

Primeiro relato de *Salmonella enterica* e *Campylobacter* spp. isolados de Garibaldi (*Chrysomus ruficapillus*) e Canário-da-terra (*Sicalis flaveola*) silvestres

First report on the *Salmonella enterica* and *Campylobacter* spp. isolation from wild birds Garibaldi (*Chrysomus ruficapillus*) and Canário-da-terra (*Sicalis flaveola*)

RIALA6/1629

Priscila Alves DIAS^{1*}, Daiane Elisa WILSMANN¹, Júlia Grün HEINEN¹, Carine Dahl CORSINI², Cecília CALABUIG³, Cláudio Dias TIMM¹

*Endereço para correspondência: ¹Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Capão do Leão, prédio 34, CEP 96010-900, Pelotas/RS, Brasil. Tel: (53)3275-7561. E-mail: dias.alvespri@gmail.com

²Departamento de Patologia Animal, Faculdade de Veterinária, UFPel

³Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA)

Recebido: 03.09.2014 - Aceito para publicação: 28.10.2014

RESUMO

Algumas espécies de aves silvestres têm sido identificadas como reservatórios de *Campylobacter* e *Salmonella*, as quais atuam como propagadoras desses micro-organismos; entretanto, não há estudo sobre o papel das aves silvestres na transmissão desses agentes patogênicos no Brasil. O objetivo do presente trabalho foi de verificar a presença desses agentes patogênicos em aves silvestres que se alimentam em lavouras orizícolas. Vinte e três Garibaldis (*Chrysomus ruficapillus*), uma Rolinha-picuí (*Columbina picui*) e um Canário-da-terra (*Sicalis flaveola*) foram capturados com redes de neblina. As amostras de fezes das aves foram coletadas com o uso de zaragatoas e foram processadas para efetuar pesquisa de *Campylobacter* spp. e *Salmonella enterica*. Oito (32 %) amostras de fezes de *C. ruficapillus* foram positivas para *Campylobacter* e seis (24 %) foram positivas para *Salmonella enterica*. Cinco (20 %) amostras coletadas de *C. ruficapillus* e uma de *S. flaveola* foram positivas para *Salmonella*. *C. ruficapillus* e *S. flaveola* mostraram ser reservatórios de *Campylobacter* e *Salmonella* e, conseqüentemente, podem atuar como potenciais disseminadores destes patógenos. Este é o primeiro registro de isolamento de *Campylobacter* e *Salmonella* de amostras de fezes de *C. ruficapillus* e *S. flaveola* silvestres.

Palavras-chave. aves silvestres, orizicultura, *Salmonella*, *Campylobacter*.

ABSTRACT

Some species of wild birds have been identified as reservoirs of *Campylobacter* e *Salmonella*, they may exert as disseminators of these microorganisms. However, in Brazil, there is no study on the role of wild birds in the transmission of these two pathogens. This study aimed at searching the occurrence of *Campylobacter* and *Salmonella* in wild birds that feed in the rice paddies. By using mist nets 23 garibaldis (*Chrysomus ruficapillus*), one rolinha-picuí (*Columbina picui*) and one canário-da-terra (*Sicalis flaveola*) were captured. The birds stool samples were collected using swabs, and they were processed for searching *Campylobacter* spp. and *Salmonella enterica*. Eight (32 %) fecal samples collected from *C. ruficapillus* were *Campylobacter*-positive and six (24 %) were positive to *Salmonella enterica*; five (20 %) samples collected from *C. ruficapillus* and one (4%) from *S. flaveola* were positive to *Salmonella enterica*. The two birds *C. ruficapillus* and *S. flaveola* showed to be reservoirs of *Campylobacter* and *Salmonella*, and they can be potential transmitters of these pathogens. This study is the first report on the isolation of *Campylobacter* and *Salmonella* from wild birds *C. ruficapillus* and *S. flaveola*.

