



ROSALBA CARREON NAPOLES^{1,3}

rcn@correo.unam.mx

CELENE CRUZ BENAVIDES^{2,3}

M.V. Zootecnista e MSc.^{1,3}

M.V. Zootecnista²

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia³

A prova de ELISA: ferramenta útil para o diagnóstico sorológico da salmonelose

Introdução

O termo salmonelose é empregado para descrever a infecção causada por microrganismos do gênero *Salmonella*. É uma das infecções mais comuns na suinocultura, tendo sido reconhecida como causadora de uma importante zoonose, em nível mundial, de impacto econômico tanto para humanos como para animais. Esta bactéria é um patógeno dos suínos, capaz de infectar lotes durante períodos prolongados. A alta densidade animal, o estresse no desmame ou no transporte e as doenças nutricionais ou infecciosas aumentam a sua eliminação por parte dos portadores. Quando todos os animais adoecem simultaneamente deve-se suspeitar de uma fonte contaminada, como alimento, cama, água ou ambiente. A incidência da doen-

ça está estreitamente relacionada com o sistema de manejo, particularmente os de tipo intensivo.

Há dois tipos de apresentação: a salmonelose entérica, que gera perdas econômicas importantes em consequência do atraso no crescimento e no incremento nos índices de conversão alimentar, e a forma septicêmica, na qual os animais estão resistentes à movimentação, acomodados em um canto da baia, ou mortos, com cianose abdominal, nasal e nas extremidades.

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae, sendo bacilos Gram negativos, intracelulares, móveis com flagelos peritricos, não esporulados e anaeróbicos facultativos, capazes de resistir a diversas condições ambientais. Crescem em Agar MacConkey e em outros meios que contenham bile e não fer-

mentam a lactose.

As espécies que comumente afetam o suíno são a *Salmonella enterica*, subespécie *enterica* sorovariedade *choleraesuis*, e a *Salmonella enterica*, subespécie *enterica* sorovariedade *typhimurium*. O local de eleição para a infecção por salmonelas, normalmente, é intestino delgado. Afeta com maior frequência os suínos jovens, a partir do desmame até os quatro meses de idade, podendo também acometer animais adultos.

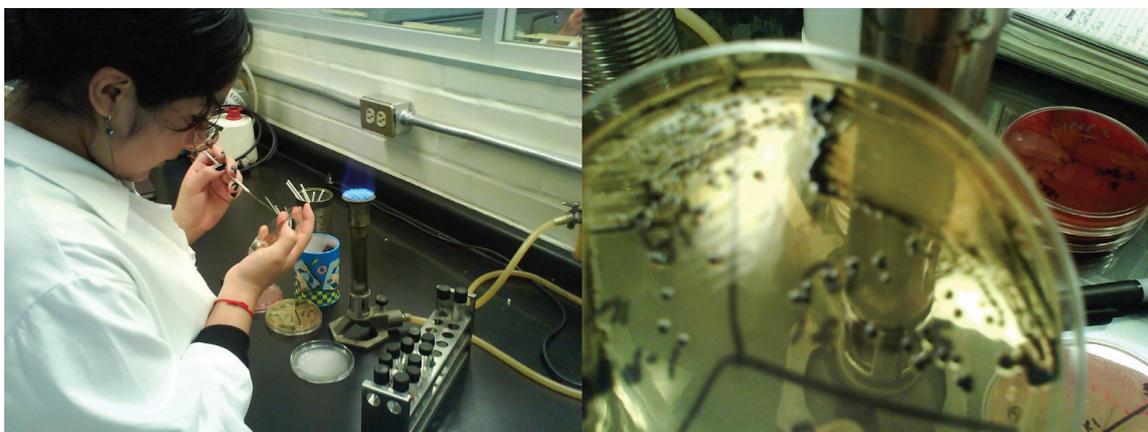
Embora se possa estabelecer um diagnóstico presuntivo, com base nas manifestações clínicas associadas aos achados de necropsia, ele deve ser confirmado com o isolamento do microrganismo e estudos sorológicos.

O método padrão para a detecção de suínos positivos para *Salmonella* é o exame bacteriológico das fezes, embora mais recentemente as provas de ELISA para *Salmonella* estejam disponíveis como seletivas para a resposta sorológica da infecção.

As técnicas de diagnóstico indireto ou sorológico apresentam uma série de vantagens. Em primeiro lugar, os níveis sorológicos de anticorpos não flutuam, como no caso da eliminação das salmonelas nas fezes e, portanto, permitem que tenhamos uma idéia mais clara do que pode estar ocorrendo, tanto no nível individual, como no de grupo ou granja. A utilização de amostras de soro também evita outros problemas inerentes à coleta de fezes: volume e urgência da remessa ou refrigeração. A estrutura antigênica das enterobactérias é tal que permite relacionar vários gêneros entre si, definindo sorologicamente um sem-número de espécies bacterianas.



