

Avicultura

INDUSTRIAL.COM.BR

Nº 01|2018 | ANO 109 | Edição 1273 | R\$ 26,00

Gessulli
AGRIBUSINESS
REFERÊNCIA E INOVAÇÃO

ISSN 1516-3105



Proteção ao consumidor

Ministério da Agricultura assina ato normativo que institui o uso de vacinas vivas atenuadas contra *Salmonellas* paratíficas em matrizes, medida que busca prevenir eventuais casos de infecções alimentares

“O BRASIL PRECISA SE LIBERAR DAS AMARRAS DO ATRASO E DA MEDIOCRIDADE”

O cientista político **Christian Lohbauer** fala sobre a construção de um novo modelo político para o Brasil. Sem economizar palavras, comenta sobre o atual cenário econômico, enfatizando o papel do agronegócio para que o país saia de vez da crise



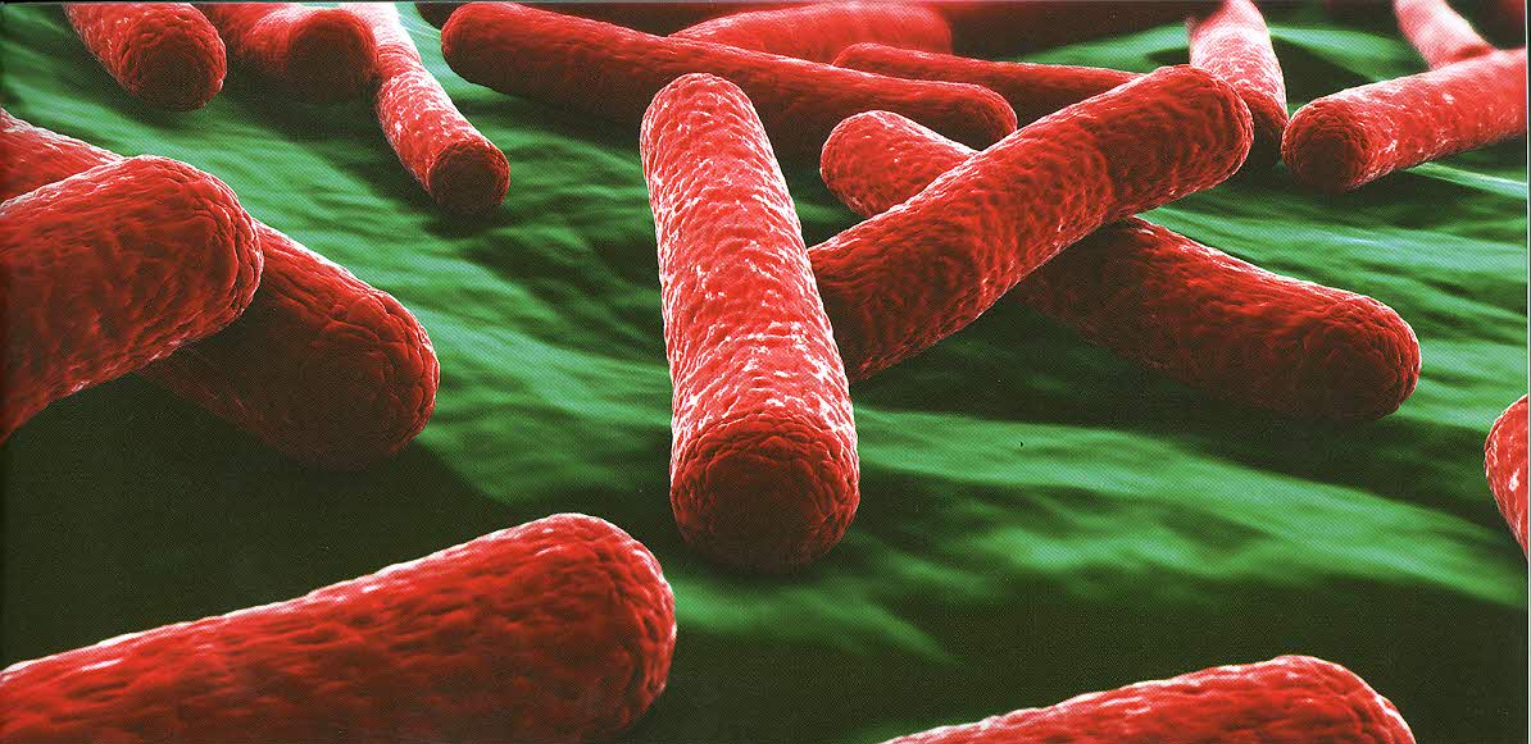
SALMONELOSE TÍFICA EM AVES DE SUBSISTÊNCIA E DE POSTURA COMERCIAL: RELATO DE TRÊS SURTOS COM ÊNFASE NO DIAGNÓSTICO, EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE

A vacinação com a cepa 9R às três semanas de idade demonstrou indução a uma forma sistêmica leve da doença com formação de imunidade humoral e celular. Na análise do tempo de resposta à vacina, o pico de IgM foi detectado uma semana após aplicação, IgG três semanas e a proliferação de linfócitos T ocorreu em quatro semanas

Por | *Philippe Anibal Leão¹, Leticia Batelli de Oliveira², Maria Cristina de Andrade³, Izabella Gomes Hergot⁴, Rafael Gariglio Clark Xavier⁴, Carlos Augusto Leal⁵, Sabrina Castilho Duarte⁶, Roselene Ecco⁷*