Keywords. wild birds, rice crops, *Salmonella*, *Campylobacter*.

INTRODUÇÃO

Campylobacter e *Salmonella* são importantes patógenos envolvidos em surtos de doenças de origem alimentar, transmitidos principalmente por produtos avícolas. *Campylobacter* é essencialmente apatogênico para as aves, tornando-as potenciais transmissores deste patógeno¹. A maior parte das campilobacterioses humanas provém de alimentos contaminados, porém outras vias de infecções ainda devem ser estudadas. Bactérias do gênero *Salmonella* têm sido isoladas de diversos alimentos e responsabilizadas por surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) em humanos². No Brasil, *Salmonella* foi o principal agente etiológico identificado em 8.663 casos de surtos de DTA notificados ao Ministério da Saúde entre 2000 e 2011³.

As aves silvestres são consideradas reservatórios de *Campylobacter* e *Salmonella*; devido à sua grande mobilidade, podem atuar como propagadoras de micro-organismos patogênicos para aves domésticas utilizadas para consumo humano, através da contaminação direta ou de alimentos e água^{4,5}. Os humanos estão expostos a fezes contaminadas de animais domésticos e silvestres durante atividades ao ar livre, como caminhadas, acampamentos e piqueniques. Também pode ocorrer contaminação indireta via fômites, como sapatos e roupas⁶.

As lavouras de arroz da região sul do Brasil criaram um sistema de áreas úmidas sazonais de estrutura e dinâmica previsíveis, das quais algumas espécies de aves se beneficiaram, explorando os recursos existentes nesses banhados artificiais⁷. Estas aves estão em contato muito próximo com os seres humanos e podem contaminar com suas fezes as aguadas e os silos de armazenamento de grãos de arroz. Além disso, os animais domésticos em contato com fezes de aves contaminadas podem passar a albergar os patógenos e veiculá-los para os humanos.

Em animais de produção o estudo sobre micro-organismos patogênicos é bastante difundido, pois apresentam impacto sobre a economia, porém a microbiota de aves silvestres tem sido pouco estudada, há poucos trabalhos sobre a ocorrência de bactérias de importância em saúde pública, particularmente no Brasil, sendo a maioria realizados com animais oriundos do tráfico e/ou cativo. Considerando a escassez de informações quanto à ocorrência de micro-organismos patogênicos nas aves silvestres, ou seja, de vida livre, que utilizam as lavouras orizícolas para descanso, alimentação e/ou reprodução, o trabalho teve como objetivo verificar a presença de *Samonella* e *Campylobacter* nessas aves.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram capturadas 25 pequenas aves silvestres próximo a lavouras de arroz na região sul do Rio Grande do Sul. Para a captura das aves, foram utilizadas quatro redes de neblina de 12 metros. As aves foram identificadas em gênero e espécie de acordo com o Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (CBRO)⁸.

Foram coletadas amostras de fezes da região da cloaca com o uso de zaragatoas estéreis, as quais foram mantidas em meio de transporte Cary Blair (Himedia, Mumbai, Índia), acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo e imediatamente encaminhadas ao laboratório. Após a coleta, as aves foram soltas.

Para o isolamento de *Campylobacter*, o material das zaragatoas foi diretamente semeado na superfície de ágar Columbia Blood Agar Base (Acumedia, Lansing, Michigan). A incubação foi feita a 42 °C por 48 horas em atmosfera de microaerofilia. O meio foi adicionado de 0,4 % (m/v) de carvão ativado, 5 % (m/v) de suplemento antioxidante FBP (piruvato de sódio, bissulfato de sódio, sulfato de ferro)⁹ e 1 % (m/v) de mistura de antibióticos Campilofar® (vancomicina 2,9 mg; anfotericina B 5,8 mg; cefalotina 4,35 mg; polimixina B 725UI; trimetoprima 1,45 mg; Cefar Diagnóstica LTDA, São Paulo, Brasil) para inibir o crescimento da microbiota acompanhante. A atmosfera de microaerofilia foi gerada através de uma modificação sugerida por Filgueiras e Hofer¹⁰ da técnica de passivação do cobre descrita por Attebery e Finegold¹¹. Adaptada proporcionalmente a uma jarra de 2,5 L, esta técnica consiste em triturar 2,8 g de Sonrisal (Sanofi-Winthrop Farmacêutica), colocar em uma base de placa de Petri e, sobre este, colocar 7,1 g de palha de aço (BombriL) embebida em solução acidulada de sulfato de cobre. Com este preparo, obtêm-se uma concentração final de 85 % N₂, 10 % CO₂ e 5 % O₂.

