

***Salmonella* Agona em Perus (*Meleagris gallopavo*) de criações comerciais no Brasil**

Salmonella Agona in Turkeys (*Meleagris gallopavo*) in commercial farms from Brazil

Mirela Caroline Vilela de OLIVEIRA¹; Marcos Paulo Vieira CUNHA¹;
 Maria Gabriela Xavier de OLIVEIRA¹; Pedro Henrique de Lima FILSNER²; Andrea Micke MORENO²;
 Paulo Eduardo BRANDÃO²; Terezinha KNÖBL¹

¹ Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Patologia, São Paulo – SP, Brasil

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
 Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo – SP, Brasil

Resumo

Salmonella spp. é um dos principais agentes envolvidos em casos de doenças de origem alimentar em humanos, responsável por perdas significativas na avicultura. O presente trabalho investigou a presença de *Salmonella* spp. em fezes de perus comerciais no Brasil. Foram colhidos swabes fecais de 14 lotes de perus comerciais (pool de seis aves/lote). Os swabes foram submetidos aos procedimentos de isolamento bacteriológico convencionais e a detecção de DNA do agente foi realizada com a técnica de PCR. *Salmonella* spp. foi detectada em um total de nove lotes dos 14 avaliados. As amostras foram negativas na identificação molecular dos sorovares Enteritidis e Typhimurium. Os isolados foram encaminhados ao laboratório de referência para sorotipagem e identificados como *S. Agona*; um patógeno considerado emergente em vários países.

Palavras-chave: *Salmonella* spp. *S. Agona*. Perus. PCR. Avicultura.

Abstract

Salmonella spp. is one of the major players involved in cases of foodborne diseases in humans and is responsible for significant losses in the poultry industry. The aim of this study was to investigate the presence of *Salmonella* spp. in feces of commercial turkeys from Brazil. Fecal swabs from 14 turkey farms (pool of six poult/flocks) were collected. The swabs were subject to the conventional bacteriological isolation procedures and to DNA detection of the agent through PCR. *Salmonella* spp. was present in a total of nine from 14 turkey farms evaluated. The samples were negative on molecular identification for serovars Enteritidis and Typhimurium. Isolated strains submitted to the reference laboratory for serotyping were identified as *S. Agona* that has been described as emergent pathogen in several countries.

Keywords: *Salmonella* spp. *S. Agona*. Turkey. PCR. Poultry production.

Um dos instrumentos de intervenção para garantir a inocuidade dos alimentos é o *Rapid Alert System for Food and Feed*. Trata-se de um portal da Comissão Europeia, que tem por finalidade garantir que os produtos de origem alimentar sejam livres de patógenos e toxinas. O sistema RASFF orienta sobre legislação, boas práticas e emite notificações que mantêm os países membros informados sobre riscos. Os registros sobre as exportações de produtos derivados da carne de perus do Brasil para a União Europeia no ano de 2013, apresentaram 11 casos de contaminação por *Salmonella* spp., três casos por *S. Agona*, e um caso para cada um dos sorotipos: *S. Hadar*, *S. Typhimurium*, *S. Schwarzengrund* e *S. Saint Paul* (RASFF, 2013).

A avicultura brasileira possui importância econômica expressiva em âmbito nacional e internacional. O Brasil ocupa a segunda posição no *ranking* mundial de exportação de carne de peru, e o terceiro lugar no *ranking* mundial de produção. No ano de 2012, o Brasil exportou um total de 170.018.295 toneladas, sen-

Correspondência para:

Terezinha Knöbl
 Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
 Departamento de Patologia
 Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87
 CEP 05508-270, São Paulo, SP, Brasil
 e-mail: tknobl@usp.br

Recebido: 05/06/2014

Aprovado: 24/11/2014

do a União Europeia um dos maiores importadores (ABPA, 2013). Apesar de altamente produtivo, o setor ainda se depara com desafios sanitários, dentre os quais estão as doenças entéricas, ocasionadas por patógenos importantes como a *Salmonella* spp. O objetivo deste trabalho foi pesquisar a presença da *Salmonella* spp. em fezes de perus provenientes de criações comerciais das regiões Sul e Centro-Oeste do Brasil.