Salmonelose tífica é uma doença de fácil disseminação com diversos graus de severidade, causada pela *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Gallinarum biovars Gallinarum e Pullorum (OIE, 2012). A *Salmonella* Gallinarum é responsável pelo tifo aviário (TA) e a *Salmonella* Pullorum pela pulorose (Shivaprasad e Barrow, 2008). As salmonelas tíficas têm sido erradicadas de estabelecimentos avícolas comerciais em países de primeiro mundo da Europa ocidental, Reino Unido, Estados Unidos da América (EUA), Canadá, Austrália e Japão. No entanto, ainda há relato de surtos em granjas de países em desenvolvimento (OIE, 2012; OIE, 2017), sendo que no Brasil, casos de TA e pulorose são recorrentes em aves de produção (Penha Filho *et al.*, 2016). TA e pulorose acometem principalmente frangos de corte, matrizes, poedeiras e perus, porém, patos, codornas, galinhas d'angola e pavões também são acometidos (Shivaprasad, 2000). Apesar da salmonelose tífica ocorrer em aves de qualquer idade, a pulorose acomete geralmente aves entre uma a quatro semanas e o TA, aves mais velhas (Johnson *et al.*, 1992; Oliveira *et al.*, 2005; Shivaprasad, 2000; Barrow e Freitas Neto, 2011). Mortalidade e morbidade variam de acordo com o nível de sanidade do plantel e a patogenicidade da bactéria, mas a morbidade geralmente é superior à mortalidade (Johnson *et al.*, 1992; Shivaprasad,

2000). *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium são outros sorovares importantes para a avicultura comercial, pois podem causar gastroenterites em humanos pelo consumo de carne e ovos contaminados, no entanto, elas não causam surtos de mortalidade em aves (Thomson, 2008). Infecções por salmonelas tíficas ocorrem por via oral atingindo o intestino delgado e invadindo células do epitélio intestinal ou tecido linfóide (principalmente placas de Peyer e tonsilas cecais). Bactérias livres e fagócitos infectados migram para tecidos como fígado, baço e medula óssea para multiplicação bacteriana (Barrow *et al.*, 1994; Barrow e Freitas Neto, 2011). Após a multiplicação, as bactérias migram novamente para o tecido linfóide do intestino por onde elas retornam às fezes, causando sua eliminação para o ambiente (Barrow e Freitas Neto, 2011). *Salmonella* Pullorum e *Salmonella* Gallinarum são bactérias não flageladas, gram negativas, não esporogênicas e anaeróbicas facultativas (Shivaprasad e Barrow, 2008; Barrow e Freitas Neto, 2011). Genes relacionados à virulência das salmonelas tíficas, conhecidos como ilhas de patogenicidade da *Salmonella* sp. (*Salmonella* pathogenicity islands – SPI), têm sido apontados como principais fatores de virulência (Eswarappa *et al.*, 2009). Hemolisinas produzidas por *Salmonella* Gallinarum podem também realizar importante função na patogenicidade (Agrawal *et al.*, 2005).



Os principais sinais clínicos relacionados ao TA e pulorose são apatia, refugagem, penas eriçadas, anorexia, desidratação e diarreia (Rettger e Harvey, 1908; Shivaprasad, 2000; Mdegela *et al.*, 2002; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013). Aves jovens podem ter problemas de empenamento e ganho de peso e não se desenvolverem adequadamente. Em aves mais velhas, conversão alimentar, produção de ovos e eclosão podem piorar de acordo com a severidade da doença (Shivaprasad, 2000). No entanto, é possível que aves infectadas não manifestem sinais clínicos (Johnson *et al.*, 1992; Oliveira *et al.*, 2005). As alterações macroscópicas ocorrem comumente no fígado e baço. No fígado, ocorre hepatomegalia por hiperemia e inflamação, sendo que nos casos agudos o aspecto do fígado é vermelho acobreado. Em casos subagudos pode haver áreas multifocais a coalescentes vermelho-escuras e/ou esbranquiçadas envoltas por bordas hiperêmicas (Rettger e Harvey, 1908; Ferguson *et al.*, 1961; Barrow *et al.*, 1992; Berchieri *et al.*, 2000; Shivaprasad e Barrow, 2008; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013). No baço, a principal alteração é de esplenomegalia, podendo em alguns casos subagudos haver áreas semelhantes às encontradas no fígado (Ferguson *et al.*, 1961; Berchieri *et al.*, 2000; Mdegela *et al.*, 2002; Shivaprasad e Barrow, 2008). Microscopicamente, a alteração mais comum é a necrose multifocal no fígado e baço (Shivaprasad e Barrow, 2008; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013), podendo ou não haver infiltrado heterofílico (Shivaprasad e Barrow, 2008; Garcia *et al.*, 2010).

A transmissão pode ser horizontal e vertical, sendo a transmissão vertical importante fator epidemiológico da pulorose, pois a positividade de uma granja reprodutora pode resultar em ampla disseminação de *Salmonella Pullorum* (Johnson *et al.*,

1992). Nos casos de tifo aviário, a transmissão horizontal se mostra mais relevante, pois, estudos tem questionado a importância da transmissão vertical de *Salmonella Gallinarum*, considerando-a inexistente ou muito baixa (Berchieri *et al.*, 2000; Berchieri *et al.*, 2001; Barrow e Freitas, 2011). O custo para manter um lote livre de salmonelas tíficas é elevado, isso devido aos gastos com monitorias e biosseguridade da granja (Johnson *et al.*, 1992). Em casos de surto, as principais perdas econômicas ocorrem por mortalidade e eliminação de aves infectadas, aumento dos custos com medicamentos, dentre outras causas (Shivaprasad, 2000). No Brasil, o controle oficial dos plantéis de aves de produção para *Salmonella Gallinarum*, *Salmonella Pullorum*, *Salmonella Typhimurium* e *Salmonella Enteritidis*, seguem as normas descritas pelas Instruções Normativas (IN) vigentes, que descrevem também os procedimentos a serem realizados em casos de surto de salmonelose tífica (Brasil, 2003; Brasil, 2013; Brasil, 2016; Brasil, 2017). A IN 78/2003 descreve as normas técnicas para controle e certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas de reprodutoras como livres de *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum* (Brasil, 2003). Para frangos de corte e perus, esse monitoramento é estabelecido pelas INs 10/2013, 20/2016 e 08/2017. Para a postural comercial as INs 10/2013 e 08/2017 regulam o controle da *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*, não havendo monitoramento para *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum* (Brasil, 2013; Brasil, 2017).

Descreve-se a ocorrência de salmonelose em poedeiras de subsistência e comerciais, além de aspectos referentes às fontes de infecção, transmissão, diagnóstico, controle e prevenção.

