

Avicultura

INDUSTRIAL.COM.BR

ISSN 1516-3105

Nº 07|2021 | ANO 112 | Edição 1311 | R\$ 26,00

Gessulli
AGRIBUSINESS
REFERÊNCIA E INOVAÇÃO



Você ainda vai imprimir sua refeição em casa

Tecnologia 3D para impressão de alimentos avança, criando condições para transformar por completo nossa relação com o preparo de alimentos no futuro

ESPECIAL *SALMONELLA* spp.

O setor avícola se mantém atento às ocorrências deste agente patogênico, cuja contínua monitoria nas produções, assim como a adoção de programas vacinais, são extremamente importantes para se estabelecer o seu adequado controle

ISOLAMENTO DE *SALMONELLA* spp. DE ORIGEM AVÍCOLA

Galinhas infectadas com muitos dos sorovares de Salmonella podem albergar o agente sem apresentarem sinais clínicos, o que torna o isolamento desta bactéria um fundamento básico na prevenção da enfermidade, principalmente em seres humanos

Por | Sabrina Castilho Duarte¹, Suzana Satomi Kuchiichi², Fernanda dos Santos Almeida³, Germana Vizzotto Osowski⁴

Salmonella é uma bactéria capaz de manifestar doença clínica em animais e seres humanos. O principal nicho dos sorovares de *Salmonella* é o trato intestinal, principalmente de animais de produção e também dos seres humanos. Também podem estar presentes no trato intestinal de pássaros, répteis e ocasionalmente de insetos, como por exemplo, em moscas presentes no sistema produtivo. Esta bactéria tem uma capacidade notável de infectar diferentes hospedeiros e induzir diferentes quadros sintomáticos nestes hospedeiros. Atualmente esta bactéria,

com base nas características genômicas e bioquímicas, possui duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori*. Entre estas duas espécies a *S. enterica* é a mais estudada e responsável pelos maiores quadros de infecções em animais e seres humanos. Esta espécie divide-se em: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae* e *houtenae*.

Galinhas infectadas com muitos dos sorovares de *Salmonella* podem albergar o agente e não demonstrarem sinais clínicos, ou seja, a infecção não é clinicamente perceptível. Em contrapartida, os sorovares *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* causam doença clínica na ave, mas não causam doença clínica em seres humanos. *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* são imóveis e determinam Tifo e Pulorose, respectivamente, nas aves. Uma ave quando adquire *S. Gallinarum* apresenta uma infecção sistêmica única, enquanto ao ser infectada pelos sorovares *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* apresentam uma infecção subclínica intestinal seguida de uma infecção sistêmica curta e posteriormente tornam-se portadores crônicos. O isolamento desta bactéria identificando aves portadoras é

fundamento básico na prevenção da enfermidade em seres humanos.

Para crescer as bactérias precisam de elementos como: carbono, hidrogênio, oxigênio, enxofre, fósforo e nitrogênio. Com base nessas necessidades - e nos resíduos que estas bactérias geram ao se desenvolver - podemos identificar no laboratório, por exemplo, que determinado alimento está contaminado. Para esta identificação no caso da *Salmonella*, comumente utilizamos o isolamento bacteriológico clássico.

No laboratório inocula-se o material contaminado em substratos (carboidratos e aminoácidos), que visam propiciar o desenvolvimento da bactéria a ser isolada e inibir o crescimento das que não são o foco de interesse.

Para o isolamento de *Salmonella*, geralmente utilizamos algumas etapas fundamentais para obter o isolamento (Figura 01). Neste artigo, serão descritos algumas etapas e processos para um efetivo sucesso no isolamento de *Salmonella* spp., com foco principalmente em produtos de origem avícola. No

final deste material, um QRCode possibilita o download do documento completo, detalhando todos os processos e procedimentos para uma correta coleta, envio e isolamento desta bactéria.

ENVIO DE AMOSTRAS AO LABORATÓRIO

As amostras deverão estar devidamente identificadas, resfriadas (2°C a 8°C) e acondicionadas em caixas isotérmicas, além de terem sido coletadas a não mais que 72 horas.

