

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE

ITACIR OLIVIO FARIKOSKI

**A CAPIVARA (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766; CAVIIDAE) DA
AMAZÔNIA OCIDENTAL COMO RESERVATÓRIO DE *Salmonella* spp.
(ENTEROBACTERIACEAE) E SUAS IMPLICAÇÕES NA SAÚDE PÚBLICA**

RIO BRANCO
ACRE - BRASIL
ABRIL – 2016

ITACIR OLIVIO FARIKOSKI

A CAPIVARA (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766; CAVIIDAE) DA
AMAZÔNIA OCIDENTAL COMO RESERVATÓRIO DE *Salmonella* spp.
(ENTEROBACTERIACEAE) E SUAS IMPLICAÇÕES NA SAÚDE PÚBLICA

Dissertação apresentada à
Universidade Federal do Acre, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Sanidade e
Produção Animal da Amazônia
Occidental, para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

RIO BRANCO
ACRE - BRASIL
ABRIL - 2016

FOLHA PARA A FICHA CATALOGRÁFICA

ITACIR OLIVIO FARIKOSKI

A CAPIVARA (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766; CAVIIDAE) DA
AMAZÔNIA OCIDENTAL COMO RESERVATÓRIO DE *Salmonella* spp.
(ENTEROBACTERIACEAE) E SUAS IMPLICAÇÕES NA SAÚDE PÚBLICA.

Dissertação apresentada à
Universidade Federal do Acre, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Sanidade e
Produção Animal da Amazônia
Occidental, para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

APROVADA: 06 de Abril de 2016

Dr. Francisco Glauco de Araújo Santos
UFAC

Dra. Clarice Maia Carvalho
UFAC

Dra. Vânia Maria França Ribeiro
(Orientadora)
UFAC

À minha querida e amada esposa Adriana Rossi.
A meus pais Mariano Farikoski e Ernestina Farikoski
(*in memoriam*)

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à Deus, pela saúde, disposição e sabedoria que a mim foi concedida para o desenvolvimento deste projeto. Também por ter me dado a oportunidade de conhecer pessoas maravilhosas que tanto me ajudaram.

À professora Dra. Vânia Maria França Ribeiro pela orientação, e pela confiança depositada em mim nestes dois anos de trabalho e pelos conselhos, paciência, e descontraídas conversas, onde dentre muitas virtudes que aqui poderia citar, destaco a amizade que levarei para o resto de minha vida.

À minha Co-orientadora Professora Dra. Luciana dos Santos Medeiros, pelas preciosas dicas que muito contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Dr. Mauricio Deschk, que não poupou esforços para ajuda neste projeto abdicando por muitas vezes seu descanso noturno e dos finais de semana para estar presente e monitorar de perto o uso dos protocolos de contenção química.

Aos doutores Yuri Karraccas de Carvalho e Jandui Escarião da Nobrega Junior, pelas relevantes contribuições nesta pesquisa.

Ao professor doutorando Mauro Ribeiro, por toda ajuda na captura e transporte dos animais, ajuda decisiva para o sucesso do projeto.

Pelas contribuições e ajuda dos doutores Moises Barbosa de Souza e Francisco Glauco de Araújo Santos.

Ao médico veterinário Romulo Silva de Oliveira, pelo auxílio nas traduções e contribuições no projeto.

Minhas colegas de mestrado e projeto, Paula Joseanny Borges da Silva, Karla Dayane Gruhn e Narianne Ferreira de Albuquerque, que estiveram juntas comigo nesta jornada, que por muitas vezes conseguiram transformar o cansaço em motivos de risos, o estresse em coragem para prosseguir e apoiar uns aos outros, destemidas guerreiras que não pouparam esforços para a realização desta pesquisa.