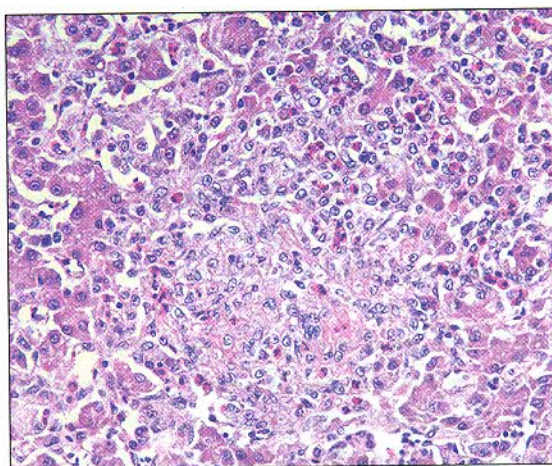


RELATO DOS CASOS

Três ocorrências de salmonelose tífica são descritas, todas confirmadas por exame bacteriológico, marcação *in situ* e duas sorotipificadas. Amostras coletadas e fixadas em formol tamponado neutro 10% foram encaminhadas para análise histopatológica no Laboratório de Patologia Veterinária da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG). O exame bacteriológico foi realizado no Laboratório de bacteriologia do Departamento de Preventiva da EV-UFMG. A sorotipificação foi realizada no Cedisa e a imunistoquímica IHQ no Laboratório de Genética e Sanidade Animal (SLSGA) situados na Embrapa Suínos e Aves (Concórdia, Santa Catarina). O primeiro surto ocorreu em julho de 2015, em uma criação com 200 poedeiras de subsistência da região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais. O proprietário relatou a morte de 100 aves no período de três semanas, de diferentes idades com sinais de apatia, estertor pulmonar, diarreia esbranquiçada e decúbito esternal. O segundo surto ocorreu em uma granja comercial de postura com frangas de 60 dias de idade, em dezembro de 2015. A mortalidade estava moderadamente acima (0,2%) da taxa diária normal. O terceiro surto também ocorreu em aves de postura, de 65 semanas de idade de uma granja comercial, em março de 2017. O responsável técnico relatou leve aumento de mortalidade do lote. Clinicamente, as aves apresentaram apatia ou morreram subitamente sem evidência de sinais clínicos. As aves de subsistência não eram vacinadas contra *Salmonella* sp. Não foi obtido histórico das aves do segundo surto e as aves de postura do terceiro surto foram vacinadas aos 35 e 90 dias de idade com a cepa 9R de *Salmonella* Gallinarum. Três aves adultas de subsistência (primeiro surto) de aproximadamente três meses de idade foram encaminhadas para necropsia pelo proprietário para a EV-UFMG. Macroscopicamente, em duas aves, os fígados estavam moderadamente aumentados (hepatomegalia) e intensamente vermelho acobreados. No parênquima havia numerosos focos esbranquiçados milimétricos. Esplenomegalia acentuada foi constatada em uma das aves. O lúmen do intestino delgado continha fezes semilíquidas e vários parasitas cilíndricos com 5 cm de comprimento, características compatíveis com *Ascaridia galli*. O cólon e reto estavam dilatados, preenchidos por gás e conteúdo semipastoso marrom com estrias brancas. Coração, fígado, baço, ovários, intestino, glândula adrenal, conjuntiva e rins foram coletados, fixados em formol 10% e processados

rotineiramente para histopatologia. Amostras de fígado e baço de cada ave foram resfriadas em gelo e encaminhadas para bacteriologia. Microscopicamente, no fígado dessas aves, havia hepatite necrótica heterofílica e histiocitária, multifocal e aleatória, moderada a acentuada. Estas foram caracterizadas como áreas multifocais aleatórias de necrose de coagulação, entremeados por fibrina, restos celulares, numerosos macrófagos, heterófilos, plasmócitos e linfócitos em menor quantidade (nódulos tífoides). Em duas aves a lesão era moderada e na terceira era acentuada (Figura 01). Além disso, havia pigmento amarelado no citoplasma de macrófagos e hepatócitos em quantidade moderada. No baço de duas aves havia esplenite heterofílica difusa moderada visualizada pela rarefação de linfócitos com infiltrado difuso e moderado de heterófilos na polpa vermelha. Na polpa branca havia infiltrado histiocitário difuso e moderada quantidade de material eosinofílico fibrilar ao redor e na parede de vasos (necrose fibrinoide) (Figura 02). Duas aves apresentaram também alterações no intestino e tonsilas cecais classificadas como enterocolite heterofílica difusa leve caracterizadas por criptas dilatadas com restos celulares (necrose), fibrina e heterófilos no lúmen. Além dessas alterações, as aves também apresentaram miocardite linfo-histioplasmocitária multifocal leve. De acordo com as alterações macro e microscópicas dessas aves foi sugerido o diagnóstico de infecção bacteriana sistêmica causada por *Salmonella* Gallinarum devido à idade das aves.

Figura 01. Histopatologia do fígado de uma ave de subsistência naturalmente infectada por *Salmonella* Gallinarum. Área de necrose fibrinoide associada a perda de hepatócitos e infiltrado por macrófagos e heterófilos. Hematoxilina e Eosina. 400x



Nas aves de postura comercial (segundo surto), as lesões macroscópicas eram similares às aves de subsistência. Seis aves foram necropsiadas na granja e as amostras coletadas e submetidas ao laboratório de Patologia da EV-UFMG. Macroscopicamente, havia fígados moderadamente aumentados e intensamente vermelho acobreados (Figura 03) e fígados com numerosas áreas milimétricas amareladas no parênquima. Os baços estavam aumentados e vermelhos escuros ou com áreas brancas milimétricas multifocais (Figura 04). Fígado, baço, oviduto, ovários, pulmões e traqueia foram coletados, fixados em formol 10% e enviados para exame histopatológico. Fígado e baço também foram coletados e resfriados em gelo para análise bacteriológica. Microscopicamente havia hepatite necrótica, heterofílica e histiocitária, multifocal e aleatória moderada com características semelhantes às aves de subsistência. No baço havia esplenite heterofílica multifocal discreta caracterizada como infiltrado heterofílico moderado na polpa vermelha, numerosos macrófagos, além de hiperemia moderada. Ao redor de vasos sanguíneos havia moderada quantidade de material fibrilar e eosinofílico (fibrina), além de depleção linfóide multifocal moderada em três dos quatro baços coletados. No ovário havia ooforite heterofílica e histiocitária multifocal e folículos em várias fases de desenvolvimento, sendo a camada granulosa de alguns desses folículos substituída por infiltrado heterofílico e histiocitário, restos celulares (necrose) e material fibrilar eosinofílico (fibrina). No oviduto havia infiltrado heterofílico e histiocitário multifocal. No pulmão havia pneumonia intersticial heterofílica multifocal moderada.