▶ Nos casos de impossibilidade de processamento imediato do item de ensaio, poderá ser utilizado o meio de

Figura 01. Fases do processo de isolamento e identificação de *Salmonella* spp.





Crédito: anyaivanova/Shutterstock

transporte Stuart ou Cary-Blair para sua conservação por, no máximo, 72 horas.

- ▶ Quando os itens de ensaio destinados ao diagnóstico bacteriológico forem coletados por meio de suabes, os mesmos deverão ser colocados em água peptonada tamponada 1%, garantindo sua umidade até o destino.

- ▶ Todos os itens de ensaio deverão estar acompanhados de formulário de coleta devidamente preenchido, conforme modelo estabelecido pela Coordenação de Programa Sanitário Animal (DSA). Acessível pelo site do PNSA a partir do QRCode ao lado.



CUIDADOS COM O ENVIO DE SORO

Para as análises sorológicas, os soros deverão estar devidamente identificados, lacrados, resfriados (2°C a 8°C) e acondicionados em caixas isotérmicas, além de terem sido coletados a não mais que 72 horas. Os soros deverão ser analisados até, no máximo, 96 horas após coleta. Enviar no

mínimo 0,5 mL. Não enviar para exame sorológico sangue total, soros com presença de coágulo, com evidências de contaminação ou hemolisado.

Lembrete: as amostras destinadas ao diagnóstico bacteriológico deverão ser mantidas a temperatura de 2°C a 8°C por não mais que 72 horas, até serem processadas.

O que coletar?

- ▶ **Aves vivas:** coletar suabes de cloaca, fezes frescas, material de cama ou ninho, poeira de aviário, suabe de arrasto ou propé, ovos bicados, ovos e soro sanguíneo.
- ▶ **Aves necropsiadas:** coletar baço, fígado, ovários, vesícula biliar, rins, pulmão, coração, trato gastrointestinal, articulações com lesões, conjuntiva com lesões, ceco e tonsilas cecais.

PROCESSAMENTO DE MECÔNIO E FEZES

Homogeneizar o material e semear nos meios seletivos. Serão adotados sempre três meios seletivos, sendo eles Tetrationato, Rappaport-Vassiliadis e BHI.



Figura 02. Processamento de ovos comerciais e ovos bicados



Crédito: Autor desconhecido/Acervo Embrapa

Crédito: Lucas S. Cardoso/Embrapa

1. Caldo BHI - pesar 2 g ou 2 mL em 20 mL de meio.
2. Caldo Tetrionato ou suas variações (acrescido de novobiocina, solução de iodo e solução de verde brilhante) pesar 2 g ou 2 mL em 20 mL de meio.
3. Caldo Rappaport-Vassiliadis - pesar 0,2 g ou 0,2 mL em 20 mL de meio.

Os caldos Tetrionato e Rappaport-Vassiliadis devem ser incubados a $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas. O caldo BHI deverá ser incubado a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas.

OVOS COMERCIAIS E OVOS BICADOS

Processamento de ovos comerciais e ovos bicados

Proceder à desinfecção da casca do ovo com álcool etílico a 70% ou álcool iodado antes de abri-lo (Figura 02). Nos casos de importação de ovos férteis, o manipulador deverá abrir as caixas de ovos dentro de cabine de segurança biológica e desinfetar com álcool 70%, se houver situação de risco sanitário submetê-los à luz UV por 15 minutos, virar os ovos, e novamente submetê-los à luz UV por 15 minutos

adicionais. Procedimentos relativos a ovos importados são de realização exclusiva do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

► Em um saco tipo "stomacher" colocar o conteúdo de seis ovos. Homogeneizar e pipetar 10 mL do conteúdo. Homogeneizar em frasco ou saco plástico esterilizado e semear 10 mL em 100 mL de caldo BHI. Incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas.

- Os ovos que porventura estiverem com a casca trincada não deverão ser processados.
- Os ovos bicados devem ser desinfetados da mesma forma, após retirar os pintainhos e proceder coleta de baço, fígado e ceco em pool (Figura 03).

PROCESSAMENTO DE ÓRGÃOS

Homogeneizar o material e semear nos meios seletivos. Serão adotados sempre três meios seletivos, sendo eles Tetrionato, Rappaport-Vassiliadis e BHI.