À toda equipe de campo, Adriana Rossi, Augusto Luiz Faiano Alves, Vander Melo, Raimunda Beserra da Silva, Patrícia Andrade dos Santos, Cyntia Dias Pereira, Estela Cristina Lima Mendonça, Lucas de Souza Freitas, Guaíçara de Souza Lima, Bruno Oliveira, Fábio da Silva Monteiro, que de forma voluntária todos auxiliaram em todas as etapas do projeto, muitas vezes abstando-se de seu descanso, para contribuir de forma indispensável para o desenvolvimento desta pesquisa.

À professora Sandra A. Ribeiro, pelo apoio e sugestões que muito ajudaram o desenvolvimento deste trabalho.

À Joseane Oliveira Jácome Santos e a Susan Christina Braga Domingos, pela ajuda na preparação de meios de cultura e ajuda nas atividades laboratoriais.

Aos componentes da banca examinadora, pelas críticas e dicas, que enriquecem este trabalho.

Aos professores, e a coordenação do Programa de Pós-graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental (PPGESPA) e a Universidade Federal do Acre (UFAC) pela contribuição em minha formação.

Aos amigos do Batalhão de Polícia Ambiental, ou melhor, minha família ambiental, que muito me orgulho em fazer parte, onde todos não mediram esforços para me apoiar e me incentivar nesta jornada.

Aos proprietários das fazendas, que autorizaram o desenvolvimento das pesquisas em suas propriedades.

E aos muitos amigos, que aqui não foram mencionados, mas colaboraram de alguma forma para realização desta pesquisa.

A Fundação de Amparo à Pesquisa no Acre (FAPAC), pelo auxílio financeiro a pesquisa, indispensável para o desenvolvimento do projeto.

"O homem que tem coragem de desperdiçar uma hora do seu tempo não descobriu o valor da vida."

Charles Darwin

CERTIFICADO COMITÊ DE ÉTICA DO USO DE ANIMAIS –UFAC

Título do projeto: A capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) da Amazônia Ocidental como possível reservatório de agentes etiológicos causadores de zoonoses.

Processo número: 23107.016723/2014-41

Protocolo número: 34/2014

Responsável: Itacir Olivio Farikoski

Data de aprovação: 28/11/2014

RESUMO

FARIKOSKI, Itacir Olivio. **A capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766; Caviidae) da Amazônia Ocidental como reservatório de *Salmonella* spp. (Enterobacteriaceae) e suas implicações na saúde pública.** Orientadora: Dra. Vânia Maria França Ribeiro. Co-orientadora: Dra. Luciana dos Santos Medeiros. Doenças infecciosas são uma constante preocupação em saúde pública e economia, principalmente as zoonoses. Uma das zoonoses mais disseminadas no mundo é originada por bactérias do gênero *Salmonella* Lignieres 1900, causadora de enterites, morbidades, ou morte. Bactérias do gênero *Salmonella* são encontradas em aves, répteis e mamíferos, utilizando os como hospedeiro e carreador. Os animais silvestres, dada sua rusticidade ou adaptação, podem hospedar este patógeno sem apresentar sintomas da doença. Isso é um risco, pois impossibilita a tomada de decisões para prevenir algumas doenças. A capivara é um animal de grande porte, muito prolífero e com hábitos semiaquáticos, que pode disseminar zoonoses. Apesar de compartilhar alguns ambientes com o homem, pouco se conhece sobre o papel epidemiológico da capivara. Este trabalho teve por objetivo verificar o status sanitário da capivara de vida livre com ênfase em bactérias do gênero *Salmonella*, para isso foi realizado a captura de 54 animais provenientes de duas áreas urbanas e duas áreas rurais. Os animais foram capturados em cevas e brevemente contidos para realização de uma coleta de fezes utilizando *swab* retal. Posteriormente foram transportadas e mantidas em cativeiro para a realização duas repetições com intervalos de seis dias. As amostras foram levadas ao laboratório de Bacteriologia Veterinária, da Universidade Federal do Acre, onde foram efetuados os cultivos bacteriológicos. Oito amostras obtiveram perfil bioquímico sugestivo para *Salmonella* spp. As amostras referentes a primeira captura foram enviadas para o Laboratório de Genética da Universidade Federal do Mato Grosso para detecção de *Salmonella* spp. por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) identificando o gene *h1A*. Cinco amostras foram confirmadas como *Salmonella* spp. pela PCR. Todas as amostras foram coletadas em animais de vida livre e sem sinais clínicos aparentes de salmonelose, indicando o potencial da capivara como reservatório de *Salmonella* spp., colocando em risco humanos e outros animais.

