYLE, O.; THERELFALL, E.J. Collaborative investigation of an outbreak of *Salmonella enterica* serotype Newport in England and Wales in 2001 associated with ready-to-eat salad vegetables. **Commun. Dis. Public. Health**, v. 5, n. 4, p. 301-3-4, 2002.

WEGENER, H.C.; BAGER, F.; AERESTRUP, F.M. Surveillance of antimicrobial resistance in humans, food stuffs and livestock in Denmark. **Euro Surveillance**, v. 2, n. 3, 1997.

WEIS, L. H. N.; NONIG, R. B.; CARDOSO, M.; COSTA, M. Ocorrência de *Salmonella* sp em suínos de terminação no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 22, n. 3, p. 104-108, 2002.

WILSON, J.E.; MACDONALD, J.W. *Salmonella* infection in wild birds. **British Veterinary Journal**, v. 123, p. 212-219, 1967.

WITTE, W. Ecological impact of antibiotic use in animals on different complex microflora: environment. **Int. J. Antim. Ag.**, Amsterdam, v. 14, p. 321-325, 2000.

WRAY, C.; DAVIES, R.H. Guidelines on detection and monitoring of salmonella infected poultry flocks with particular reference to *Salmonella enteritidis*. In: **REPORT OF A WHO CONSULTATION ON STRATEGIES FOR DETECTION AND MONITORING OF SALMONELLA INFECTED POULTRY FLOCKS**, Austria: WHO - Veterinary Public Health Unit, p. 29-34, 1994.

ZEBRAL, A.A.; FREITAS, C.A.; HOFER, E. Ocorrência de *Salmonella* em gânglios linfáticos de suínos aparentemente normais, abatidos no matadouro de Santa Cruz, cidade do Rio de Janeiro, Guanabara. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 72, n. 3, p. 223-235, 1974.

ANEXO I

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

ANEXO II

CURRICULUM VITAE RESUMIDO

Curriculum Vitae resumido – Plataforma Lattes

Rosecler Alves Pereira (04/08/1973) possui graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Luterana do Brasil - ULBRA (1998), especialização em Toxicologia Animal pela Pontifícia Universidade Católica - PUC-RS (1999) e mestrado em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (2002). Foi professora da disciplina de Toxicologia Animal na Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS (2003-2004) e das disciplinas de Patologia Veterinária Geral, Patologia Veterinária Especial e Ornitopatologia na Universidade de Passo Fundo - UPF (2003-2005). Atualmente é responsável do diagnóstico histopatológico do Centro de Diagnóstico Vet. Brasil Sul Ltda - Mercolab e doutoranda da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Tem experiência nas áreas de patologia aviária, patologia animal e patologia de animais silvestres. Participa ativamente, principalmente na geração de dados histológicos em animais de experimentação, em projetos de pesquisa para diversas áreas como Medicina Veterinária, Fisioterapia, Biologia e Farmácia e Bioquímica, de diversas instituições (UFRGS, ULBRA, UPF).

Artigos completos publicados em periódicos – 2003 a 2007

1 - PEREIRA, R. A., CANAL, C. W., SCHMIDT, V. Detecção de *Salmonella* Anatum em ema (*Rhea americana*). **Ciência Rural.** , submetido - 860/06, 2007.

2 - PEREIRA, R. A., MACAGNAN, M., SCHWARTZ, P., SCHMIDT, V., CANAL, C. W. Estabelecimento de um protocolo de Soroaglutinação Rápida (SAR) para detecção de anticorpos para *Salmonella* Typhimurium em suínos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** , submetido - 2301/07, 2007.

3 - BRUN, M. V., GUIMARÃES, L.D., BARCELLOS, H. H., GUIZO JR, N., PEREIRA, R. A. Colopexia laparoscópica com retalho de tela de polipropileno em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, submetido, 2006.

4 - BRUN, M. V., GUIMARÃES, L.D., BARCELLOS, H. H., PEREIRA, R. A., GUIZZO JR, N. Colopexias convencionais ou laparoscópicas com pericárdio bovino

conservado em glicerina - estudo experimental em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** , submetido, 2006.

