

SALMONELLA CANADA — UM NOVO SOROTIPO PATOGENICO PARA AVES

Edir Nepomuceno da SILVA*
Osmane HIPÓLITO**

RFMV-A/29

SILVA, E.N. & HIPÓLITO, O. *Salmonella* canada — um novo sorotipo patogênico para aves. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 14(2): 279-284, 1977.

RESUMO: O sorotipo *S. canada* (4,12:b-1,6), descrito pela primeira vez por YURACK et al. (1961), no Canadá, a partir de 63 isolamentos de pacientes com quadro clínico variando de inaparente a distúrbios entéricos e renais, foi isolado, ao que se presume, pela primeira vez, de aves com problemas entéricos no Brasil. O germe foi isolado em cultura pura do fígado e da gema não absorvida de pintos com idade de 4-30 dias e mortalidade variando de 5-23% antes do tratamento. Em condições experimentais, a patogenicidade da *S. canada* foi baixa quando inoculada por via oral e muito alta (100%) quando inoculada por via intraperitoneal.

UNITERMOS: *Salmonella* canada*; Salmonelose, aves*.

INTRODUÇÃO E LITERATURA

As infecções paratíficas das aves constituem um dos grandes problemas de sanidade avícola e de saúde pública, WILLIAMS (1972). A identificação de novos sorotipos de *Salmonella* patogênica para aves tem servido para a ampliação dos conhecimentos sobre a epidemiologia das salmoneloses. (WILLIAMS, 1972a).

O sorotipo *S. canada* (4,12:b-1,6)¹ foi descrito pela primeira vez por YURACK e cols. (1961) no Canadá, a partir de 63 isolamentos de casos humanos com quadro clínico variando de inaparente a distúrbios entéricos agudos e alterações renais. De fevereiro a agosto do mesmo ano esse sorotipo espalhou-se por oito das dez províncias do Canadá tendo sido isolado de um número elevado de pacientes.

Até o momento a *S. canada* não foi isolada de material procedente do homem e dos animais nos Estados Unidos, DOWELL (1976) e no Brasil, PESSOA (1976).

HISTÓRICO

O material usado no presente trabalho consistiu de amostragem de pintos de corte da mesma linhagem, procedentes de três lotes diferentes de uma mesma granja situada no Estado de São Paulo, todos fornecidos pelo mesmo incubatório.

Os pintos chegaram ao laboratório com idades variando de quatro a 30 dias mas sempre com o mesmo quadro clínico: diarreia, empastamento cloacal, asas caídas e penas arrepiadas. A não uniformidade do lote era evidente.

* Professor Assistente.

** Professor Titular.

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

Achados de necrópsia: Os pintos necropsiados apresentaram manchas avermelhadas com cerca de 3 mm de diâmetro, visíveis por dentro e por fora da parede do intestino delgado. Em todos os casos havia a presença de gema não absorvida. A mortalidade variou de 5 a 23% antes do tratamento (Quadro 1).

Exame microbiológico: Após o sacrifício das aves, porções do fígado e da gema não absorvidas foram semeados em tubos com 10ml de caldo Selenito F (Oxoid) e em placas de agar verde brilhante (Difco) e incubados por 24 horas a 37°C. A cultura em meio líquido era plaqueada em seguida no mesmo meio agar v. brilhante, já citado. Após a incubação as placas mostraram colônias de coloração uniforme.

Cinco colônias foram semeadas em meio contendo tríplice açúcar e ferro (TSI) da Oxoid. Os tubos que apresentaram resultados suspeitos eram encaminhados para o exame bioquímico, conforme as técnicas recomendadas por EDWARDS e EWING (1972). As amostras apresentaram resultados positivos nos seguintes testes ou substratos: produção de H₂S (TSI), utilização do citrato de Simmons, descarboxilação da lisina e ornitina, fermentação da glicose, dulcitol, trealose, ramnose, e resultados negativos, nas seguintes provas: hirólise da uréia, crescimento em KCN, produção de gelatinase, fermentação da lactose, adonitol e utilização do malonato.