No terceiro surto, quatro aves adultas com sinais de apatia foram eutanasiadas na granja e necropsiadas. Amostras de fígado, baço e coração foram coletadas, fixados em formol 10% e encaminhadas ao laboratório de Patologia da EV-UFMG. Amostras de fígado também foram conservadas em gelo e submetidas à bacteriologia. Macroscopicamente, os fígados estavam aumentados, vermelho pálido com focos avermelhados na superfície subcapsular e no parênquima. Em um fígado havia também múltiplos focos milimétricos esbranquiçados no parênquima. Os baços também estavam moderadamente a intensamente aumentados e ao corte eram esbranquiçados. Microscopicamente, havia hepatite fibrinonecrotica e heterofílica multifocal aleatória moderada caracterizada por áreas multifocais aleatórias de



necrose de coagulação associadas a infiltrado heterofílico, histiocitário e deposição de fibrina entre os sinusoides (Figura 05). Na parede dos vasos sanguíneos em duas aves havia necrose fibrinoide e em uma ave havia vasculite linfocitária. As lesões encontradas nos baços caracterizaram-se por esplenite fibrinonecrotica heterofílica multifocal a coalescente moderada. Secções de 3 μ m do fígado e baço das três aves foram selecionados e montados em lâminas pré-tratadas com silane para a marcação por imunistoquímica. Após exposição antigênica foi realizado o bloqueio de peroxidase endógena, seguida da incubação com anticorpo primário. Foi utilizado o anticorpo policlonal *Salmonella* polivalente (Probac do Brasil, São Paulo, SP), na diluição de 1:2.000 em secções seriadas de tecido. A incubação com

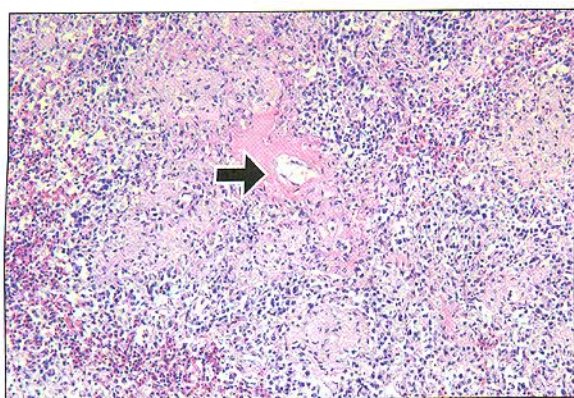
anticorpo secundário foi feita com EnVision-Dual link (DAKO, Carpinteria, CA, USA), seguindo as especificações do fabricante. A revelação com substrato cromogênico foi feita utilizando diaminobenzidina para anticorpos conjugados a peroxidase, controlando o tempo de exposição. A contra-coloração foi feita com hematoxilina de Mayer para anticorpos com peroxidase. Após as reações, as lâminas foram lavadas, desidratadas em bateria de etanol e montadas com Entellan (EMS, Hatfield, PA, EUA). A marcação foi positiva para o antígeno de *Salmonella* sp. no fígado e baço de todas as aves.

O fígado e/ou baço resfriados dos três surtos submetidos ao exame bacteriológico foram amostrados de forma asséptica e plaqueados em Ágar Soja Tripticaseína (TSA; Kasvi) suplementado com 5% de sangue ovino. Além disso, esses tecidos também foram plaqueados em Ágar MacConkey (MCC; Kasvi) e inoculados em caldo de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis (Kasvi). As placas e os caldos foram incubados a 37°C por 24 horas. Posteriormente, os caldos foram plaqueados em Ágar Hektoen Entérico (HK; Kasvi) e as placas incubadas a 37°C por 24 horas. Adicionalmente, os isolados foram identificados pelo equipamento Microflex MALDI Biotyper (Empresa BD/Bruker), por espectrometria de massas para análise de proteínas ribossomais e proteínas abundantes específicas para identificação dos microrganismos. Os resultados confirmaram a infecção por *Salmonella* sp. nos órgãos. As colônias isoladas dos dois primeiros surtos foram



enviadas para sorotipificação. Para este procedimento, três a cinco colônias com características relacionadas a *Salmonella* sp. foram submetidas a bioquímica e confirmadas por sorologia com soro polivalente anti-O pela técnica de aglutinação rápida utilizando antissoros Poly A-Vi ("O") e O:9 ("D") (SSI). O resultado confirmou a sorovar Gallinarum. A sorotipificação do terceiro surto não foi realizada.

Figura 02. Histopatologia do baço de uma poedeira comercial naturalmente infectada por *Salmonella* Gallinarum. Necrose fibrinoide vascular (seta) multifocal associada a infiltrado por macrófagos. Hematoxilina e Eosina. 200x



A sensibilidade das salmonelas isoladas do segundo e terceiro surto foram testadas frente a diferentes antimicrobianos, pelo método de discos de difusão de acordo com o Manual VET01-A4 do "Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI, 2013). A suspensão bacteriana teve a turbidez ajustada para o padrão de número 0,5 da escala de McFarland e plaqueada por toda a superfície do meio Ágar Müller Hinton (MH; Kassi). Os diâmetros dos halos de inibição foram aferidos com régua milimetrada, após incubação de 24 horas a 37°C. As salmonelas isoladas do segundo surto foram sensíveis a Fosfomicina, Ceftiofur, Colistina, Trimetopim + sulfadimetiazol, Cloranfenicol, Gentamicina, Amoxicilina e Doxiciclina; pouco sensíveis a Tetraciclina e resistentes a Enrofloxacin, Norfloxacin, Ciprofloxacina e Oxacilina. As salmonelas isoladas do terceiro surto foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados (Colicistina, Ceftiofur, Tetraciclina, Norfloxacin, Neomicina e Amoxicilina).