5 - PINHATTI, V.R., ALLGAYER, M.C., BREYER, A. S., PEREIRA, R. A., SILVA, J. Determinação de danos basais no DNA de araras canindé (*Ara ararauna*) através do testes de micronúcleos: uma ferramenta na avaliação da saúde animal e seu uso no biomonitoramento da poluição ambiental. **Acta Scientiae Veterinariae.** , v. 34, p. 313 - 317, 2006.

6 - VALLE, S.F., RODRIGUES, L. B., ALLGAYER, M. C., PEREIRA, R. A. Parâmetros de bioquímica sérica de machos, fêmeas e filhotes de araras canindé (*Ara ararauna*) mantidas em cativeiros comercial. **Ciência Rural**, submetido, 833-06, 2006.

7 - PINTO, V. M., ALLGAYER, M. C., PEREIRA, R. A., MELLO, J.R. B., BREYER, A. S., OLIVEIRA, M. E. M. Avaliação do uso de *Piper methysticum* quanto ao desenvolvimento de hepatotoxicidade em ratos wistar. **Revista Veterinaria Em Foco** , v.3, p. 17 - 28, 2005.

8 - PEREIRA, R. A., ALLGAYER, M. C., VALLE, S. F., GABRIELLI, E., AMARAL, A. C. G., CZIULIK, M., CARISSIMI, A. S. Carcinoma espinocelular em tucano de bico verde (*Ramphastos dicolorus*). **A Hora Veterinária**, v. 148, p. 52 - 54, 2005.

9 - PEREIRA, R. A., RODRIGUES, L. B. ALLGAYER, M. C., DICKEL, E. L., SANTOS, L. R., GABRIELLI, E., CARISSIMI, A. S. Miopatia peitoral profunda em frangos de corte. **Revista Veterinaria Em Foco**, v.3, p. 11 - 16, 2005.

10 - ALLGAYER, M. C., GABRIELLI, E., PEREIRA, R. A., ALLGAYER, M. B. C. Avaliação do crescimento inicial de *Ara ararauna* criadas manualmente com diferentes rações comerciais. **Revista Veterinária Em Foco** , v.2, p. 59 - 66, 2004.

11 - BRUN, M. V., PIPPI, N. L, BECK, C. A. C., CONTESINI, E. A., PEREIRA, R. A., STEDILE, R., BONFADA, A. T., BORDIN, A. I., SILVA, T. F., COLUMÉ, L. M., GOMES, K., VIEIRA JUNIOR, A. R. P. Colopexia incisional laparoscópica em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 3, p. 154 -

160, 2004.

12 - BRUN, M. V., PIPPI, N. L, BECK, C. A. C., CONTESINI, E. A., PEREIRA, R. A., STEDILE, R., BONFADA, A. T., COLUMÉ, L. M., GOMES, K., VIEIRA JUNIOR, A. R. P., SILVA, T. Colopexia Incisional por Celiotomia ou Transparietal Auxiliada por Laparoscopia em Cães. **Ciência Rural**, v.34, p. 829 - 837, 2004.

13 - BELTRÃO, N., FURIAN, T. Q, LEÃO, J. A, PEREIRA, R. A., MORAES, L. B., CANAL, C. W. Detecção do Vírus da Laringotraqueíte das Galinhas no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, p. 85 - 88, 2004.

14 - MORAES, H. L. S., SALLE, C. T. P., PADILHA, A. P., NASCIMENTO, V.P Do, SOUZA, G. F., PEREIRA, R. A., ARTENCIO, J. O., SALLE, F. O. Infectious Bursal Disease: Evaluation of Pathogenicity of Comercial Vaccines from Brazil in Specific Pathogen Free Chickens. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 6, p. 243-247, 2004.

15 - CHIMINAZZO, C., PEREIRA, R. A., ESMERALDINO, A. T., RODRIGUES, N. C., CERESER, V. H., QUEIROLO, M. T. C., FALLAVENA, L. C. B. Presença de *Spirocerca lupi* (RUDOLPHI, 1809) em canino - relato de caso. **Revista Veterinária Em Foco**, v. 2, p. 25 - 30, 2004.