As amostras que se comportaram bioquimicamente como do gênero *Salmonella* foram encaminhadas para o exame sorológico no laboratório do Instituto Adolfo Lutz. Tanto as amostras isoladas do fígado, como a gema não absorvida foram identificadas como *S. canada* (4,12:b-1,6).

Patogenicidade: A fim de se poder avaliar a patogenicidade das amostras isoladas foram feitos dois experimentos, descritos a seguir:

No Experimento I, 50 pintos de um dia de idade da linhagem Hybro comercial para corte, mantidos em temperatura de 28°C foram divididos em dois lotes: A e B. O lote A recebeu por via oral 0,1ml de uma cultura em caldo de 24 horas contendo aproximadamente $1,2 \times 10^4$ bactérias por 0,1ml, determinado pela técnica de "pourplate". O

lote B funcionou como controle e nada recebeu. Ambos os lotes permaneceram no mesmo local, porém em gaiolas separadas.

Os resultados podem ser vistos no Quadro 2. Resumidamente, não houve nenhuma morte provocada pela doença em ambos os lotes mesmo após 25 dias de observação. Os exames sorológicos realizados com antígeno polivalente K para pulorose de Salisbury Laboratórios foram totalmente negativos, com exceção de uma ave do lote A (inoculado) que aos 25 dias apresentou reação positiva. Esta ave apresentou, também, desenvolvimento retardado quando comparada com as demais aves dos dois lotes.

O organismo inoculado foi sistematicamente isolado das fezes das aves do lote inoculado e do sangue de uma ave do mesmo lote A e foi completamente negativo em todas as aves do lote B (controle).

No Experimento II, 30 pintos de um dia foram divididos em dois lotes, A e B. O primeiro foi inoculado por via intraperitoneal com 0,1ml de uma cultura em caldo contendo $1,2 \times 10^4$ bact/0,1ml. O lote B recebeu a mesma quantidade da cultura, mas por via oral.

Os resultados (Quadro 3) mostram que todas as aves inoculadas pela via intraperitoneal adoeceram e morreram até o 6º dia e o microrganismo foi reisolado dos órgãos abdominais das aves mortas. No lote B (via oral) apenas uma ave morreu e dela o microrganismo foi também reisolado em cultura pura. Por motivos óbvios não foi feita a soroglutinação das aves do lote A no 2º dia de vida. As aves do lote B, no entanto, apresentaram resultado negativo a este exame.

DISCUSSÃO

O sorotipo *S. canada*, descrito pela primeira vez de pacientes humanos, por YURACK e cols. (1961) no Canadá, foi agora isolado, ao que se presume pela primeira vez, de frangos de cortes com quadro de infecção entérica. O encontro do microrganismo no fígado e na gema não absorvida de todas as aves examinadas não deixa dúvida sobre a participação desse microrganismo no quadro clínico mencionado, mesmo porquê

QUADRO 1 – Mortalidade nas cinco primeiras semanas de vida nos três lotes de pintos de onde a Scanada foi isolada.

Semana de vida	Lote 1 (8.000)			Lote 2 (7.800)			Lote 3 (7.000)		
	nº	% sem.	% acum.	nº	% sem.	% acum.	nº	% sem.	% acum.
Primeira	99	1,24	1,24	181	2,32	2,32	761	10,87	10,87
Segunda	201	2,51	3,75	110	1,41	3,73	625	8,93	19,80
Terceira	230	2,88	6,63	78	1,00	4,73	214	3,06	22,86
Quarta	34	0,43	7,06	13	0,14	4,87	29	0,41	23,27
Quinta	11	0,14	7,20	7	0,09	4,96	—	—	—
TOTAL	575		7,20	389		4,96	1.629		23,27

Todos os três lotes receberam Furazolidona na dose de 110 g por tonelada de ração, sob a forma de NF.180, nas seguintes idades:

Lote 1: aos 30 dias de idade
Lotes 2 e 3: na 3ª semana de vida

QUADRO 2 – Resultados obtidos nos exames de cinco aves de cada lote.