Grandes populações podem ser infectadas pela salmonelose



A bacteriologia é o método standart para detectar salmonelose.

Colônias de *Salmonella* spp em Ágar SS



Colônias de *Salmonella* spp em Ágar MacConkey.

Ao delinear uma técnica para o diagnóstico indireto das infecções por *Salmonella* devemos escolher entre técnicas específicas, capazes de detectar a resposta imunitária induzida por um número limitado de sorotipos ou, inclusive, um único sorotipo, e as técnicas de caráter geral, capazes de detectar a infecção por diferentes tipos ou grupos desta bactéria ou, inclusive, por todos ou a grande maioria dos sorotipos implicados nas infecções de uma determinada espécie. Por conseguinte, a medida do nível de anticorpos específicos de *Salmonella* por meio da prova de ELISA poderia ser um método útil em programas de prevenção e/ou controle. Em combinação com os exames bacteriológicos, uma prova de ELISA pode ser uma boa ferramenta para calcular a incidência real da *Salmonella* nos suínos.

As provas podem ser utilizadas para a detecção da infecção causada por cepas de *Salmonella* dos sorogrupos B, C₁ e D (Quadro 1.)

Atualmente há três provas comerciais de ELISA disponíveis: A, B e C. A prova de ELISA A (norte-americana) consiste em uma imunoenzimática para a detecção de anticorpos contra *Salmonella* sp no soro, plasma e extrato de carne suína. Permite a detecção sistemática rápida de anticorpos contra uma ampla gama de grupos séricos de *Salmonella*, indicando exposição à bactéria.

A prova de ELISA é rápida e confiável para estimar a prevalência de salmonelose nas granjas de suínos.

A prova de ELISA B (espanhola) é um imunoensaio enzimático indireto (ELISA indireto) para a detecção de anticorpos contra *Salmonella* em suínos, relativos aos antígenos LPS O tipos 1, 4, 5, 6, 7 e 12. As placas, nessa prova, contêm o LPS purificado de *S. typhimurium* e de *S. choleraesuis*. O conjugado é composto por soro de coelho anti-suíno marcado com peroxidase. Trata-se de uma prova útil para a prática de *screening* em grande escala e para programas de controle de

Salmonella em suínos.

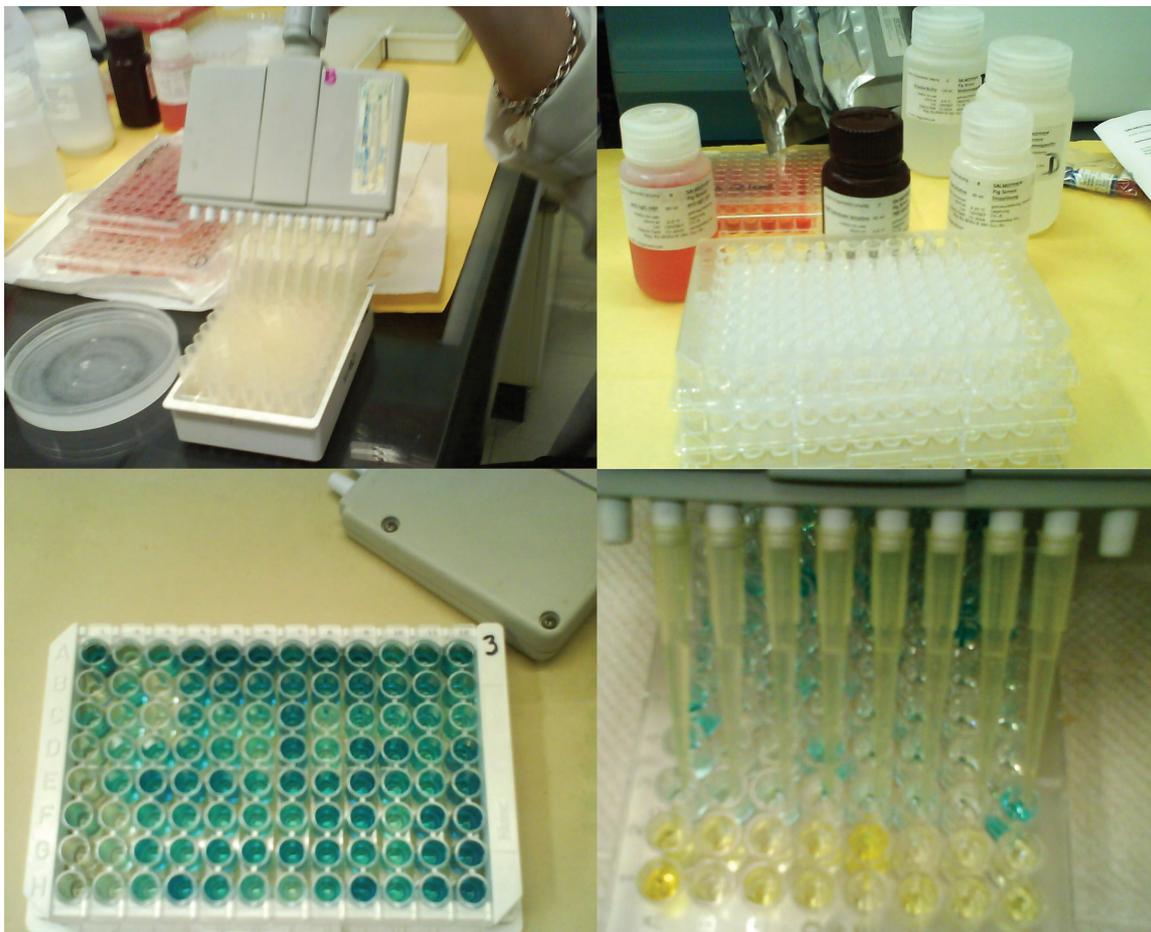
A outra prova de ELISA é de origem alemã (C) e consiste também em um imunoensaio enzimático para detecção de anticorpos contra *Salmonella* em amostras de origem suína, incluindo extrato de carne, soro e plasma. São detectados, com essa prova, os anticorpos para o antígeno O, tipos 1, 4, 5, 6, 7 e 12. Ela permite a detecção de anticorpos em mais de 90% dos sorotipos de *Salmonella* mais frequentes; sua microplaca é coberta com antígeno de *Salmonella*.