16 - BRUN, M. V., PIPPI, N. L, BECK, C. A. C., CONTESINI, E. A., CHAVEZ, E., PEREIRA, R. A., STEDILE, R., GOMES, K, BRAZ, S. R. F., BONFADA, A. T. C. L., VIEIRA JUNIOR, A. R. P. Resistência à Tração de Colopexias Incisionais Realizadas por Cirurgia Laparoscópica ou Celiotomia em Cães. **Ciência Rural** , v. 34, p. 839-845, 2004.

17 - PEREIRA, R. A., ALLGAYER, M. C., RODRIGUES, N. C., ESMERALDINO, A. T., MARIA, J. L., MORAES, L. B., PINTO, V. M., FALLAVENA, L. C. B. Carcinoma espinocelular em papagaio verdadeiro (*Amazona aestiva*). **Revista Veterinária Em Foco**, v.1, p.29 - 33, 2003.

ANEXO III

TRABALHOS APROVADOS



INFORMAÇÃO - PARECER FINAL



ACTA SCIENTIAE VETERINARIAE

ISSN 1678-0345 (Print), ISSN 1679-9216 (On line)

Fax: 0**51 3316 7305 Fone: 0**51 3316 6964

e-mail: laerte.ferreiro@ufrgs.br

Home Page: www.ufrgs.br/favet/revista

Porto Alegre, 30 de junho de 2007

Senhor (a) autor (a) para correspondência:

Informamos que o trabalho registrado sob referência ASV 49- 07 dos autores:

Rosecler Alves Pereira, Cláudio Wageck Canal, Verônica Schmidt

Intitulado: Detecção de Salmonella sp. em emas (Rhea americana) através de

> suabes cloacais

X Obteve parecer favorável para publicação no Volume: 35(3): pp-pp, 2007

- Recebeu parecer desfavorável do Corpo Consultivo Científico.
- Não se enquadra, segundo parecer do Conselho Editorial, dentro dos objetivos da Revista.
- Poderá ser recebido para análise uma vez redigido segundo as Instruções aos Autores (<http://www.ufrgs.br/favet/revista>).

Atenciosamente,

Laerte Ferreira - Editor
P/ Conselho Editorial -ASV

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^{4,5} Cláudio Wageck Canal⁶, Verônica Schmidt⁷

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.

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves, 9090. CEP 91.509-900 Porto Alegre/RS. E.mail: rose@rose.vet.br

² Laboratório Mercolab – Cascavel – PR

³ Departamento de Patologia Clínica – UFRGS – Porto Alegre - RS

⁴ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – UFRGS – Porto Alegre - RS

Palavras-chaves: *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. [18; 12]. 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 I).

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 significativa ($p=0,0094$). Isto por que, em um número expressivo de aves (11/26) observou-se isolamento de salmonelas em vísceras, mas não no suabe (Tabela I). 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 I). 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 [15; 11; 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 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 **Abraira, 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(4):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 (3): 460-466.

6 **Fletcher, R.H., Fletcher, S.W. & Wagner, ??.** 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*. 11. ed. 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 (2): 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 (1-2): 91-103.

12 **Lillehaug, A., Monceyron, J.C., Bergsjø, B., Hofshagen, M., Tharaldsen, J., Nesse, L.L. & Handeland, K.** 2005. Screening of feral pigeon (*Colomba 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 (1): 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 (9): 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 (4): 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 (2): 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., Wildemauwe, C., Heyndrickx, M., Ducatelle, R. & Haesenbrouck, F.** 2004. Cats as a risk for transmission of antimicrobial drug-resistant *Salmonella*. *Emerging Infectious Diseases*, 10 (12): 2169-2174.

24 **Wantjal, 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(3): 104-108.