DISCUSSÃO

As lesões macroscópicas e microscópicas encontradas nos três surtos foram compatíveis com as alterações de TA (Shivaprasad e Barrow, 2008; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013),

sendo confirmadas pela bacteriologia e IHQ. A sorotipificação confirmou a biovar *Salmonella* Gallinarum como responsável pela infecção nas aves de subsistência e em um dos surtos em poedeiras comerciais.

A literatura infere que TA acomete principalmente aves adultas (Shivaprasad, 2000; Barrow e Freitas Neto, 2011), e os lotes acometidos do presente estudo tinham diferentes semanas de idade (60 dias a 65 semanas), o que está de acordo com outros relatos (Mdegela *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2005). A pulrose é mais frequente em aves jovens e o TA em aves adultas (Shivaprasad, 2000), favorecendo a ocorrência de surtos de salmonelose em idades variadas (Johnson *et al.*, 1992; Mdegela *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2005), o que reforça a necessidade e importância da monitoria dos lotes até o abate.

A via de transmissão e infecção de *Salmonella* Pullorum e *Salmonella* Gallinarum representa um fator importante na epidemiologia da doença. Enquanto a transmissão vertical de *Salmonella* Pullorum representa fator fundamental na disseminação da bactéria (Johnson *et al.*, 1992; Wigley *et al.*, 2005a), a importância desse tipo de transmissão para *Salmonella* Gallinarum é questionada, sendo a transmissão horizontal sua principal forma de disseminação (Berchieri *et al.*, 2000; Berchieri *et al.*, 2001). Várias são as possíveis fontes de infecção horizontal dentre eles destacam-se equipamentos, pessoas, veículos, aves silvestres e domésticas, ratos, moscas e ácaros, ração, grãos e incubatório (Johnson *et al.*, 1992; Wakawa *et al.*, 2015). É possível que a infecção dos lotes comerciais do presente relato tenha sido decorrente de qualquer um desses fatores de risco, pois o nível de biossegurança nas granjas comerciais possuía falhas no controle de acesso de pessoas e equipamentos/veículos e, especialmente a falta de telas nos galpões para evitar o contato com aves de vida livre. Outro importante fator de risco é a presença do ácaro hematófago de poedeiras denominado *Dermanyssus gallinae*. Este parasita causa perda por anemia e diminuição na produção de ovos e foi identificado como carreador e possivelmente transmissor de diferentes bactérias, entre elas, *Salmonella* sp. (Moro *et al.*, 2007; Moro *et al.*, 2009). Visando a prevenção de *Salmonella* sp., a dedicação a higiene do ambiente é fator fundamental para evitar a presença deste parasita no ambiente produtivo e por consequência determinar a prevenção de *Salmonella* sp. nas aves. No presente relato não foi pesquisada a presença de ácaros nos sistemas incluídos neste estudo.

A criação de aves de subsistência é considerada um fator epidemiológico de risco, pelo baixo controle sanitário desse sistema que, quando infectados por *Salmonella* Pullorum e

Salmonella Gallinarum, podem colocar em risco lotes comerciais (Johnson *et al.*, 1992; Shivaprasad, 2000). Dessa forma, é importante o controle sanitário das aves de fundo de quintal. Além de manter aves de produção distantes desses tipos de criações é importante a adoção de medidas de biossegurança independentemente do tamanho do sistema de criação. Em produção avícola comercial, é vital o controle das granjas de reprodutoras, pelo risco de transmissão vertical, que em caso de infecção, pode distribuir a bactéria a um número elevado de estabelecimentos avícolas de corte ou ovos infectados (Johnson *et al.*, 1992). No entanto, apesar das afirmações de transmissão da *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum via ovo (Shivaprasad, 2000; Barrow e Freitas, 2011), alguns autores questionam a ocorrência da transmissão vertical de *Salmonella* Gallinarum e sua importância para a epidemiologia do TA (Berchieri *et al.*, 2000; Berchieri *et al.*, 2001). Experimentos com *Salmonella* Gallinarum obtiveram baixa ou nenhuma transmissão vertical, sendo sugerido que casos de pintos e ovos infectados por *Salmonella* Gallinarum foram decorrentes de contaminação externa (incubatório, fezes, contato direto). Dessa forma, a transmissão horizontal demonstra ter maior significância na epidemiologia do TA, sendo as fezes uma das principais formas de infecção (Berchieri *et al.*, 2000; Berchieri *et al.*, 2001; Barrow e Freitas, 2011). Um exemplo do risco de transmissão das salmonelas é o relato de um surto de pulrose nos EUA em 1989, onde um número pequeno de aves da linhagem macho de um avoeiro causou a infecção de 20 lotes de matrizes, transmitindo a bactéria para mais 150 lotes de frangos de corte distribuídos em cinco estados. A principal suspeita da fonte de infecção das avós foram aves de subsistência criadas nas proximidades, que mesmo apresentando apenas 2% de positividade para *Salmonella* Pullorum, foram possivelmente a origem de infecção (Johnson *et al.*, 1992). Dessa forma, a obtenção de aves de granjas reprodutoras livres de *Salmonella* sp. é uma importante medida preventiva.

Poedeiras tem queda da imunidade celular durante o início da postura. A diminuição das células do sistema imunológico (linfócitos T) circulantes durante esse período coincide com a infecção do aparelho reprodutor pela *Salmonella* Pullorum e aumento da sua multiplicação. A infecção leva a ativação de linfócitos T com aumento de IFN- γ que é responsável pela ativação de macrófagos, levando a redução da infecção sistêmica inicial aguda, mas a ave torna-se portadora da bactéria. Durante o início da postura, com a diminuição de linfócitos T, há queda na quantidade de macrófagos ativados e consequente aumento da multiplicação bacteriana com infecção

do aparelho reprodutor (Wigley *et al.*, 2005a). Considerando estes fatores imunológicos, aves que tenham sido mantidas como reservatórios em um ambiente produtivo, possivelmente podem causar nesta fase imunológica a infecção das outras aves e manutenção da bactéria no ambiente. Os surtos avaliados neste relato correspondem a frangas de sete semanas, ou seja, antes do início da postura, com 50% do lote apresentando sinais clínicos (primeiro surto) e um lote de poedeiras de 65 semanas (terceiro surto) vacinadas aos 35 e 90 dias de idade com a cepa 9R de *Salmonella* Gallinarum. Assim, é importante que seja estabelecido, independente do sistema produtivo, um esquema de vacinação associado às ações de biossegurança.