EXPERIMENTO 1

	Idade dos lotes					
	5 dias		15 dias		25 dias	
	A	B	A	B	A	B
1. Mortalidade	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
2. Aglutinação (pulorose)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
3. Coprocultura	5/5	0/5	5/5	0/5	5/5	0/5
4. Desenvolvimento normal	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5
5. Hemocultura	0/5	0/5	0/5	0/5	1/0	0/5

Lote A = Pintos inoculados por via oral com cultura de *S. canada*.
Lote B = Pintos não inoculados (Controle).

QUADRO 3 – Resultados obtidos pela inoculação de pintos com *S. canada* pelas vias intraperitoneal e oral.

EXPERIMENTO 2

RESULTADOS	Via de inoculação	
	Intraperitoneal	Oral
1. Mortalidade		
1ª dia	10 (66,7%)	0 (0,0%)
2ª dia	4	0
5ª dia	0	1 (6,7%)
6ª dia	1 (100%)	0 (6,7%)
2. Aglutinação no 25º dia	x	–
3. Exame bacteriológico		
3.1 Órgão abdominais	+	x
3.2 Fezes (20º dia)	x	+
3.3 Hemocultura	x	–

Obs. – = negativo
+ = positivo
x = não foi realizado

o exame bacteriológico não revelou a presença de outros agentes concorrentes.

Sabe-se que a letalidade nas infecções paratifóides, sob condições naturais, varia com as condições de criação, amostra do agente infectante e presença de infecções concorrentes. Em aves jovens pode variar de 0 a 10 ou 20%; surtos severos, entretanto, podem provocar 80% ou mais de letalidade, REIS (1956); WILLIAMS (1972). Nos casos por nós observados a mortalidade variou de 5 a 23% até a quinta semana de idade e não foram observadas clinicamente outras infecções concorrentes. As condições de criação eram boas e os lotes eram colocados em galpões com cama nova e após desinfecção. A patogenicidade dos organismos do gênero *Salmonella* em condições experimentais, varia segundo o número de microrganismos inoculados, MILLNER e SHAFFER (1952), a amostra usada para a inoculação e a via de inoculação, SIEBURTH (1957), SHAFFER (1957). Não se observou nenhuma letalidade durante um período de 25 dias quando pintos de um dia foram inoculados por via oral com *S. canada*. A inoculação pela via intraperitoneal matou 100% dos pintos nos seis dias que se seguiram à inoculação.

A inoculação de *Salmonella* em aves pode provocar uma bacteremia que pode ser facilmente comprovada pela hemocultura, MILLNER e SHAFFER (1952) exame de órgãos abdominais, SIEBURTH (1957), além de tornar estas aves portadoras intestinais por períodos variáveis, BUXTON e GORDON (1947), SIEBURTH (1957). Nas inoculações por via oral não se observou bacteremia nos períodos de cinco, 15 e 25 dias após a inoculação, enquanto que 100% das

aves, neste mesmo tempo, permaneceram portadoras intestinais. Reisolou-se a *S. canada* de órgãos abdominais de todas as aves mortas após a inoculação.

Os processos sorológicos usados para a detecção de aves portadoras de *Salmonella* (paratifo) ainda não têm a mesma aceitação dos testes para *S. pullorum* e *S. gallinarum*. Aves portadoras intestinais podem dar resposta sorológica negativa aos testes de aglutinação e os títulos aglutinantes podem sofrer grandes flutuações, BUXTON (1947). Os programas de teste para o paratifo são dificultados pelo grande número e tipos antigênicos dos microrganismos que infectam as aves e pela necessidade de métodos refinados para a obtenção dos antígenos respectivos, ANÔNIMO (1971).

O teste de soro aglutinação rápida usando antígeno de *S. pullorum* e sangue total pode dar reações cruzadas, principalmente quando as aves são infectadas por bactérias dos gêneros *Escherichia* e *Staphylococcus*, JULY e HIPÓLITO (1970), e por salmonelas que possuem determinantes antigênicos comuns com as amostras utilizadas na preparação do antígeno.