Tabela I: 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

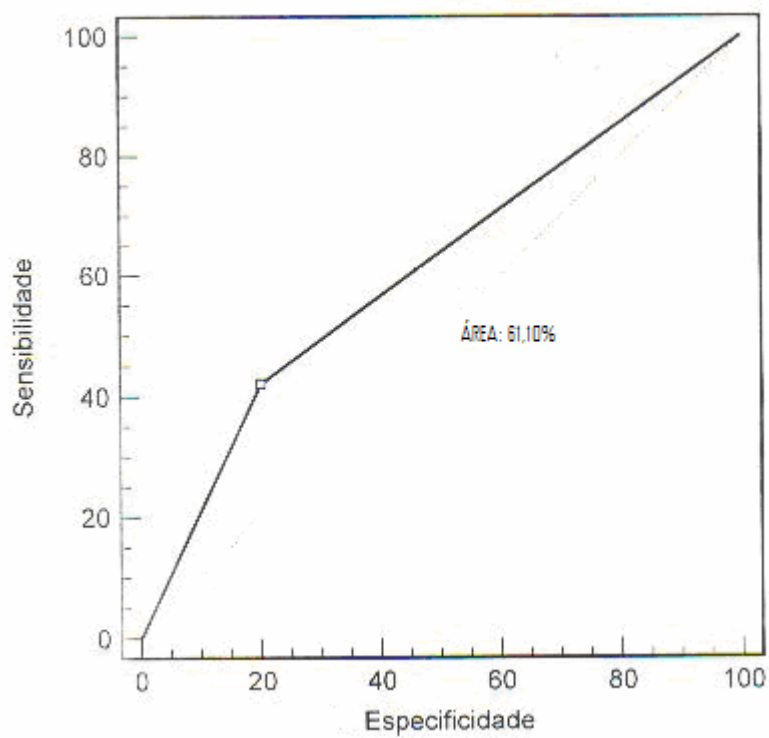


Figura I: Curva ROC para a utilização de suabe cloacal como método diagnóstico de salmonelas em emas (*Rhea americana*).

Ciência Rural		Busca Interna	Assinatura
Artigos Científicos Comissão Editorial Situação do Trabalho Normas de Publicação Endereço			
Número:	860/06		
Título:	DETECÇÃO DE Salmonella Anatum EM EMA (Rhea americana)		
Data da tramitação:	Tramitação:		
13/12/2006	AVISO AO PESQUISADOR SOBRE RECEBIMENTO DE TRABALHO		
14/12/2006	SOLICITAR PARECER PARA O CONSULTOR 1 SOBRE O TRABALHO		
14/12/2006	SOLICITAR PARECER PARA O CONSULTOR 2 SOBRE O TRABALHO		
16/01/2007	AVISO DE ENVIO DE TRABALHO AO CONSULTOR 1		
16/01/2007	AVISO DE ENVIO DE TRABALHO AO CONSULTOR 2		
19/01/2007	RECEBIMENTO DE PARECER DO CONSULTOR 2		
25/01/2007	RECEBIMENTO DE PARECER DO CONSULTOR 1		
08/02/2007	ENVIO DE CÓPIA PARECER PARA O AUTOR		
19/03/2007	DEVOLUÇÃO DO AUTOR PARA COMISSÃO EDITORIAL		
21/03/2007	ENCAMINHAMENTO DE TRABALHO AO CONSULTOR 2 PARA REAVALIAÇÃO		
09/04/2007	RECEBIMENTO DE PARECER DO CONSULTOR 2		
12/04/2007	ENVIO DE CÓPIA PARECER PARA O AUTOR		
20/04/2007	DEVOLUÇÃO DO AUTOR PARA COMISSÃO EDITORIAL		
25/04/2007	AO AUTOR PARA ATENDER AS SUGESTÕES DA COMISSÃO EDITORIAL		
11/05/2007	DEVOLUÇÃO DO AUTOR PARA COMISSÃO EDITORIAL		
18/07/2007	TRABALHO APROVADO, SERÁ PUBLICADO NO VOLUME: v.38, n.3, 2008.		

Detecção de *Salmonella* Anatum em ema (*Rhea americana*)

Detection of *Salmonella* Anatum in the Greater Rhea (*Rhea americana*)

Rosecler Alves Pereira^{8,9}; Cláudio Wageck Canal¹⁰, Verônica Schmidt¹¹

- NOTA -

RESUMO

Para pesquisa de *Salmonella* spp foram coletadas amostras de fígado e conteúdo cecal de 70 emas (*Rhea americana*) abatidas no Rio Grande do Sul - Brasil. Uma colônia morfológica e bioquimicamente compatível com *Salmonella* spp., isolada de uma amostra de fígado, foi sorotipada como *Salmonella* Anatum. Considerando-se o alto potencial zoonótico deste microrganismo, destaca-se a relevância do controle microbiológico efetivo em frigoríficos que abatem espécies silvestres, assim como no produto final.