Figura 03. Poedeira comercial naturalmente infectada por *Salmonella* Gallinarum. Fígado aumentado difusamente vermelho acobreado caracterizando salmonelose aguda



Estudo realizado em poedeiras e matrizes encontrou maior eficiência no uso de uma dose às cinco semanas, com vacina viva da cepa 9R, e outra dose às nove semanas, com vacina bacteriana inativada (bacterina) (Paiva *et al.*, 2009). A vacinação com a cepa 9R às três semanas de idade demonstrou indução a uma forma sistêmica leve da doença com formação de imunidade humoral e celular. Na análise do tempo de resposta à vacina, o pico de IgM foi detectado uma semana após aplicação, IgG três semanas e a proliferação de linfócitos T ocorreu em quatro semanas (Wigley *et al.* 2005b). Em outro estudo sobre a eficácia da vacina 9R em galinhas desafiadas com *Salmonella* Gallinarum, os autores recomendam vacinar as aves às seis e às dezoito semanas de idade para garantir proteção prolongada contra o TA (Lee *et al.*, 2007). No criatório de subsistência do presente relato, as aves não eram vacinadas contra *Salmonella* sp., sendo este um fator predisponente para a infecção e doença nas aves de subsistência do presente surto. Nas aves do terceiro surto, pode-se relacionar o surto a fatores



relacionados a falhas na biossegurança na granja como falta de controle na entrada e falta de telamento com acesso de aves silvestres de vida livre ao local.

Figura 04. Poedeira comercial naturalmente infectada por *Salmonella Gallinarum*. Baço aumentado e com áreas milimétricas esbranquiçadas. Na região topográfica do ovário há áreas de hemorragia



O diagnóstico de salmonelose tífica é realizado iniciando pela análise criteriosa do histórico das aves, identificando os sinais clínicos, taxa de mortalidade e idade (Ferguson *et al.*, 1961; Johnson *et al.*, 1992; Shivaprasad, 2000; Mdegela *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2005; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013). Em seguida deve ser realizada necropsia minuciosa, observando atentamente as alterações (Rettger e Harvey, 1908; Ferguson *et al.*, 1961; Barrow *et al.*, 1992; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013). Fígado, baço, coração, ovário e rins, com ou sem alterações macroscópicas, devem ser fixados em formol neutro 10% para exame histopatológico. Além disso, outros órgãos com alterações devem ser também coletados e fixados (Shivaprasad, 2000; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013; Dutta *et al.*, 2015). Caso a necropsia e a microscopia indiquem TA ou pulorose, pode ser feita a identificação do agente de diferentes formas, entretanto, deve-se associar também a cultura bacteriana pela especificidade e sensibilidade alta. Para cultura, fígado, baço, aparelho reprodutor e tonsilas cecais devem ser enviadas resfriadas (Mariano *et al.*, 1992; OIE, 2012). Após identificação da *Salmonella* sp., deve-se realizar a diferenciação da biovar, principalmente entre Gallinarum, Pullorum e Enteritidis pela semelhança antigênica entre elas.

A sorotipificação da *Salmonella* sp. do terceiro surto não foi realizada, porém os achados macro e microscópicos e a idade das aves sugerem ter sido causada pela *Salmonella* Gallinarum (Mdegela *et al.*, 2002; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013).

Para monitoria de lotes, testes sorológicos são de grande ajuda na detecção das salmonelas, pela rapidez do resultado no uso de grande quantidade de amostras. Dentre as opções, as mais recomendadas são o teste imunoenzimático (ELISA), a aglutinação rápida em placa (SAR), a aglutinação lenta em tubos (ALT) e a microaglutinação (Gast e Beard, 1990; Barrow *et al.*, 1992; Waltman e Horne, 1993; Shivaprasad, 2000; Brasil, 2003; OIE, 2012; Brasil, 2013; Brasil, 2016; Brasil, 2017). No entanto, testes sorológicos devem ser utilizados apenas na monitoria dos lotes, pois podem apresentar falso negativo e falso positivo com outros sorovares de *Salmonella* sp., principalmente *S. Enteritidis*, e estirpes vacinais (Gast e Beard, 1990; Barrow *et al.*, 1992; Waltman e Horne, 1993; Shivaprasad, 2000; OIE, 2012). No Brasil a monitoria em reprodutoras e frangos de corte é realizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) (Brasil, 2003; Brasil, 2013; Brasil, 2016; Brasil, 2017). No entanto, poedeiras comerciais não são monitoradas para *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum pelo Mapa, mas apenas *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium (Brasil, 2013; Brasil, 2017). Em granjas de reprodutoras são realizados exames bacteriológicos e sorológicos como SAR, ALT ou microaglutinação. Em lotes que apresentarem sinais clínicos suspeitos de salmonelose tífica ou positivos na sorologia e/ou bacteriologia, o diagnóstico deve ser confirmado por cultura bacteriana e isolamento com sorotipificação de amostras (vísceras) coletadas de aves doentes (Brasil, 2003). Para a monitoria em frangos de corte e perus, a coleta de amostras é realizada próximo ao abate, de forma que os resultados sejam conhecidos antes do envio das aves para o abate. Fezes e suabes de arrasto são coletadas para o monitoramento, sendo a detecção do agente feita por cultura bacteriana e métodos moleculares (Brasil, 2016).

As aves do primeiro surto apresentaram alguns sinais comumente observados no TA como apatia e diarreia (Shivaprasad, 2000). Sinais clínicos não foram relatados no segundo surto, e no terceiro surto, apenas apatia e morte súbita foram descritas. É possível que as aves infectadas tenham apresentado outros sinais, como penas eriçadas, anorexia e desidratação (Rettger e Harvey, 1908; Shivaprasad, 2000; Mdegela *et al.*, 2002; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013). Outros sinais já foram descritos em salmoneloses tíficas como cegueira (Shivaprasad, 2000), anemia (Garcia *et al.*, 2013), inchaço da articulação tibiotarso metatarsica (Ferguson *et al.*, 1961; Shivaprasad, 2000) e úmero rádio ulnar (Shivaprasad, 2000). Porém, em nenhum dos três surtos deste relato foram constatados esses sinais ou lesões nas articulações.

