

OCORRÊNCIA DE REAÇÃO SOROLÓGICA CONTRA *SALMONELLA PULLORUM* EM AVES DE “FUNDO DE QUINTAL” DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL

F.G. Buchala¹, M.M. Ishizuka², L.A. Mathias³, A. Berchieri Júnior³, A.G.M. Castro⁴,
A.L.S.P. Cardoso⁴, E.N.C. Tessari⁴, A.M.I. Kanashiro⁴

¹Coordenadoria de Defesa Agropecuária, Av. Brasil, 2340, CEP 13073-001, Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

Esta pesquisa objetivou demonstrar a ocorrência de reações sorológicas contra *Salmonella* spp. nas populações de aves de explorações não tecnificadas e com finalidade de subsistência, em propriedades rurais localizadas em áreas geográficas próximas a granjas de reprodutoras (matrizeiros) do Estado de São Paulo. Foram selecionadas três granjas de matrizes, oficialmente reconhecidas como sendo livres de *S. Pullorum* (SP), *S. Gallinarum* (SG), *S. Enteritidis* (SE), *S. Typhimurium* (ST), e 15 criações vizinhas, cuja população de aves foi amostrada com colheita e processamento de 406 soros sanguíneos. O diagnóstico foi realizado pela técnica de soroaglutinação rápida em placa e lenta em tubos. A frequência encontrada foi igual a 73% de propriedades com aves sororeagentes ao antígeno testado de SP (teste da pulorose). A ocorrência observada de aves sororeagentes foi de 16,5%. Os dados obtidos sugerem que o agente estudado está amplamente difundido nas criações informais de aves de “fundo de quintal”, colocando em risco constante os criatórios de exploração industrial, os quais necessitam adotar e manter boas práticas de biossegurança para preservar a integridade sanitária dos plantéis.

PALAVRAS-CHAVE: Pulorose, biossegurança, doenças, epidemiologia, infecções, sanidade.

ABSTRACT

OCCURRENCE OF SEROLOGIC RESPONSES AGAINST *SALMONELLA PULLORUM* IN DOMESTIC BACKYARD POULTRY IN THE STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL. This investigation aimed to demonstrate the occurrence of serological reactions to *Salmonella* spp. in backyard domestic poultry for private consumption located next to parent flocks in the State of São Paulo. Three parent flocks officially recognised as free from *S. Pullorum* (SP), *S. Gallinarum* (SG), *S. Enteritidis* (SE), *S. Typhimurium* (ST) and 15 neighboring backyard flocks were selected. A sample of 406 chickens from the backyard flocks was bled, and the diagnostic was carried out by the agglutination tests in plate and in tubes. The frequency found was 73% of flocks with chickens reacting to the antigens of SP. The frequency of reacting chickens was 16.5% for the antigen of SP. The results show that the etiological agent studied is widespread among the backyard flocks, posing a constant risk for the commercial poultry flocks that need to adopt and keep good biosecurity practices to preserve their health status.

KEY WORDS: Pullorum disease, biosecurity, diseases, epidemiology, infections, animal health.

INTRODUÇÃO

A conquista e o reconhecimento de *status* sanitário de estabelecimento livre de doenças contempladas pelo Programa Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 1994) envolvem elevados investimentos em aspectos relativos aos recursos físicos, humanos e de monitoramento laboratorial representado por uma

sistemática colheita, análise e interpretação de resultados de provas diagnósticas. Essa condição deve ser mantida por estratégias de profilaxia que visem impedir a entrada de agentes etiológicos de doenças e, no caso de ocorrência, essas medidas devem ser capazes de detectá-los precocemente, iniciando-se imediatamente ações de erradicação. Essas medidas, aplicadas de forma planejada, organizada e devidamente

²Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, SP, Brasil.

³Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, Brasil.

⁴Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola, Descalvado, SP, Brasil.

supervisionadas, permitem manter a situação sanitária arduamente conquistada por cada estabelecimento avícola, contribuindo para o desenvolvimento da economia nacional.