Palavras-chaves: *Salmonella* Anatum, *Rhea americana*, diagnóstico, ratita.

ABSTRACT

In aiming to investigate the *Salmonella* spp. presence in one slaughterhouse in Rio Grande do Sul – Brazil, liver and cecum samples from 70 Greater Rhea (*Rhea Americana*) were collected. One *Salmonella-like* colonie was serologically typed and identified as *Salmonella* Anatum. Considering the high zoonotical potential of this microorganism, an

^I Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Faculdade de Veterinária (FAVET), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), CEP 91.590-900, Porto Alegre, RS., Brasil. E-mail:

rose@rose.vet.br Autor para correspondência

^{II} Laboratório Mercolab, CEP 85.818-560, Cascavel, PR, Brasil.

^{III} Departamento de Patologia Clínica Veterinária, FAVET/UFRGS, CEP 91.590-900, Porto Alegre, RS, Brasil.

^{IV} Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, FAVET/UFRGS, CEP 91.590-900, Porto Alegre, RS, Brasil.

effective microbiological control of wild animal slaughterhouses and the final product is needed.

Key-words: *Salmonella* Anatum, *Rhea Americana*, diagnosis, ratite.

Salmonella spp. é um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos por estar amplamente distribuída na natureza, por possuir um grande número de reservatórios, como as aves silvestres e também por apresentar sorotipos inespecíficos quanto ao hospedeiro e cepas multiresistentes aos antimicrobianos (BERSOT, 2006). Certos sorotipos são específicos de algumas espécies animais, embora possam acarretar tanto a salmonelose animal quanto a humana (ANDREATTI FILHO et al., 2001). Informações sobre a ocorrência e distribuição dos sorotipos de salmonelas na população de animais silvestres e domésticos são essenciais para relacionar os possíveis reservatórios que possam ser responsáveis pela transmissão desse agente (GAST, 2003). Vários sorotipos de salmonelas paratíficas são responsáveis por infecções em aves silvestres. No entanto, *Salmonella* Typhimurium é o sorotipo mais isolado em pássaros exóticos e silvestres (CUBAS, 1993; CARPENTER & GENTZ, 1997).

Tanto aves clinicamente sadias quanto infectadas que sobreviveram a um surto, podem ser portadoras de salmonelas. Deste modo, aves destinadas a programas de soltura ou reintrodução no ambiente natural, assim como aves de produção como as ratitas, devem ser avaliadas quanto à presença deste microrganismo (CUBAS, 1993).

A ema (*Rhea americana*) pertence ao grupo de aves conhecido como ratitas (HUCHZERMEYER, 2000) e é identificada como uma ave silvestre, sendo sua criação controlada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. Sua caça é proibida e a espécie está classificada como animal de baixo risco de extinção na lista vermelha do Comitê Internacional de Tráfico de Espécies Ameaças de

Extinção (CITES, 2006). O comércio de carne de emas só é permitido de animais oriundos de criadouros comerciais regularizados, junto ao IBAMA, e abatidos em frigoríficos com serviço de inspeção (BRASIL, 2003).

Como a criação e comercialização de carne de emas está em uma fase inicial, pouco se conhece sobre as doenças que afetam esta espécie em criações intensivas. Desta forma, o presente trabalho faz parte de um esforço para determinar a ocorrência de enfermidades nesta espécie, com objetivo de detectar a presença de *Salmonella* spp..

Para isto, foram coletadas amostras de fígado e conteúdo cecal de 70 emas, oriundas de produtores cooperados, abatidas em um frigorífico no Rio Grande do Sul. Alíquotas de 10 g de cada uma das amostras foram pré-enriquecidas em água peptonada tamponada (90 mL), por 18 horas a 35°C; sendo transferido 1 mL do inóculo para 9 mL de meio caldo tetrionato Muller Kaufmann e 0,1 mL do inóculo para 9,9 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis, cultivados a 42 °C por 24 horas. Após o enriquecimento, as amostras foram subculturadas em ágar XLT4 e ágar verde brilhante lactose-sacarose, segundo Michael et al. (2003).