Em todos os três surtos havia hepatomegalia e coloração variando de difusamente acobreada ou vermelha com áreas esbranquiçadas milimétricas, alterações comuns em lotes com TA. Diferentes colorações já foram descritas no fígado, que se devem ao curso da doença e tipo de lesões existentes no momento do exame (Mdegela *et al.*, 2002; Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013; Dutta *et al.*, 2015). Esplenomegalia foi descrita no primeiro e terceiro surto e esta alteração foi documentada em outros relatos (Ferguson *et al.*, 1961; Berchieri *et al.*, 2000; Mdegela *et al.*, 2002; Dutta *et al.*, 2015). No terceiro surto, ao corte dos baços havia focos esbranquiçados multifocais, que também foram identificados em aves experimentalmente inoculadas com *Salmonella* Gallinarum (Berchieri *et al.*, 2000; Mdegela *et al.*, 2002). Outras alterações em salmoneloses tíficas são descritas, como sinais de septicemia com hiperemia do tecido subcutâneo, músculos esqueléticos congestos e marrom escuros e áreas multifocais esbranquiçadas nos rins e pâncreas (Mdegela *et al.*, 2002). Ocorre ainda pericardite (Ferguson *et al.*, 1961) e miocardite (Barrow *et al.*, 1992; Mdegela *et al.*, 2002; Dutta *et al.*, 2015), além de enterite (Rettger e Harvey 1908; Dutta *et al.*, 2015; Mdegela *et al.*, 2002). Nas articulações tibiotarso metatársica e/ou úmero rádio ulnar pode haver exsudato viscoso e branco-amarelado ou material caseoso (Ferguson *et al.*, 1961; Mariano *et al.*, 1992).

Microscopicamente havia hepatite fibrinonecrótica heterofílica multifocal em todos os fígados coletados dos três surtos, lesão comum em lotes com TA (Garcia *et al.*, 2010; Garcia *et al.*, 2013; Dutta *et al.*, 2015). Além disso, outra lesão encontrada em todos os casos foi de esplenite heterofílica (fibrinonecrótica no terceiro surto), alteração descrita em outros experimentos com *Salmonella* Gallinarum (Garcia *et al.*, 2013). No segundo surto as aves tinham oofonte heterofílica e histiocitária multifocal, alteração já documentada nessa doença (Dutta *et al.*, 2015).

Diferenças genômicas sugerem que *Salmonella* Gallinarum seja descendente evolutivo de *S. Enteritidis* (Thomson *et al.*, 2008). No entanto, *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum, diferentes das outras salmonelas entéricas como *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, causam sinais clínicos em aves domésticas. Essa particularidade pode estar relacionada à ausência de flagelo nas salmonelas tíficas, pois o flagelo induz resposta inflamatória e sem esta resposta, a bactéria consegue atingir o epitélio do aparelho digestório e infectar a ave (Thomson *et al.*, 2008; Barrow e Freitas Neto, 2011). Além disso, a ausência do flagelo pode representar um fator importante na septicemia de TA e pulrose (Jia li *et al.*, 1993; Barrow e Freitas Neto, 2011). A *Salmonella* sp. infecta macrófagos e sobrevive no interior destes para a infecção sistêmica (Chappell *et al.*, 2009). A morte das aves infectadas pode ocorrer pela endotoxemia subsequente a lise de macrófagos. A rápida multiplicação de *Salmonella* Gallinarum intracelular causa a destruição destas, gerando uma forte reação antígeno-anticorpo, o que pode levar a sinais clínicos severos e morte (Garcia *et al.*, 2013). Algumas linhagens de poedeiras são mais resistentes a salmoneloses tíficas (Bumstead e Barrow, 1993). Linhagens leves brancas, por exemplo, são mais resistentes a *Salmonella* Gallinarum (Oliveira *et al.*, 2005). Nessas aves, ocorre inibição da multiplicação das bactérias no interior de macrófagos, consequentemente, menos bactérias irão para a corrente sanguínea, evitando septicemia e morte (Wigley *et al.*, 2002).

Informações referentes ao controle e tratamento pós-surto nas granjas estudadas não foram obtidas, no entanto, várias medidas podem ser adotadas. O tratamento com antibióticos no Brasil não pode ser realizado em reprodutoras, porém é autorizado na produção de carne e ovos (Brasil, 2016) em alguns Estados do Brasil. Na produção de frangos de corte, o tratamento não é muito utilizado pelo alto custo e pelos riscos sanitários em face da possibilidade de permitir a permanência de aves infectadas no lote, sendo o abate do lote a medida mais indicada e segura.

Estudo realizado em 50 isolados de *Salmonella* Gallinarum e *Salmonella* Pullorum brasileiros, encontrou maior sensibilidade dos isolados para β -lactâmicos (Amoxicilina, Ácido clavulânico, Cefazidima, Cefepima entre outros) e para alguns não β -lactâmicos (Tetraciclina, Florfenicol e Sulfametoxazol-Trimetropina). No entanto, as bactérias apresentaram certa resistência a Enrofloxacina, Ciprofloxacina e Ácido nalidíxico (Penha Filho *et al.*, 2016). Assim como no estudo citado acima, no antibiograma do segundo surto houve resistência a Enrofloxacina e Ciprofloxacina; e baixa sensibilidade a Tetraciclina.

