



## O uso da Sorologia (ELISA) para Monitorar a Infecção por Salmonella em Rebanhos Suínos

Jalusa Deon Kich<sup>1</sup>  
Patrícia Schwarz<sup>2</sup>  
Marisa Cardoso<sup>3</sup>  
Nelise Juliane Trigueiros<sup>4</sup>  
Remídio Vizzotto<sup>5</sup>  
Marní Lúcia F. Ramenzoni<sup>5</sup>

### Introdução

A contaminação do alimento, por qualquer sorovar de *Salmonella* é considerada potencialmente patogênica para o consumidor, sendo que os produtos de origem animal, historicamente, representam o maior risco. Na década de 90, lançando mão de ferramentas de rastreabilidade, foi comprovada a associação entre a ingestão de carne suína e surtos de salmonelose humana na Europa (Wegener e Baggensen, 1996) e, a partir de então, foram implementados programas específicos de controle em vários países.

Atualmente, a produção de alimentos seguros envolve uma discussão complexa de âmbito internacional, abrangendo agendas de pesquisa, operacionalização de programas de controle, rastreabilidade e certificação que permeiam todas as etapas da cadeia produtiva. No Brasil, não existe um programa oficial de monitoria ativa da contaminação de carcaças suínas por salmonelas. Porém, como os lotes vendidos são testados por vários compradores, as agroindústrias possuem protocolos de monitoria interna, e a avaliação da contaminação e o controle de salmonelas vem tomando espaço dentro dos programas de boas práticas de produção. Na produção de suínos, esta infecção caracteriza-se por dois problemas: a presença de sorovares patogênicos que provocam gastroenterites e

septicemias e a presença de sorovares que não causam doença nos animais, mas são as principais fontes de contaminação das carcaças nos abatedouros e que podem infectar humanos.

Com o objetivo de oferecer ferramentas para programas de controle, o grupo de pesquisa da Embrapa Suínos e Aves e Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS adaptou testes bacteriológicos, desenvolveu teste de ELISA (Kich et al., 2003), otimizou PCR (Castagna et al., 2005) e eletroforese em campo pulsado - PFGE (Bessa, 2006), e estudou a prevalência (Bessa et al., 2004), fatores de risco (Kich et al., 2005a) e a distribuição e dinâmica da infecção entre os rebanhos (Silva et al., 2003; Schwarz et al., 2006). As informações estão disponibilizadas ao setor produtivo sob a forma de publicações.

As metodologias de identificação e recuperação da *Salmonella*, bem como de marcadores da infecção possuem papéis distintos dentro de um programa de controle, dependentes do custo, mão de obra e tipo de informação necessária. Porém, na fase de desenvolvimento dos métodos é necessário relacioná-los a fim de validar seu uso. Entre as metodologias utilizadas, a sorologia é aquela que melhor se adapta à avaliação de rebanhos, por ser mais rápida, barata e oferecer um dado histórico da granja.

<sup>1</sup> Méd. Vet., D.Sc., Embrapa Suínos e Aves, Cx. Postal 21, CEP 89.700-000, Concórdia, SC, e-mail: [jalusa@cnpso.embrapa.br](mailto:jalusa@cnpso.embrapa.br)

<sup>2</sup> Méd. Vet., M.Sc., doutoranda, Medicina Veterinária Preventiva - UFRGS

<sup>3</sup> Méd. Vet., D.Sc., Medicina Veterinária Preventiva - UFRGS

<sup>4</sup> Bióloga, mestranda, Medicina Veterinária Preventiva - UFRGS

<sup>5</sup> Laboratorista, Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

Neste sentido, o grupo desenvolveu e validou um teste ELISA (ELISA-Typhimurium), para ser utilizado em rebanhos brasileiros, capaz de classificá-los por nível de infecção.

O objetivo é disponibilizar a ferramenta para que o setor produtivo incorpore nos programas de monitoramento e controle de *Salmonella* em suínos.

### Condução do estudo e resultados

No presente estudo, foi desenvolvido um teste de ELISA baseado em antígenos lipopolissacarídeos (LPS) da parede celular de uma amostra de *Salmonella* Typhimurium, aqui referido como ELISA-Typhimurium. Este sorovar foi escolhido por ser o mais prevalente em suínos no sul do Brasil e, também, porque possui pelo menos dois antígenos comuns com os demais sorovares que ocorrem freqüentemente (Agona, Derby, Panama e Bredney) na região (Bessa et al., 2004). Após a padronização das condições laboratoriais, o teste foi avaliado em diferentes categorias de animais como segue: suínos inoculados oralmente e sentinelas; suínos naturalmente infectados na granja; leitões privados de colostro (sem anticorpos) e suínos imunizados com bacterinas produzidas com os sorovares mais prevalentes (Typhimurium, Agona, Derby, Panama e Bredney). A soroconversão foi observada nos suínos inoculados sete dias após a infecção e nos sentinelas após 21 dias. Não foram detectadas reações inespecíficas no soro dos leitões privados de colostro. As amostras de soro dos suínos imunizados com as bacterinas demonstraram reações cruzadas com o LPS do sorovar Typhimurium. Ainda, o teste mostrou alta correlação com dois “kits” comerciais propostos para a mesma finalidade (Kich et al., 2005b). O ELISA-Typhimurium foi validado em 75 rebanhos comerciais e a prevalência sorológica mostrou associação com a prevalência de suínos portadores de *Salmonella* nos linfonodos mesentéricos. Em nossas condições de campo, foi possível determinar que a cada incremento de 25% na prevalência sorológica em rebanhos brasileiros, existe 1,5 vezes mais chance dos animais serem portadores da *Salmonella* nos linfonodos mesentéricos.