Em 66 indivíduos (94,2%) isolaram-se 114 colônias morfológica e bioquimicamente compatíveis com *Salmonella* spp., as quais foram encaminhadas para sorotipificação no Laboratório de Enterobactérias da Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz/RJ. Destas, identificaram-se 19 (16,6%) como *S. enterica* subespécie *enterica* **rugosa**, 41 (35,9%) como *S. Typhimurium*, 53 (46,5%) como *S. Newport* e uma amostra (0,9%) como *S. Anatum*; sendo esta última proveniente de um fígado que se apresentou, macroscopicamente, ligeiramente esverdeado.

A *Salmonella* Anatum tem aumentado a sua importância significativamente nos últimos anos devido a surtos ocorridos em lactentes na Europa (WEGENER et al., 1997; THRELFALL et al., 1998). Este sorotipo já foi isolado de casos de salmonelose em humanos (CHIEH SUNG et al., 1949; BUTLER et al., 1968; ARGRAWAL, et al., 1970;

PANHOTRA et al., 1979; WEGENER et al., 1997; THRELFALL et al., 1998; PEZZINO et al., 1998; GUITIERREZ-COGNO et al., 2000; KRAUSE et al., 2001), apresentando ampla distribuição geográfica.

No Instituto de Veterinária de Onderstepoort na África do Sul foram isoladas vários sorotipos de *Salmonella* de amostras provenientes de avestruzes, estando entre elas a *S. Anatum* (HUCHEZERMEYER (2000). A *Salmonella* Anatum é comumente isolada de eqüinos, bovinos, cães, gatos e aves domésticas (JONES, 2000). No Brasil, este microrganismo já foi isolado de carcaças de eqüídeos (HOFFER et al., 2000), carcaças e água em abatedouros de frangos (CORTEZ et al., 2006) e em matéria-prima de rações para animais (HOFER & SILVA, 1998; SAENZ et al., 2001). Este sorotipo foi isolado, ainda, de carcaças de suínos em Portugal (VIEIRA-PINTO, 2006) e de suínos e ovinos na Nova Zelândia (DAVIS & RUSSEL, 1960). Casos de infecção humana já foram registrados no México (GUITIERREZ-COGNO et al., 2000), na China (CHIEH SUNG et al., 1949) e na Dinamarca, em lactentes (WEGENER et al., 1997).

A detecção de *S. Anatum* alerta para o risco à saúde pública devido ao seu alto potencial zoonótico demonstrando a relevância de um controle efetivo em frigoríficos que abatem espécies de criações alternativas, bem como do controle microbiológico no produto final.

REFERÊNCIAS

- ANDREATTI FILHO, R.L. et al. Sorovares de *Salmonella* isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999. **Rev Educ Contin CRMV – SP**, v. 4, n. 3, p. 90-101, 2001.
- ARGAWAL, D.S. et al. An outbreak of *Salmonella* Anatum infection in a hospital in Delhi. **Indian J Med Res**, v. 58, n.1, p.20-23, 1970.

BERSOT, L.C. *Salmonella* no Brasil: sua importância no abate de aves. In: **Simpósio DE SANIDADE AVÍCOLA DA UFSM**, 5, 2006, Santa Maria. **Anais ...**, Santa Maria: UFSM, p. 90-94, 2006.

BRASIL, Secretaria de Defesa Agropecuária Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa conjunta n. 2. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Edição número 40. Poder Executivo, Brasília – DF, 25 jan. 2003. Seção 1.

BUTLER, C.E. et al. *Salmonella* Anatum: report of an Alaskan outbreak. **Alaska Med**, v. 10, n. 3, p. 145-147, 1968.

CARPENTER, J.; GENTZ, E. **Zoonotic Diseases of Avian Origin. In: ALTMAN, R. et al. Avian Medicine and Surgery, Philadelphia: Saunders , 1997, p.350-363.**

CHIEH SUNG M.D. et al. Systemic infection with *Salmonella* Anatum – Report of first case. **Pediatrics**, v. 4, n. 2, p. 249-253, 1949.