1. Caldo Tetrionato ou suas variações (acrescido de novobiocina, solução de iodo e solução de verde brilhante) pesar 2 g ou 2 mL em 20 mL de meio.
2. Caldo Rappaport-Vassiliadis - pesar 0,2 g ou 0,2 mL em 20 mL de meio.
3. Caldo BHI - pesar 2 g ou 2 mL em 20 mL de meio.

Os caldos Tetrionato e Rappaport-Vassiliadis devem ser incubados a $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 18 a 24 horas.

Figura 03. Processamento de pool de órgãos



Crédito: Lucas S. Cardoso/Embrapa

OBSERVAÇÕES DE COLETA

A coleta de órgãos deve ser feita de forma asséptica. Muito cuidado é necessário para evitar contaminações cruzadas. Assim, sempre que coletar, adicionar ao tubo de ensaio ou saco tipo "stomacher" previamente identificados de acordo com o tamanho do órgão coletado.

CALDO BHI

Princípio

- ▶ É um meio derivado de nutrientes de cérebro e coração, peptona e dextrose.
- ▶ A peptona e a infusão são fontes de nitrogênio, carbono, enxofre e vitaminas.
- ▶ A dextrose é um carboidrato que os microrganismos utilizam para fermentação.

UTILIDADE

- ▶ Meio que oferece cultivo de estreptococos, pneumococos, meningococos, enterobactérias, não fermentadores, leveduras e fungos.

PROCEDIMENTOS DE PREPARAÇÃO

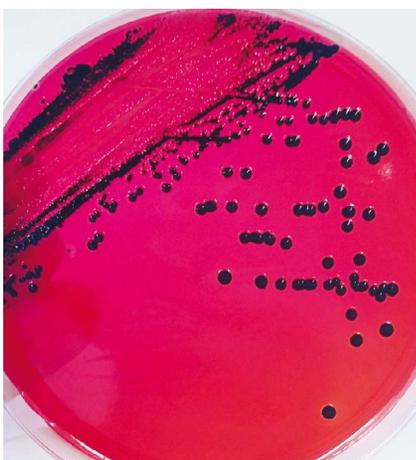
1. Dissolver 37 g do meio em 1.000 mL de água destilada (observar a quantidade especificada pelo fabricante).

Crédito: saied shahin kija/Shutterstock



2. Deixar hidratar durante 10 minutos.
3. Verificar o pH do meio.
4. Aquecer (ferver) até dissolver completamente.
5. Autoclavar durante 15 minutos a 121°C.
6. Ajustar o pH do meio com NaOH 0,1M ou HCl 0,1M estéril para $7,4 \pm 0,2$.
7. Distribuir em tubos estéreis de acordo com a necessidade da técnica a ser desenvolvida, 3 mL por tubo (13 x 100 mm) ou 18 mL em tubos 20 x 150 mm.
8. Fazer teste de esterilidade à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

Figura 04. Colônias típicas de *Salmonella* spp. em ágar XLT4



Crédito: Germana V. Osowsky

INCUBAÇÃO

- ▶ Incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas.

INTERPRETAÇÃO

- ▶ **Cor original do meio:** amarelo claro, límpido.
- ▶ **Positivo:** presença de turvação = crescimento bacteriano.
- ▶ **Negativo:** ausência de turvação.

CONSERVAÇÃO

E VALIDADE

- ▶ Conservar de 2°C a 8°C por três meses. 

O material completo deste artigo, presente no "Guia Ilustrado para Isolamento de *Salmonella* spp. de Origem Avícola", Documento 183 da Embrapa Suínos e Aves, pode ser obtido em download a partir do QRCode ao lado.



¹Médica veterinária, Doutora em Ciência Animal, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

²Médica veterinária, Mestre em Medicina Veterinária, responsável técnica da bacteriologia do Cedisa, Concórdia, SC

³Médica veterinária, Doutora em Ciências Biológicas, auditora fiscal federal agropecuária do Lanagro, Campinas, SP

⁴Acadêmica de Ciências Biológicas da Unoesc, Bolsista CNPq/PIBIC, Concórdia, SC