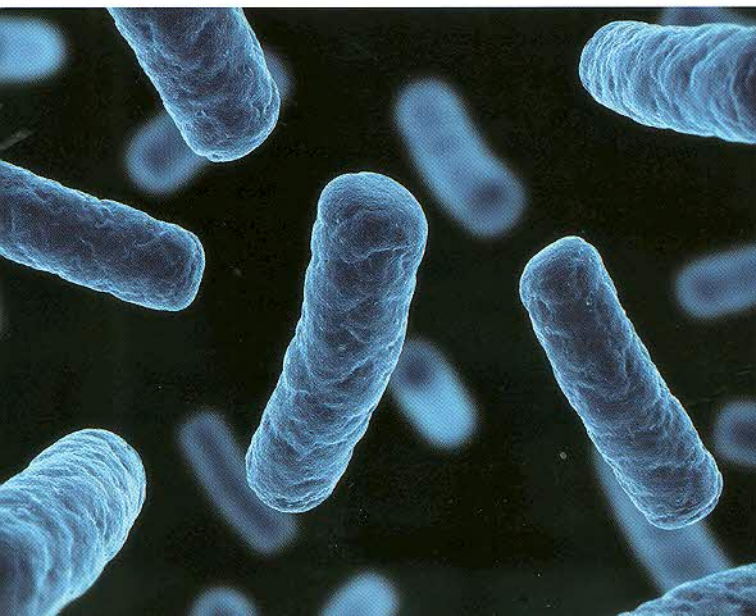
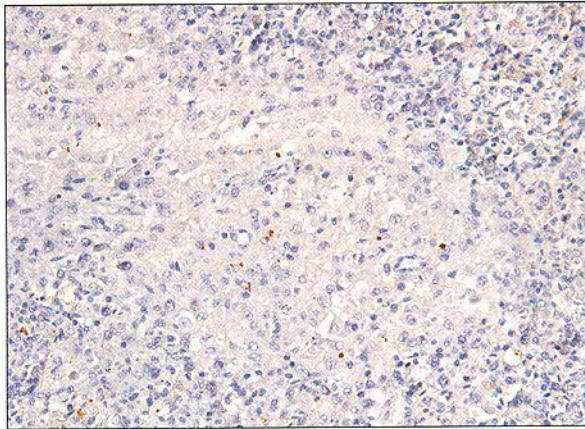


Figura 05. Baço de uma ave de subsistência naturalmente infectada por *Salmonella* Gallinarum. Sinal positivo visualizado pela cor marrom intracitoplasmática. Imuno-histoquímica. Streptavidina biotina: 400x



Doses terapêuticas de antibióticos podem mascarar a infecção dos lotes, reduzindo a carga bacteriana a níveis indetectáveis por exames laboratoriais de rotina como a cultura bacteriana (Johnson *et al.*, 1992). Várias práticas podem ser realizadas para evitar a disseminação de *Salmonella* Gallinarum, dentre eles, a retirada imediata de aves mortas nos lotes e o controle de roedores, os quais são medidas importantes para impedir que a bactéria se prolifere no ambiente (Oliveira *et al.*, 2005; Wakawa *et al.*, 2015). Além das medidas de biossegurança, a prática da vacinação pode reduzir significativamente a infecção por *Salmonella* Gallinarum em criação de aves (Paiva *et al.*, 2009). No Brasil, aves dos núcleos de reprodutoras positivas para *Salmonella* Gallinarum ou *Salmonella* Pullorum, devem ser sacrificadas e os ovos descartados (incubados ou não). O estabelecimento perde o certificado de livre de *Salmonella* Gallinarum e/ou *Salmonella* Pullorum até que o núcleo tenha três resultados negativos sequenciais, podendo retornar a seu status futuramente (Brasil, 2003). Caso a detecção seja em granjas de corte, é de obrigação do estabelecimento tomar algumas medidas após a saída do lote: fermentar a cama/esterco de todos os aviários do núcleo ou realizar outro tratamento aprovado pelo Departamento de Saúde Animal (DAS) capaz de eliminar a infecção por *Salmonella* sp. Após tratamento da cama/esterco, essa deve ser descartada e os galpões desinfetados. Os aviários do núcleo positivo devem então permanecer de vazio sanitário por no mínimo 15 dias, em seguida uma investigação deve ser feita para identificar a fonte de infecção das aves (Brasil, 2013; Brasil, 2016; Brasil, 2017). O abate de aves positivas para *Salmonella* Pullorum

e Gallinarum deve seguir o recomendado pelas IN 78/2003, 10/2013, 20/2016 e 08/2017. O Serviço Veterinário Oficial (SVO) pode tomar medidas de acordo com a análise feita sobre o surto, investigar as reprodutoras e incubatórios de origem das aves, interditar o núcleo, bloquear a emissão da GTA além de medidas adicionais de controle sanitário (Brasil, 2003, Brasil, 2013, Brasil, 2016, Brasil, 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

TA e pulorose são doenças erradicadas em países de primeiro mundo, mas que ainda causam prejuízos à avicultura brasileira. Programas mais eficientes de controle e biossegurança são necessários para que não haja mais surtos. Dentre esses programas, a monitoria e controle de criações de subsistência e a vacinação adequada das aves se mostra necessária para prevenir casos de salmonelose tífica. A eficácia das medidas de controle depende de notificação e investigação adequada para diagnóstico preciso permitindo assim a adoção contínua de medidas de controle e a possibilidade de erradicação da TA em lotes comerciais. ⁴⁰

¹Médico Veterinário. Mestrando do Programa de Pós-graduação. Escola de Medicina Veterinária. UFMG.

E-mail: philipe227@hotmail.com

²Médicas Veterinárias. Programa de Pós-graduação. Escola de Medicina Veterinária. UFMG

³Médica Veterinária, Fiscal Agropecuário - Programa Estadual de Sanidade Avícola, IMA. MG, Brasil

⁴Médico Veterinário. Residência multiprofissional. Escola de Medicina Veterinária. UFMG

⁵Médico Veterinário, Mestre, Doutor, Professor Adjunto. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva. Escola de Medicina Veterinária. UFMG. Belo Horizonte/MG, Brasil

⁶Médica Veterinária, Mestre, Doutora, Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves.

E-mail: sabrina.duarte@embrapa.br

⁷Médica Veterinária, Mestre, Doutora, Professora Associada, Setor de Patologia, Departamento de Clínica e Cirurgia veterinárias, Escola de Medicina Veterinária. UFMG. Belo Horizonte/MG, Brasil. E-mail: ecco@vet.ufmg.br

As Referências Bibliográficas deste artigo podem ser obtidas no site da Avicultura Industrial por meio do link: www.aviculturaindustrial.com.br/paratifica1273