CITES - The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. On-line. Disponível na Internet: < http://www.cites.ec.gc.ca/eng/sct0/index_e.cfm.> Acesso em 28 out. 2006.

CORTEZ, A.L.L. et al. Resistência antimicrobiana de cepas de *Salmonella* spp. isoladas de abatedouros de aves. **Arq Inst Biol**, v. 73, n. 2, p. 157-163, 2006.

CUBAS, Z.S. Natural diseases of free-ranging birds in South America. In: FOWLER, M.E. **Zoo & wild animal medicine: current therapy 3**. Philadelphia: Saunders, 1993. p.166-172.

DAVIS, E.A.; RUSSEL, R.R. The isolation of *Salmonella* Anatum from the pig and sheep in New Zealand. **N Z Vet J**, v. 8, n. 6, p. 116-117, 1960.

GAST, R.K. *Salmonella* infections. In: SAIF, Y.M. **Diseases of poultry**. 11. ed. Iowa: Iowa State University, CD-Rom, p. 567-614, 2003.

GUTIERREZ-COGCO, L. et al. *Salmonella* serotypes isolated in Mexico's health services. **Sal Pub Mex**, v. 42, n. 6, p. 490-495, 2000.

- HOFER, E.; SILVA, S.J.da. Sorovares de *Salmonella* isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. **Pesq Vet Bras**, v. 18, n. 1, p. 21-27, 1998.
- HOFER, et al. *Salmonella* serovars in meat of horses slaughtered in northeastern Brazil. **Pesq Vet Bras**, v. 20, n. 2, p.80-84, 2000.
- HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de avestruzes e outras ratitas**. Jaboticabal:Funep, 2000, 391 p.
- JONES T.C. et al. **Patologia veterinária**, 6 ed. São Paulo: Manole, 2000, 1415 p.
- KRAUSE, G. et al. Outbreak of *Salmonella* serotype Anatum infection associated with unpasteurized orange juice. **South Med J**, v. 94, n. 12, p. 1168-1172, 2001.
- MICHAEL, G.B. et al. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella* spp. from feces of finishing swine. **Braz J Microbiol**, v. 34, p. 138-142, 2003.
- PANHOTRA, B.R. et al. An outbreak of *Salmonella* Anatum infection in a premature nursery at Chandigarh. **Indian J Med Res**, v. 69, p. 901-906, 1979.
- PEZZINO, G. et al. A multi-state outbreak of *Salmonella* serotypes Infantis and Anatum - Kansas and Missouri, 1997. **Kans Med**, v. 98, n. 3, p. 10-12, 1998.
- SAENZ, E.P et al. Serotipos de *Salmonella* aisladas en pienso para gallinas ponedoras. **Rev Cub Aliment Nutr**, v. 15, n. 1, p. 26-30, 2001.
- THRELFALL, E.J. et al. Molecular fingerprinting defines a strain of *Salmonella* enterica serotype Anatum responsible for an international outbreak associated with formula-dried milk. **Epidemiol Infect**, v. 121, n. 2, p. 289-293, 1998.
- VIEIRA-PINTO, M. et al. Unveiling contamination sources and dissemination routes of *Salmonella* spp. in pigs at a Portuguese slaughterhouse through macrorestriction profiling by pulsed-field gel electrophoresis. **Int J Food Microbiol**, v. 110, n. 1, p. 77-84, 2006.
- WEGENER, H.C. et al. Surveillance of antimicrobial resistance in humans, food stuffs and livestock in Denmark. **Euro Surveillance**, v. 2, n. 3, p. 17-19, 1997.

P436d Pereira, Rosecler Alves

Detecção de Salmonella sp. em emas (Rhea americana): estudos bacteriológicos, sorológicos e reação em cadeia da polimerase./ Rosecler Alves Pereira - Porto Alegre: UFRGS, 2007.

146 f.; il. – Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2007. Cláudio Wageck Canal, Orient.

1. Emas: sorodiagnóstico: bacteriologia 2. Salmonelose animal: diagnóstico 3. Ratitas: microbiologia I. Canal, Cláudio Wageck, Orient. II. Schmidt, Verônica, Co-orient. III. Título

CDD 619.4

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)