As principais infecções que comprometem a avicultura comercial são as salmoneloses: *Salmonella enterica* subspécie enterica sorovar Pullorum (SP), *S. enterica* subspécie enterica sorovar Gallinarum (SG), *Salmonella enterica* subspécie enterica sorovar Typhimurium (ST), *Salmonella enterica* subspécie enterica sorovar Enteritidis (SE) e as micoplasmoses (*Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma synoviae*), razão pela qual são contempladas pelo Programa Nacional de Sanidade Avícola. A respectiva legislação estabelece que empresas avícolas, matrizeiras e avozeiras (multiplicadoras genéticas) devem estar obrigatoriamente livres dessas enfermidades (BRASIL, 1994). Ressalte-se que esses agentes tornam-se na natureza infectando grande variedade de aves domésticas e de vida livre, notadamente na ausência de manifestação clínica, e disseminam-se na população de aves, por mecanismos de transmissão horizontal e vertical (BERCHIERI JÚNIOR, 1997). A adoção de medidas profiláticas em granjas é importante em face da omissão da legislação no que diz respeito ao controle sanitário em aves comerciais (frango de corte e galinha de postura) e em aves domésticas de vida livre. Assim, a estratégia governamental e empresarial adotada para reduzir a ocorrência dessas infecções nos produtos comerciais é a manutenção dos plantéis reprodutores livres desses patógenos (NASCIMENTO *et al.*, 1997), responsáveis por elevado impacto econômico e danos à saúde dos consumidores (PANNETA, 1999) quando estiverem envolvidas principalmente a SE e a ST.

WRAY & DAVIES (1994) mencionam que:

1. O controle das doenças causadas por SP e SG, principais patógenos de interesse para a indústria avícola, foi alcançado em muitos países pela introdução de medidas de profilaxia seguida de ações de vigilância epidemiológica representadas por exames sorológicos e sacrifício compulsório de plantéis infectados.

2. O teste de soroaglutinação que utiliza antígeno corado e sangue total tem sido empregado com sucesso, por mais de meio século, na identificação de lotes de aves infectadas por SP ou SG. Face ao compartilhamento do antígeno somático do grupo D entre SE, SG e SP, é possível o emprego do teste de aglutinação para o diagnóstico das salmoneloses mencionadas.

3. As características do teste que emprega sangue são: (i) é uma prova rápida e que pode ser aplicada no campo, é pouco dispendiosa, requer pouco equipamento e só exige separação do soro se for realizada em laboratório; (ii) a especificidade é

baixa quando a prova é realizada com sangue total e requer experiência para não registrar resultados falsos.

O objetivo desta pesquisa é verificar a ocorrência de respostas sorológicas ao antígeno de *Salmonella Pullorum* (teste de pulorose provas rápida e lenta) em populações de aves domésticas de "fundo de quintal", presentes em propriedades rurais vizinhas de granjas de multiplicação genética. Desta forma, pode-se determinar o risco de introdução de agentes de doenças transmissíveis distribuídos na natureza.

MATERIAL E MÉTODOS

Granjas matrizeiras

Foram selecionadas 3 granjas de matrizes (Filial 1, Filial 2 e Filial 3), localizadas no Estado de São Paulo, pertencentes a uma mesma empresa, integrantes do Programa Nacional de Sanidade Avícola, com *status* sanitário oficialmente reconhecido como sendo livres de salmoneloses e micoplasmoses, conforme demonstraram as colheitas de amostras sequenciais durante os anos de 1998, 1999 e 2000.

Criações de subsistência (aves caipiras)

Foram examinadas 15 criações vizinhas, sendo 7, 5 e 3, respectivamente, localizadas ao redor dos matrizeiros: Filial 1, Filial 2 e Filial 3.

Amostragem (número de aves caipiras selecionadas)

Optou-se por utilizar o valor da prevalência estimada da pulorose, e calculou-se a dimensão da amostra para uma precisão da estimativa igual a 10%, erro de primeira espécie (α) igual a 5% e com a devida correção para população de tamanho conhecido (JENICEK; CLÉROUX, 1987). Na Tabela 1 estão apresentados os tamanhos das amostras obtidas de cada criação e a respectiva população no momento da amostragem em relação a cada matrizeiro.