As colônias típicas, com brilho d'água e espriadas, foram coradas pela técnica de coloração de Gram e observadas em microscópio ótico. Os isolados com morfologia de bastonetes delgados, em forma de S ou de asa de gaivota foram testados quanto à produção das enzimas catalase e oxidase.

Para pesquisa de *Salmonella*, as zaragatoas foram colocadas em tubos de ensaio com 10 mL de Água Peptonada Tamponada (APT, Acumedia). O material foi incubado para pré-enriquecimento e demais procedimentos para pesquisa de *Salmonella*, conforme recomendado por U.S. Food and Drug Administration – FDA¹².

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Rio Grande e a captura das aves silvestres foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio).

RESULTADOS

Foram capturadas 23 aves da espécie *Chrysomus ruficapillus*, uma *Columbina picui* e uma *Sicalis flaveola*. Oito (32 %) amostras de fezes de *C. ruficapillus* foram positivas para *Campylobacter* e seis (24 %) para *Salmonella enterica*; cinco amostras de *C. ruficapillus* e uma de *S. flaveola* foram positivas para *Salmonella*. Duas aves da espécie *C. ruficapillus* albergavam ambos os micro-organismos.

DISCUSSÃO

Gonçalves et al¹³ isolaram *Salmonella* de 1,7 % (2/117) das aves silvestres estudadas. Embora os autores tenham estudado também animais de vida livre, apenas dois papagaios (*Amazona aestiva*), pertencentes à ordem Psittaciforme, provenientes de cativeiro (tráfico animal), foram positivos para a bactéria. Em estudo semelhante, Lopes et al¹⁴ também isolaram *Salmonella* (3/182) em Psittaciformes. Santos et al¹⁵, caracterizando a microbiota cloacal de 51 aves de espécies diferentes da família Cracidae, cativos no RS, não encontraram *Campylobacter* ou *Salmonella*. Em nosso estudo, aves positivas pertenciam à ordem Passeriforme e encontravam-se livres na natureza, sendo este o primeiro registro de isolamento de *Campylobacter* e *Salmonella* de *C. ruficapillus* e *S. flaveola* silvestres.

As aves presentes em arrozais do sul do Rio Grande do Sul compreendem uma parcela da avifauna registrada em áreas úmidas da região. Muitas das espécies mais frequentes e abundantes aparentemente se ajustaram ao cultivo do arroz em função de características idiossincráticas resultantes de adaptações para o forrageio em áreas úmidas rasas e esparsamente vegetadas, explorando eficientemente o cultivo e chegando em alguns casos, como o *C. ruficapillus*, a serem considerados pragas agrícolas⁷. O grande número dessas aves nestes ambientes agrícolas, onde toneladas de alimentos são produzidos e estocados, contando com presença permanente de pessoas envolvidas com a atividade, faz com que o contato direto e indireto entre

aves e humanos seja bastante intenso.

