

Informativo técnico



SALMONELLA ENTERITIDIS

ALPHITOBIOUS DIAPERINUS COMO VETOR DE SALMONELLA ENTERITIDIS

INTRODUÇÃO

A salmonelose é uma doença infecciosa que afeta humanos e animais. Ela é causada pela bactéria do gênero *Salmonella*, agente etiológico de diarreias e infecções sistêmicas. Essas bactérias também causam infecções subclínicas, podendo contaminar o ambiente por meio de fezes de animais contaminados. Os sorotipos que afetam as aves podem causar enfermidades diferentes como a pulorose, pelo agente *Salmonella Pullorum*; o tifo aviário, pela *Salmonella Gallinarum*; e o paratifo aviário, por outros sorotipos. Os casos de infecções alimentares em seres humanos geralmente estão associados ao paratifo aviário por não possuir um hospedeiro-específico e estar relacionado ao consumo de alimentos de origem avícola (OIE, 2018; NETO; FILHO; JÚNIOR, 2020).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabeleceu ações para o monitoramento e controle da salmonela em granjas aviárias, em estabelecimentos de abates pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) e critérios mínimos de biossegurança nas granjas para registro no Serviço Veterinário Oficial com o Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA), visando diminuir a contaminação de alimentos e humanos por *Salmonella* (GOVERNO FEDERAL, 2021).

O *Alphitobius diaperinus* (cascudinho) está presente nos aviários e é uma das pragas mais importantes relacionadas à sanidade avícola, pois é vetor de diversas doenças, como a salmonelose. Nos aviários os cascudinhos encontram o ambiente ideal para seu desenvolvimento, com temperatura e alimentos disponíveis; o chão batido facilita o ciclo biológico pois cavam galerias no solo e se protegem durante o vazio sanitário, podendo infectar a cama nos próximos lotes (PRÁ, 2020).

Os cascudinhos coletados em cama de aviários já foram descritos como carreadores de *Salmonella* (GOODWIN E WALTMAN, 1996). Na superfície externa do inseto houve isolamento de *Salmonella*, demonstrando ser capaz de se contaminar com o substrato da cama do aviário (AGABOU E ALLOUI, 2010; SEGABINAZI et al, 2005). Adultos e larvas de cascudinhos já apresentaram capacidade de serem vetores de *Salmonella* Typhimurium (ROCHE et al, 2009; CASAS, POMEROY E HAREIN, 1968) e a *Salmonella enterica* já foi isolada em larvas de cascudinhos, incluindo os sorotipos *S. Linvingstone* e *S. Infantis*, e demonstraram ser bactérias multirresistentes aos antimicrobianos (DONOSO, PAREDES E RETAMAL, 2020).

Devido à importância do cascudinho como vetor de doenças na avicultura, realizou-se o estudo da competência vetorial do *A. diaperinus* na transmissão de *S. Enteritidis*.

MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta de cascudinhos adultos foi realizada em um aviário comercial. As larvas foram obtidas em laboratório e os bioensaios realizados no laboratório de ornitopatologia da Universidade de São Paulo - USP. Após a coleta, os adultos e larvas de cascudinhos ficaram armazenados em caixas plásticas cobertas com telas, recebendo ração umedecida em água destilada sob condições abióticas ambientais.

No bioensaio I, as larvas e adultos de cascudinhos foram infectados com *S. Enteritidis* através de ração contaminada experimentalmente. A avaliação foi conduzida com 120 larvas e 120 adultos, separados em grupos de 20 indivíduos. Cada grupo recebeu 5 g de ração contaminada com 5 ml de *S. Enteritidis* nas concentrações de 10^7 e 10^9 bactérias por mL por 24 horas. O grupo testemunha, de 20 larvas e 20 adultos, recebeu

ração umedecida com 5 mL de caldo nutriente estéril para cultivo de *Salmonella*.

Para confirmar a contaminação, os insetos passaram por análise bacteriológica de UFC/mL no 1º e 7º dia após infecção. No 1º dia, cinco insetos foram retirados, por recipiente, e no 7º dia os demais. Os insetos passaram por descontaminação externa, macerados e preparados em água peptonada para semeadura em meio ágar xylose-lysine-tergitol 4 (XLT4) para determinar a concentração de *S. Enteritidis*.