O sangue de aves infectadas com *S. canada* por via oral não apresentou reação de aglutinação frente ao antígeno de pulorose K polivalente quando examinado cinco, 15 e 25 dias após a inoculação, apesar destas aves apresentarem-se como portadoras intestinais. Apenas o sangue de uma ave 25 dias após a inoculação aglutinou o antígeno. Desta ave a *S. canada* foi isolada por hemocultura. Mesmo assim os resultados são insuficientes para relacionar a infecção por *S. canada* com a reação positiva.

RFMV-A/29

SILVA, E.N. & HIPÓLITO, O. *Salmonella canada* — a new poultry pathogen. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 14(2): 279-284, 1977.

SUMMARY: Serotype *S. canada* (4,12:b-1,6), described for the first time by YURACK et al. (1961) in Canada from 63 isolates from human patients with inapparent infection or showing enteric and renal symptoms, was isolated, presumably for the first time, in broilers in Brazil. The organism was isolated in pure culture from liver and unabsorbed yolk of chicks with 4-30 days of age showing 5-23 per cent mortality. The organism showed a low pathogenicity when inoculated orally but was highly pathogenic by the intraperitoneal route.

UNITERMS: *Salmonella canada**; *Salmonellosis*, poultry*.

AGRADECIMENTOS

Consignamos aqui os nossos agradecimentos ao dr. Gil Vital A. Pessoa pelos exames realizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – ANÔNIMO. Methods for the examination for poultry biological and for identifying and quantifying avian pathogens. Washington, National Academy Science, 1971.
- 2 – BERGEY'S Manual of determinative bacteriology. 8. ed., Baltimores, Williams & Wilkins, 1974. p.298-313.
- 3 – BUXTON, A. & GORDON, R.F. The epidemiology and control *Salmonella thompson* infections on fowls. *J. Hyg.*, 45: 265-81, 1947.
- 4 – DOWELL, V.R. Informação pessoal.
- 5 – EDWARDS, P.R. & EWING, W.H. Identification of enterobacteriaceae. 3. ed., S.L., Burgess Publ., 1972.
- 6 – JULY, J.R. & HIPÓLITO, O. Bactérias dos generos *Escherichia* e *Staphylococcus* como principais causas de reações "não pullorum" na prova de soroaglutinação rápida aplicada à pulorose. *Arq. Inst. biol.*, 37(4): 261-8, 1970.
- 7 – MILNER, K.C. & SHAFFER, M.F. Bacteriologic studies of experimental *Salmonella* infections in chicks. *J. infect. Dis.*, 90: 81-96, 1952.
- 8 – PESSOA, G.V.A. Informação pessoal.
- 9 – REIS, J. & NÓBREGA, P. Salmoneloses. In: *Tratado de doenças das aves*. São Paulo, Ed. Melhoramentos, v.1, 1956. p.53-9.
- 10 – SHAFFER, M.F. et alii. Bacteriologic studies of experimental *Salmonella* infection in chicks. II. *J. Infect. Dis.*, 100: 17-31, 1957.
- 11 – SIEBURTH, J.M. The effect of furazolidone on the cultural and serological response of *Salmonella typhimurium* infected chickens. *Avian Dis.*, 1: 180-94, 1957.
- 12 – WILLIAMS, J.E. Paratyphoid infections. In: *Diseases of poultry*. 6. ed., S.L., Ames State University Press, 1972. p.135-202.
- 13 – WILLIAMS, J.E. Observations on *Salmonella thompson* as a poultry pathogen. *Avian Pathol.*, 1(1): 69-73, 1972a.
- 14 – YURACK, J.A. et alii. A new *Salmonella* serotypes: *S. canada* (4,12:b-1,6). *Can J. Publ. Hlth.*, 52: 72-7, 1961.

Recebido para publicação em 26-4-77
Aprovado para publicação em 30-8-77