O conjunto dos resultados demonstra que o ELISA-Typhimurium é uma ferramenta que pode e deve ser utilizada para determinar

a infecção por *Salmonella* em rebanhos suínos, visando seu controle.

### Comentários e aplicação

Considerando que a origem da contaminação por salmonelas da maioria das carcaças são os próprios animais abatidos ao longo do dia (Botteldoorn et al., 2004), e que a contaminação dos mesmos ocorre na granja e/ou pré-abate (jejum, transporte e espera no abatedouro), a identificação do momento da infecção e a classificação dos lotes, quanto ao risco de introdução de salmonela na linha de abate são informações essenciais para programas de controle. Como o ELISA-Typhimurium detecta anticorpos do tipo IgG, só teremos resultados positivos após o período de soroconversão, que vai de 7 dias em condições experimentais a 21 dias em condições naturais, dependendo da dose infectante. Portanto, os resultados da sorologia dizem respeito a infecções anteriores ao período de soroconversão, ou seja, nas granjas produtoras de suínos e não nos momentos pré-abate.

Uma das aplicações do teste de ELISA é a determinação do perfil sorológico da granja, observação da fase da produção onde a infecção é amplificada e para onde devem ser direcionadas as medidas de controle, como exemplo a creche, terminação ou pré-abate. Foi identificada, em sete diferentes sistemas de produção de suínos brasileiros, que a média da prevalência sorológica (81,64%) foi superior à prevalência bacteriológica (60,81%), demonstrando que a infecção por *Salmonella* ocorreu nas granjas.

O sítio de produção onde pode ocorrer a infecção é variável entre os diferentes sistemas/ Empresas. No entanto, conforme estudo longitudinal realizado no sul do Brasil (Schwarz, 2006), a maternidade não foi considerada como sítio de infecção dos lotes terminados. Os demais sítios do sistema (creche, recria e terminação) podem estar envolvidos como fonte e na amplificação da infecção, havendo a necessidade de proceder à investigação das características epidemiológicas e dinâmica do agente em cada Empresa.

Outra aplicação interessante, utilizada em países com programas oficiais ou compulsórios de controle, é a categorização

das granjas pela prevalência sorológica dos lotes. O abate e as medidas de intervenção são orientados conforme a categoria em que a granja se encontra. A Dinamarca utilizou a partir de 2001 os níveis 1 (< 40% de prevalência sorológica), 2 ( $\geq 40\%$  e <70%) e 3 ( $\geq 70\%$ ) que correspondem à prevalência aceitável, moderada e não aceitável, respectivamente (Alban et al., 2002). Estas análises usam um ponto de corte (limite entre resultado negativo/positivo) no teste de ELISA mais alto do aquele definido experimentalmente, adaptado ao momento do programa de controle. As maiores orientações são dirigidas ao nível 3, onde animais são abatidos sob precauções específicas e a granja submetida a melhorias no manejo sanitário. Se utilizarmos os mesmos critérios com o ponto de corte experimental teremos mais de 70% dos nossos lotes classificados no nível 3 (Schwarz, 2006) o que onera demais o programa devido a sua abrangência. A proposta seria, num primeiro momento, aumentar o ponto de corte para discriminar melhor os lotes do nível 3, identificar o grupo de granjas mais contaminadas e direcionar medidas de manejo e higiene para este grupo e num segundo momento, conforme a avaliação dos resultados do programa, diminuir o ponto de corte.

Os procedimentos de coleta de material e processamento laboratorial são aparentemente simples, porém o estabelecimento de um programa de monitoria e controle é uma atividade bastante complexa devido a sua abrangência. Deve ser coletado sangue de um número representativo de animais por lote, o resultado deve ser rapidamente processado e as intervenções encaminhadas. A Dinamarca, por exemplo, criou um “índice sorológico para salmonela” analisando os resultados obtidos no período de três meses em cada granja. Este índice dá um peso maior para o último mês (0,2:0,2:0,6) para que seja possível observar rapidamente o aumento da prevalência. Nas condições brasileiras, tanto o ponto de corte quanto o grupo de granjas a serem monitoradas, bem como as medidas de intervenção, devem ser planejadas junto aos sistemas produtores de suínos. Estas decisões devem ser baseadas em estudos para determinar os fatores de

risco, a dinâmica de infecção e as principais fontes de contaminação para cada Empresa.