O bioensaio II foi realizado para determinar a capacidade de adultos e larvas de cascudinhos infectados com *S. Enteritidis*, contaminar o alimento. O desenho experimental contou com 20 cascudinhos adultos e 20 larvas contaminadas por *S. Enteritidis*, expostos a 5g de ração estéril para poedeiras. O grupo controle recebeu ração com caldo nutriente estéril. As larvas foram retiradas da ração após 24 horas e os adultos após sete dias. Amostras de 1g de ração foram semeadas em tetrationato e, após, passadas para ágar XLT4, reisoladas em ágar MacConkey e, desta forma, foi confirmada a presença de *S. Enteritidis*.

O bioensaio III teve como objetivo demonstrar a capacidade das larvas e adultos de cascudinhos contaminados com *S. Enteritidis* de infectar pintinhos *Specific Pathogen Free* (SPF). Os adultos e larvas contaminados foram oferecidos vivos como alimento a pintinhos SPF de um dia de vida. Foram utilizados 160 pintinhos divididos em quatro tratamentos e 40 repetições, cada ave representando uma repetição.

T1: pintinhos que receberam cinco adultos de *A. diaperinus* livres de *S. Enteritidis*.

T2: pintinhos que receberam cinco larvas de *A. diaperinus* livres de *S. Enteritidis*.

T3: pintinhos que receberam cinco adultos de *A. diaperinus* contaminados por *S. Enteritidis* na ração.

T4: pintinhos que receberam cinco larvas de *A. diaperinus* contaminados por *S. Enteritidis* na ração.

As aves foram avaliadas durante uma semana quanto à mortalidade. As aves que morreram antes de uma semana foram necropsiadas e os órgãos (ceco, fígado e baço) foram semeados para isolamento de *Salmonella spp.* Aos sete dias de vida, os pintinhos foram eutanasiados e

necropsiados para retirada de fígado, baço e cecos e as tonsilas cecais, e, desta forma, foi confirmada a presença de *S. Enteritidis* após semeadura.

RESULTADOS

Os adultos e larvas de cascudinhos do bioensaio I que receberam ração com *S. Enteritidis* (concentrações entre 10^7 e 10^9 bactérias/ml) estavam contaminados 24 horas e sete dias após a ingestão. Nas 24 horas após a ingestão não houve diferença de contaminação entre larvas e adultos, ambos estavam 100% contaminados. Todavia, após 7 dias de ingestão da *S. Enteritidis* os adultos estavam mais contaminados do que as larvas.

Após 24 horas, os insetos adultos estavam contaminados com concentrações entre 3×10^3 e 1×10^5 UFC/ml do macerado (considerando um pool de 5 insetos) e as larvas com concentrações entre 1×10^4 e 4×10^6 UFC/ml. Decorridos sete dias da ingestão, os adultos apresentaram concentrações entre $1,2 \times 10^4$ e 2×10^7 UFC/ml e as larvas concentrações entre $3,1 \times 10^5$ e 1×10^7 UFC/ml.

A ração estéril exposta a adultos e larvas de cascudinhos do bioensaio II que estavam contaminados com *S. Enteritidis* apresentaram positividade, exceto em uma das repetições. Entre as cinco amostras de rações estéreis, 80% foram contaminadas pela presença de *A. diaperinus* anteriormente contaminados com *S. Enteritidis*.

O bioensaio III apresentou mortalidade de sete pintinhos antes do 7º dia, os quais foram necropsiados, sendo confirmada a presença de *S. Enteritidis* nas amostras de fígado, baço e ceco, exceto dois do grupo controle que estavam negativos para *S. Enteritidis*. Os pintinhos que receberam larvas e adultos de cascudinhos contaminados com *S. Enteritidis* obtiveram amostras de fígado e baço positivas para *S. Enteritidis*. Os pintinhos que se alimentavam de adultos apresentaram contaminação em 89,19% das amostras, e aqueles que se alimentaram com larvas o percentual de amostras contaminadas foi 97,37%.