No ano de 2013, foram coletados conteúdos entéricos de perus procedentes de 14 lotes distintos (pool de fezes de seis aves/lote). A coleta de amostras foi autorizada pelo Comitê de Ética e Uso Animal da FMVZ-USP (CEUA 2699/2012). Os suabes foram mantidos em refrigeração até a chegada ao laboratório, onde foram submetidos a uma etapa de pré-enriquecimento em água peptonada 0,1% e incubados a 37°C por 24 h. Posteriormente, foi realizada a etapa de enriquecimento seletivo em caldo de tetracionato de sódio com incubação a 37°C por 48h, seguida de plaqueamento em meio seletivo XLT4 com incubação a 37°C por 24-48h. A identificação dos isolados foi realizada por meio de série bioquímica (Enterokit – Probac®). Os isolados foram armazenados em meios de estoque e enviados para o Laboratório de Enterobactérias da Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ para sorotipagem.

Após a etapa de isolamento, as culturas obtidas e os suabes contendo as fezes foram submetidos ao diagnóstico molecular com a técnica de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR). Pares de *primers* foram utilizados para a detecção de *Salmonella* spp (gene *ompC*, fragmento com 204 pb), *Salmonella* Enteritidis (gene *ent*, 304 pb) e *Salmonella* Typhimurium (gene *typh*, 401 pb), de acordo com Alvarez et al. (2004).

Os resultados de cultura e da PCR resultaram em 9/14 (64,28%) lotes positivos para *Salmonella* spp. Essa frequência é maior que a relatada por Featherstone et al. (2010) em granjas de perus no Reino Unido (34%). Em um estudo anterior, no Brasil, a análise de 22 lotes de perus apontou a presença de *Salmonella* spp. em seis. O agente foi detectado em perus com diarreia, em associação com diversos patógenos tais

como rotavirus, coronavírus, astrovirus e *Lawsonia intracellularis* (MOURA-ALAREZ et al., 2014).

As amostras identificadas como *Salmonella* spp. no presente trabalho foram negativas para os genes relacionados aos sorotipos *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*. As estirpes isoladas foram identificadas por sorotipagem como *S. Agona*. Os sorovares mais frequentes nas criações avícolas do Brasil incluem *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*. O sorovar *Agona* foi recentemente descrito em suabes de arrasto de criações de galinhas reprodutoras, com uma frequência de 6,1% (CARDOSO et al., 2013). Silva et al. (2013) relataram a presença de uma estirpe de *S. Agona* produtora de β - lactamase (espectro estendido aos betalactâmicos – ESBL), isolada de carcaça de peru no Brasil. Os autores destacaram os riscos à saúde pública implicados na transmissão desse agente por meio do consumo de alimentos de origem animal.

O controle nas criações de perus tornou-se mais rigoroso após os Regulamentos no 2160/2003 e no 584/2008 da Comissão Europeia, que estabeleceram como meta a redução para menos de 1% de perus positivos para *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* até 31 de Dezembro de 2012 (COMISSÃO EUROPEIA, 2012). As criações trabalhadas no presente trabalho atenderam os padrões internacionais vigentes, no entanto, a presença do sorovar *S. Agona* é um achado importante, indicando que outros sorotipos de *Salmonella* também devem ser considerados como indicadores de sanidade avícola.

Erol et al. (2013) relataram a presença de *S. Agona* em 10% das carnes de peru resfriadas e embaladas na Turquia. *Salmonella* *Agona* tornou-se importante em surtos de doenças de transmissão alimentar a partir da década de 1960. O surto de maior impacto ocorreu em 2008, na Europa, quando foram afetados 163 indivíduos de sete nacionalidades distintas, com dois casos fatais (ZHOU et al., 2013). A diversidade genética do agente tem sido atribuída à presença de elementos móveis de transmissão horizontal, tais como bacteriófagos, plasmídeos e integrons, muitos dos quais

estão relacionados à resistência aos antimicrobianos (ZHOU et al., 2013).

O presente trabalho constatou uma elevada frequência de *Salmonella* Agona em fezes de perus comerciais no Brasil. Esses dados alertam para o potencial risco à saúde humana a partir do consumo e da manipulação de aves e de carcaças. O sorovar S. Agona tem

sido considerado um patógeno emergente em muitos países e deve ser controlado com medidas de monitoramento e vigilância nas granjas brasileiras.