As aves, ao se alimentarem nas lavouras, defecam sobre as plantas e os grãos que serão colhidos e utilizados na alimentação humana. Os silos, locais onde os grãos de arroz são armazenados após a colheita, podem ser contaminados durante o período em que são abertos para serem abastecidos, quando as aves têm acesso ao seu interior, onde buscam os grãos para se alimentarem. Animais domésticos que entrem em contato com as fezes de aves silvestres portadoras de *Campylobacter* e *Salmonella* podem se contaminar e transmitir os patógenos para o homem e outros animais. Há ainda o risco dos trabalhadores rurais entrarem em contato direto com as fezes contaminadas no exercício das suas atividades.

Este estudo demonstrou que *C. ruficapillus* e *S. flaveola* são reservatórios de *Campylobacter* e *Salmonella* e podem, conseqüentemente, ser potenciais disseminadores destes patógenos para o ambiente, animais domésticos, o homem e seus alimentos.

REFERÊNCIAS

1. Germano PML, Germano MIS. Agentes bacterianos de toxinfecções. In: Germano PML, Germano, MIS. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. 2ª Edição. São Paulo: Editora Varela; 2003, p. 215-75.
2. Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. Vital Signs: Incidence and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food - Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 1996--2010. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2011;60(22):749-55.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Unidade de Doenças de Veiculação Hídrica e Alimentar, 2011. Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar - VEDTHA. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/10_passos_para_investigacao_surtos.pdf].
4. Kapperud G, Rosef O. Avian wildlife reservoir of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*, *Yersinia* spp. and *Salmonella* spp. in Norway. *Appl Environ Microbiol*. 1983;375-80.
5. Rosef O, Kapperud G, Lauwers S, Gondrosen B. Serotyping of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter lariidis* from domestic and wild animals. *Appl Environ Microbiol*. 1985;49(6):1507-10.
6. Tsiodras S, Kelesidis T, Kelesidis I, Bauchinger U, Falagas ME. Human infection associated with wild birds. *J Infect*. 2008;56(2):83-98.
7. Dias RA, Burger MI. A assembléia de aves de áreas úmidas em dois sistemas de cultivo de arroz irrigado no extremo sul do Brasil. *Ararajuba*. 2005;13(1):63-80.
8. Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos [CBRO]. Listas das Aves do Brasil, 10ª ed., 2011. Disponível em: [<http://www.cbro.org.br>].

9. George HA, Hoffmann PS, Krieg NR, Smibert RM. Improved media for growth and aerotolerance of *Campylobacter fetus*. *J Clin Microbiol*. 1978;8:36-41.
10. Filgueiras ALL, Hofer E. Ocorrência de *Campylobacter* termofílico em diferentes pontos de uma estação de tratamento de esgotos na cidade do Rio de Janeiro. *Rev Microbiol*. 1989;20:303-8.
11. Attebery HR, Finegold SM. A miniature anaerobic jar for tissue transport or for cultivation of anaerobes. *Am J Clin Pathol*. 1970;53:383-8.
12. Andrews WH, Jacobson W, Hammack T. *Salmonella*. U.S. Food and Drug Administration, Bacteriological analytical manual, Chapter 5, 2011. Disponível em: [<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>].
13. Gonçalves GAM, Almeida SM, Camossi LG, Langoni H, Andreatti Filho RL. Avaliação sorológica de *Parainfluenzavirus* tipo 1, *Salmonella spp.*, *Mycoplasma spp.* e *Toxoplasma gondii* em aves silvestres. *Cienc Anim Bras*. 2013;14(4):473-80.
14. Lopes ES, Cardoso WM, Albuquerque AH, Teixeira RSC, Salles RPR, Bezerra WGA, et al. Isolation of *Salmonella spp.* in captive Psittaciformes from zoos and a commercial establishment of Fortaleza, Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2014;66(3):965-8.
15. Santos HF, Flôres ML, Lara VM, Silva MS, Battisti L, Lovato LT. Microbiota cloacal aeróbia de cracídeos cativos no Rio Grande do Sul e sua susceptibilidade a antimicrobianos. *Pesq Vet Bras*. 2010;30(12):1077-82.