Amostras de sangue

A colheita o acondicionamento e a remessa ao laboratório atenderam a Instrução Normativa nº03 de 09/01/2002 (BRASIL, 2002), por tratarem-se de doenças do Programa Nacional de Sanidade Avícola. As amostras foram processadas no Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola (CAPTAA) do Instituto Biológico do Estado de São Paulo.

Tabela 1 – Matriseiro e respectivas criações vizinhas, segundo o tamanho da população de aves e a amostragem da amostra de aves de "fundo de quintal". Estado de São Paulo, 2000.

Matriseiro	Criação	Nº aves existentes	Nº aves na amostra
Filial 1 (360.000 aves)	1 A	38	28
	1 B	60	39
	1 C	47	33
	1 D	48	34
	1 E	34	26
	1 F	16	14
	1 G	41	30
Subtotal		284	204
Filial 2 (7.000 aves)	2 A	15	13
	2 B	37	29
	2 C	24	20
	2 D	62	40
	2 E	30	24
Subtotal		168	126
Filial 3 (13.000 aves)	3 A	30	24
	3 B	100	53
	3 C	25	20
Subtotal		155	97
Total		607	427

Provas de soroglutinação para detecção de anticorpos contra SP (teste de pulrose)

O procedimento seguiu aquele indicado pelo Programa Nacional de Sanidade Avícola (BRASIL, 1995). As amostras foram inativadas em banho-maria a 56° C. Para os testes de soroglutinação rápida em placa,

utilizou-se antígeno corado comercial Intervet International (Boxmeer-Holanda). Foram distribuídos 30 µL de soro e 30 µL de antígeno em placas de vidro, homogeneizou-se a mistura por no máximo 2 minutos verificando-se a formação de grumos indicando a reação antígeno-anticorpo. Os soros positivos foram então submetidos a soroglutinação lenta em tubos, para qual utilizou-se o antígeno diluído 1:20 em salina tamponada fenolizada. Distribuiu-se 1mL dessa solução em tubos e acrescentou-se 80µL do soro. Os tubos foram incubados a 37° C/48h. Foram considerados positivos os tubos onde ocorreu precipitação do complexo antígeno-anticorpo e conseqüentemente transparência da solução.

Método estatístico

Estimativa da frequência de ocorrência (proporção) de salmonelose por intervalo de confiança, com 95% de probabilidade. Utilizou-se o teste da diferença entre duas proporções com aproximação normal (LESER *et al.*, 1973).

RESULTADOS

Frequência de criatórios de aves de "fundo de quintal" sororeagentes ao antígeno testado

Entre os 15 criatórios estudados que possuem aves de "fundo de quintal", 11 apresentaram pelo menos uma ave sororeagente para o antígeno de SP, resultando em frequência igual a 73% dos criatórios com aves sororeagentes; a inferência por intervalo para 95% de confiança foi igual à LC (50,5% l—l 95,5%).

Frequência de aves sororeagentes ao antígeno de SP

Tabela 2 – Resultados positivos de sorologia para *S. Pullorum*, segundo o matriseiro e as respectivas criações de "fundo de quintal". Estado de São Paulo, 2000.

Matriseiro	Criação "fundo de quintal"	Nº total de Aves examinadas	Nº de aves positivas	% de aves positivas
Filial 1	1 A	16	5	31,2
	1 B	39	6	15,4
	1 C	33	0	0,0
	1 D	34	10	29,4
	1 E	26	3	10,3
	1 F	14	4	28,6
	1 G	30	2	6,7
Subtotal		204	30	14,7
Filial 2	2 A	13	0	0,0
	2 B	29	0	0,0

Continua

Tabela 2 – Continuação.