Os pintinhos que ingeriram larvas estavam mais contaminados do que os que ingeriram adultos. Os valores médios de UFC/g de fígado e baço foram de 322,47 UFC/g em pintinhos que

ingeriram adultos e de 849,08 UFC/g para aqueles que ingeriram larvas. As amostras de ceco obtiveram cerca de 40% (44,74%) negativas em pintinhos que ingeriram larvas e 78,38% em pintinhos que ingeriram adultos. Os valores médios de UFC/g de ceco foram de 200,17 em pintinhos que ingeriram adultos e 428,11 UFC/g em pintinhos que receberam larvas de *A. diaperinus*.

Crippen et al (2009) apresentaram resultados de contaminação interna do *A. diaperinus* com a *S. Enteritidis*, adquirindo a bactéria no trato gastrointestinal após 30 minutos de exposição a 10^4 UFC/mL. Hazeleger et al (2008) forneceram a pintinhos de sete dias, adultos e larvas de cascudinhos contaminados com *Salmonella enterica*. Todos os grupos de aves do estudo isolaram *Salmonella*, indicando que o *A. diaperinus* pode ser um vetor dessa bactéria e uma única exposição aos insetos contaminados pode ser suficiente para contaminar a ave.

O controle de cascudinhos é essencial por ser fonte de disseminação de doenças para as aves e para a cama do aviário (LEFFER et al, 2002).

CONCLUSÃO

Com esse estudo podemos concluir que o *A. diaperinus* pode ser capaz de carrear a *S. Enteritidis* nas formas larvais e adultos. Quando apresentados a um meio de ração estéril foram capazes de contaminar 80% das amostras, e os pintinhos SPF que receberam os cascudinhos adultos e larvas contaminados com *S. Enteritidis* tiveram positividade no fígado, baço e ceco após sete dias da ingestão dos insetos, demonstrando sua capacidade de contaminação das aves. As larvas são capazes de veicular concentrações maiores de *S. Enteritidis* do que os adultos.

REFERÊNCIAS

Agabou, A. Alloui, N. **Importance of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) as a reservoir for Pathogenic Bacteria in Algerian Broiler Houses.** Veterinary World, v. 3, 2010, 71-73 p.

Casas, E. L. Pomeroy, B. S. Harein, P. K. **Infection and quantitative recovery of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* from Within the Lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer).** Scientific Journal Series, n. 6480, 1968, 1871-1875 p.

Crippen, T. L. et al. **The acquisition and internalization of *Salmonella* by the lesser**

mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Vector-borne and Zoonotic diseases, v.9, 2009, 65-71 p.

Donoso, A. Paredes, N. Retamal, P. **Detection of Antimicrobial Resistant *Salmonella enterica* Strains in Larval and Adult Forms of Lesser Mealworm (*Alphitobius diaperinus*) From Industrial Poultry Farms.** Frontiers in Veterinary science, v. 7, 2020, 1-6 p.

Goodwin, M. A. Waltman, W. D. **Transmission of *Eimeria*, viruses and bacteria to chicks: Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vector of pathogens.** Poultry science, 1996, 51-55 p.

Governo Federal. **Salmonelas.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/salmonelas>. Acesso em: 21 mai. 2021.

Hazeleger, W. C. et al. **Darkling Beetles (*Alphitobius diaperinus*) and Their Larvae as Potential Vectors for the Transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* Serovar Paratyphi B Variant Java between Successive Broiler Flocks.** Appl. environ. microbiol. v. 74, 2008, 6887-6891 p.

Leffer, A. M. C. et al. **Isolamento de Enterobactérias em *Alphitobius Diaperinus* e na Cama de Aviários no Oeste do Estado do Paraná, Brasil.** Rev. Bras. Ciência Avícola, v.4, 2002, 243-247 p.

Neto, O. C. F. Filho, R. A. C. Júnior, A. B. **Salmoneloses aviárias.** Doença das aves, v.3, 2020, 495-516 p.

OIE. Salmonellosis. **OIE Terrestrial manual,** v.1, 2018, 1735-1752 p.

Prá, M. D. **Limpeza e desinfecção das instalações avícolas.** Doença das aves, v. 3, 2020, 29 p.

Roche, A. J. et al. **Transmission of *Salmonella* to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae).** Poultry science, v. 88, 2009, 44-48 p.

Segabinazi, D. et al. **Bactérias da família Enterobacteriaceae em *Alphitobius diaperinus* oriundos de granjas avícolas dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil.** Acta Scientiae Vet. v. 33, 2005, 51-55 p.