Metodologias de investigação e de tomadas de decisão para a construção de programas de controle já estão à disposição em nosso ambiente produtivo, bem como alternativas direcionadas aos rebanhos como a correção de fatores de risco, profilaxia imunológica, condições peculiares da microbiota intestinal; aos produtos cárneos como práticas industriais; à alimentação animal e a logística de transporte de animais.

## Recomendações

Para avanço no conhecimento e no controle das infecções por *Salmonella* em suínos sugere-se:

a) Planificação do programa de monitoria sorológica: determinação do ponto de corte, categorização dos lotes e informatização dos procedimentos;

b) Realização de estudos da dinâmica de infecção e de fatores de risco nos sistemas interessados;

c) Pesquisa das principais fontes de infecção na granja e pré-abate;

d) Elaboração de um programa de intervenção na granja com correção de fatores de risco e medidas específicas que resultem na redução da prevalência de *Salmonella* nos rebanhos suínos e seus produtos.

## Referências Bibliográficas

ALBAN, L.; STEGE, H.; DAHL, J.. The new classification system for slaughter-pig herds in the Danish *Salmonella* surveillance-and-control program. **Prev. Vet. Med.**, v.53, p.133-146, 2002.

BESSA, M. C. **Caracterização fenotípica e genotípica de amostras de *Salmonella* Typhimurium isoladas de suínos no Rio Grande do Sul.** 2006, 125 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, Prevalência de *Salmonella* sp em suínos abatidos em frígífricos do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.2, p.80-84, 2004.

**BOTTELDOORN, N.; HERMAN, L.; RIJSENS, N.; HEYNDRIKX, M. Phenotypic and molecular typing of Salmonella strains reveals different contamination sources in two commercial pig slaughterhouses. Applied and Environmental Bacteriology, v. 70, p.5305-5314, 2004.**

CASTAGNA, S. M.; MULLER, M.; MACAGNAN, M.; RODENBUSCH, C. R.; CANAL, C. W.; CARDOSO, M. Detection of Salmonella in pig-related samples: a comparison between a PCR method and standard microbiological techniques. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.36, p.373-377, 2005.

KICH, J. D. MORES, N.; PIFFER, I.; COLDEBELLA, A. AMARAL, A.; RAMMINGER, L.; CARDOSO, M. Fatores de risco associados com a prevalência sorológica de Salmonella em granjas comerciais de suínos no sul do Brasil. **Ciência Rural**, v.35, p.398-405, 2005a.

KICH, J. K. ; CARDOSO, M.; COLDEBELLA, A.; PIFFER I.; VIZZOTTO, R.; SILVA, L. E.; CASTAGNA, S. Development of na Elisa test for Salmonella monitoring in Brazil. In: SAFEPORK, 5, 2003, Heraklion. **Proceedings**. Heraklion: [5], 2003. p.278-279.

KICH, J. K.; CARDOSO, M.; COLDEBELLA, A.; VIZZOTTO R. Comparação entre Kits de Elisa para detecção de anticorpos contra Salmonella em suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 12., 2005, Fortaleza. **Anais**. Fortaleza: ABRAVES, 2005b. p.52-53.

SCHWARZ, P. **Prevalência sorológica e de isolamento de Salmonella enterica em suínos abatidos no sul do Brasil**. 2006. Dissertação ( Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SILVA, L. E. GOTARDI, C. P.; VIZZOTTO, R. KICH, J. D.; CARDOSO, M. Infecção por salmonella enterica em suínos criados em um sistema integrado de produção no sul do Brasil. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.58, n.4, p.455-461,2006.

WEGENER, H. C. D.; BAGGENSEN, D. L. Investigation of an outbreak human salmonellosis caused by Salmonenella enterica spp. enterica serovar Infantis by use of pulse field electrophoresis. **International Journal of Food Microbiology**, v32, p.125-131, 1996.

## Comunicado Técnico, 442

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
Embrapa Suínos e Aves  
Endereço: Br 153, Km 110,  
Distrito de Tamanduá,  
Caixa postal 21,  
89700-000, Concórdia, SC  
Fone: 49 3441 0400  
Fax: 49 3442 8559  
E-mail: [sac@cnpsa.embrapa.br](mailto:sac@cnpsa.embrapa.br)

1ª edição  
1ª impressão (2006): tiragem: 100

## Comitê de Publicações

**Presidente:** Claudio Bellaver  
**Membros:** Teresinha M. Bertol, Cícero J. Monticelli, Gerson N. Scheuermann, Airton Kunz, Valéria M. N. Abreu  
**Suplente:** Arlei Coldebella

## Revisores Técnicos

Nelson Morés, Cícero J. Monticelli, Rejane Schaefer, Irene Z.P. Camera

## Expediente

**Supervisão editorial:** Tânia M. B. Celant  
**Editoração eletrônica:** Kênia Cristiane Wollinger  
**Fotos:** Jalusa Deon Kich