Matrizeiro	Criação "fundo de quintal"	Nº total de Aves examinadas	Nº de aves positivas	% de aves positivas
Filial 2	2 C	20	4	20,0
	2 D	20	0	0,0
	2 E	24	5	20,8
Subtotal		105	9	8,6
Filial 3	3 A	24	14	58,3
	3 B	53	8	15,1
	3 C	20	6	30,0
Subtotal		97	28	28,0
Total		406	67	16,5

Das 406 aves examinadas, 67 foram positivas à sorologia para SP (teste de pulorose), representando 16,5% de aves sororreagentes e um intervalo de confiança para a inferência com 95% de confiança igual à LC (12,9% I—1 20,1%). Os resultados observados, segundo a empresa de multiplicação genética (matrizeiro) e as propriedades com aves de “fundo de quintal” circunvizinhas, encontram-se reunidos na Tabela 2.

DISCUSSÃO

A avaliação da presença de fontes de infecção pela detecção de anticorpos representa um rápido e prático instrumento de importância epidemiológica, por revelar contacto das aves com os respectivos agentes, demonstrando a presença ou a circulação de agentes etiológicos na população (WRAY & DAVIES, 1994).

A observação de 73,0 %, LC (50,5% I—1 95,5%) de criatórios com pelo menos duas aves sororreagentes para SP indica elevada frequência de circulação da bactéria entre essas aves, devido a multiplicidade de fatores de transmissão horizontal, essa bactéria pode romper a barreira da biossegurança e infectar os lotes de multiplicação genética, como relatado por BERCHIERI JÚNIOR (1997).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que:

1. A frequência de criatórios com aves sororreagentes ao antígeno de SP foi igual a 73%.
2. A frequência de aves sororreagentes ao antígeno de SP foi igual a 16,5%.
3. A elevada frequência de criatórios com aves sororreagentes ao antígeno testado sugere que o agente SP encontra-se amplamente distribuído na natureza.

4. A atual legislação, omissa no controle sanitário em aves domésticas de “fundo de quintal”, deve ser revisada pelos órgãos competentes de Defesa Sanitária Animal e contemplar um programa de saúde animal mais amplo, capaz de garantir e assegurar a exploração avícola em escala industrial, preservando os plantéis de multiplicação genética como sendo livres dos patógenos responsáveis por enfermidades que representam elevado impacto econômico e possíveis danos à saúde dos consumidores.

REFERÊNCIAS

- BERCHIERI JUNIOR, A. Doenças de transmissão vertical. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS, 7., 1997, Campinas. *Anais*. São Paulo: APA, 1997. p.133-142.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Atos legais. Portaria nº193 de 19 de setembro de 1994. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília – DF, 22 de setembro de 1994. Seção 1, p.14309-14312.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico das Salmoneloses Aviárias (S. Enteritidis, S. Gallinarum, S. Pullorum e S. Typhimurium). Portaria nº 126, de 03 de novembro de 1995. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília – DF, 06 de novembro de 1995. Seção 1, p.17694-17698.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Normas Técnicas para Controle e Certificação de Núcleos e Estabelecimentos Avícolas como livres de *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum* e livres ou controlados para *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*. Atos legais. Instrução Normativa nº03 de 09 de janeiro de 2002. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília – DF, 16 de janeiro de 2002. Seção 1, p.14-18.

- JENICEK, M. & CLÉROUX, R. *Épidemiologie: principes, techniques, applications*. Quebec: Edisem, 1987. 454p.
- LESER, W., RIBEIRO NETTO, A.; GSAW, O. A.; MARLET, J.M. *Elementos de estatística para a área de ciências da saúde*. São Paulo: Escola Paulista de Medicina UNIFESP, 1973. 180p.
- 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 no controle sanitário da salmonelose. In: SIMPÓSIO TÉCNICO DE PRODUÇÃO DE OVOS, 7., 1997, Campinas. *Anais*. São Paulo: APA, 1997. p.143-152.
- PANNETA, J.C. Segurança alimentar e HACCP na produção de ovos. In: CONGRESSO DE PRODUÇÃO E CONSUMO DE OVOS, 1., 1999, São Paulo. *Anais*. São Paulo: APA, 1999. p.71-78.
- 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*, 1994. p.29-34.

Recebido em 8/12/05

Aceito em 29/02/06