Agradecimentos

Bolsa de Iniciação Científica FAPESP – processo 2012/01772-4.

Referências

- ABPA. UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. 2013. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/ubabef/index.php>>. Acesso em: 23 set. 2013.
- ALVAREZ, J.; SOTA, M.; VIVANCO, A. B.; PERALES, I.; CISTERNA, R.; REMENTERIA, A.; GARAIZAR, J. Development of a multiplex PCR technique for detection and epidemiological typing of *Salmonella* in human clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 4, p. 1734-1738, 2004. Disponível em: <<http://jcm.asm.org/content/42/4/1734>>. Acesso em: 16 abr. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.42.4.1734-1738.2004>.
- CARDOSO, A. L. S. P.; KANASHIRO, A. M.; STOPPA, G. F. Z.; CASTRO, A. G. M.; LUCIANO, R. L.; TESSARI, L. N. C. Sorovares de *Salmonella* spp. isolados através de suabes de arrasto provenientes de aves reprodutoras comerciais durante o período de 2006 a 2010. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, v. 11, n. 20, p. 1-14, 2013.
- COMISSÃO EUROPEIA. Regulamento UE. Relativo ao objetivo da União de redução de *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium em bandos de perus, tal como previsto no regulamento (CE) NO. 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho. *Jornal Oficial da União Europeia*, Bruxelas, 21 giugno 2012, SANCO/10976/2012 Rev. 2.
- EROL, I.; GONCUOGLU, M.; AYAZ, N. D.; ELLERBROEK, L.; ORMANCI, F. S. B.; KANGAL, O. I. Serotype distribution of *Salmonella* isolates from turkey ground meat and meat parts. *BioMed Research International*, v. 2013, p. 1-5, 2013. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/281591/>>. Acesso em: 4 mar. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/281591>.
- FEATHERSTONE, C. A.; REICHEL, R.; SNOW, L. C.; DAVIES, R. H.; CHRISTIANSEN, K. H.; CARRIQUE-MAS, J. J.; EVANS, S. J. Investigation of risk factors for *Salmonella* on fattening-turkey farms. *Epidemiology and Infection*, v. 138, n. 10, p. 1427-1438, 2010. Disponível em: <<http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=7873623&fileId=S0950268810000312>>. Acesso em: 7 abr. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268810000312>.
- MOURA-ALVAREZ, J.; NUNEZ, L. F.; ASTOLFI-FERREIRA, C. S.; KNÖBL, T.; CHACON, J. L.; MORENO, A. M.; JONES, R. C.; FERREIRA, A. P. J. Detection of enteric pathogens in Turkey flocks affected with severe enteritis, in Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, v. 46, n. 6, p.1051-1058, 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11250-014-0612-7>>. Acesso em: 25 jan. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-014-0612-7>.
- RASFF. FOOD AND FEED SAFETY ALERTS. **Rapid alert system for food and feed**. 2013. Disponível em: <<https://webgate.ec.europa.eu/rasffwindow/portal/index.cfm?event=searchForm&cleanSearch=1>>. Acesso em: 18 nov. 2013.
- SILVA, K. C.; FONTES, L. C.; MORENO, A. M.; ASTOLFI-FERREIRA, C. S.; FERREIRA, A. J. P.; LINCOPAN, N. Emergence of extended-spectrum β -lactamase CTX-M-2-producing *Salmonella* enterica serovars Schwarzengrund and Agona in poultry farms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 57, n. 7, p. 3458-3459, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3697339/>>. Acesso em: 12 maio 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.05992-11>.
- ZHOU, Z.; McCANN, A.; LITRUP, E.; MURPHY, R.; CORMICAN, M.; FANNING, S.; BROWN, D.; GUTTMAN, D. S.; BRISSE, S.; ACHTMAN, M. Neutral genomic microevolution of a recently emerged pathogen, *Salmonella* enterica serovar Agona. *PLoS Genetics*, v. 9, n. 4, p. 1-19, 2013. Disponível em: <<http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1003471>>. Acesso em: 19 fev. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1003471>.