Atualmente já existem alguns estudos comparando, entre si, algumas destas provas. Em um deles, onde se utilizou duas das três provas de ELISA disponíveis, concluiu-se que as provas A e B utilizadas podem ser incluídas no programa de controle de *Salmonella* como metodologia para monitorar a soroprevalência desse microrganismo nos lotes, uma vez que – nas duas provas – foram obtidos resultados similares em aproximadamente 50% dos soropositivos. As diferenças nos resultados das amostras individuais foram similares entre as provas, e a correlação em conjunto entre os resultados foi boa. A prova de ELISA A apresentou o nível mais alto de amostras positivas, com 52%, enquanto que a ELISA B revelou 48% de positivos.

Outro estudo que utilizou a prova de ELISA A mostrou menor sensibilidade, com 44% de amostras positivas e 45% de granjas soropositivas. Porém, em outro estudo foi relatado que a sensibilidade e a especificidade foram mais altas

Quadro 1

| Sorotipo | Grupo |
|------------------------|----------------|
| <i>S. typhimurium</i> | B |
| <i>S. derby</i> | |
| <i>S. brandenburg</i> | |
| <i>S. choleraesuis</i> | C ₁ |
| <i>S. livingstone</i> | |
| <i>S. infantis</i> | |
| <i>S. panamá</i> | D |
| <i>S. enteritidis</i> | |



A prova de ELISA é rápida e confiável para estimar prevalência de salmonelose em granjas de suínos.

com a prova de ELISA A, em comparação a outra prova. Essa maior sensibilidade poderia estar relacionada ao uso de um antígeno de maior espectro (frente aos sorogrupos B, C1 e D de *Salmonella*) em comparação a um antígeno restrito aos sorogrupos B e C1 da outra prova. Assim, a prova de ELISA A poderia ter detectado animais com anticorpos circulantes que não teriam sido reconhecidos pela outra prova em comparação. Os resultados sugerem que a sensibilidade das provas varia de modo importante, em função dos sorotipos envolvidos.

Também foi relatado que a sensibilidade e a especificidade das provas de ELISA para salmonelose podem variar, dependendo do ponto de corte e da prevalência da infecção presente na granja. Por isso o conhecimento dos sorotipos de *Salmonella* presentes em uma região

é necessário, no sentido de determinar a precisão das provas sorológicas.

Não há como não admitir que, como já mencionado, o fato de estas provas sorológicas poderem ser realizadas também a partir do extrato de carne seja uma ferramenta valiosa para a detecção da salmonelose no abatedouro, atividade realizada naqueles países onde a salmonelose é parte de um programa nacional de controle, por ser um importante problema de saúde pública.

Conclusão

A combinação da bacteriologia com a sorologia é a opção mais recomendável para o diagnóstico da salmonelose, já que – por um lado – nos permitirá conhecer as variedades sorológicas implicadas e – por outro – realizar uma melhor

avaliação da doença e da eficácia das medidas de controle aplicadas, objetivos importantes para a produção de suínos e para a saúde pública. 🌐

Referências Consultadas

01. Epizootiología de la salmonelosis en bovinos, porcinos y aves. México, D.F. Disponible en: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVol3/CVv3c05.pdf> <<http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVol%203/CVv3c05.pdf>>
02. Straw B, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ. Enfermedades del cerdo. Tomo I. 8ª ed. Buenos Aires, Argentina: Intermédica, 2001:501,509
03. Threlfall EJ. Salmonella. Health Protection Agency 2008:639-647.