Palavras-chaves: Zoonoses, Enterobactérias, Roedores, *Salmonella*.

ABSTRACT

FARIKOSKI, Itacir Olivio. **The capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766; Caviidae) from the Western Amazon as *Salmonella* spp. (Enterobacteriaceae) reservoir. and its implications on public health.** Orientadora: Dra. Vânia Maria França Ribeiro. Co-orientadora: Dra. Luciana dos Santos Medeiros. Much of emerging infectious diseases are represented by pathogens that cause zoonosis. These pathologies generate constant concerns in public health, and to the economy, as they are responsible for losses in animal production. One of the most widespread zoonosis in the world is provided by bacteria of the genus *Salmonella* that causes enteritis, are responsible for thousands of cases of morbidity, and may lead the host to death. Too often it is found in birds, reptiles and mammals, often using as host and carrier, the wild animals, which because of its hardiness and adaptation, can carry the pathogen without showing any signs indicating the disease. Thus, by unknowing bacteria that wild animals are home to, becomes impossible of making decisions in the prevention of some diseases. The capybara is a large animal, very prolific with semiaquatic habits, which leads it to being a potential disseminator of waterborne diseases, which can reach humans. Despite sharing, often, some environments with humans, little is known about the epidemiological role of capybara. This study aimed to verify the health status of free life capybaras with emphasis on the *Salmonella* bacteria genus. For this, 54 animals from two urban and two rural areas were captured in traps and briefly contained to perform fecal samples using rectal swab. Subsequently the animals were transported to a suitable enclosure to perform two more repetitions with six days' intervals. The samples, totaling 324, were taken to the Veterinary Bacteriology Laboratory of the Federal University of Acre, where the bacteriological cultures were performed. The samples relating to the first capture were sent to the genetics laboratory of the Federal University of Mato Grosso for the detection of *Salmonella* spp. by polymerase chain reaction (PCR) identifying the *h1A* gene. The results of this work using bacterial culture and PCR showed a high percentage of animals with *Salmonella* spp. Thirteen of the 54 animals analyzed (24.07%) were positive. Repetitions of the samples were important to increase the chance of bacterial isolation, because two repetitions have identified 50% of animals with *Salmonella* spp., not identified in the first sample. PCR demonstrated better results in identification of *Salmonella* spp., compared to culture medium. All samples were collected in wild animals and with no apparent symptoms of salmonellosis, indicating the potential of the capybara as a reservoir, regarding this etiologic agent, putting at risk humans and other animals in this ecosystem.

Keywords: Zoonosis, Enterobacteria, Rodents, *Salmonella*

SUMÁRIO

págs.

RESUMO	
ABSTRACT	
1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 ARTIGOS.....	3
2.1 Artigo 1	3
2.2 Artigo 2.....	16
3 CONCLUSÕES GERAIS	31
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1 INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil são conhecidas 240 espécies de roedores distribuídos em 75 gêneros e 11 famílias. Dentro da família *Caviidae* e subfamília *Hydrochoerinae* está descrito a capivara, o maior roedor vivo do mundo, que pode atingir o peso de 100 quilos (HOSKEN; SILVEIRA, 2002; REIS et al., 2011).

A capivara pertencente ao gênero *Hydrochoerus* (PAGLIA et al., 2012) possui somente duas espécies vivas, a *H. isthmius* que ocorre no Panamá, Colômbia e Venezuela e possui o tamanho corporal um pouco menor que a *H. hydrochaeris*, que tem distribuição geográfica em grande parte do continente Sul Americano desde a Venezuela até o Uruguai e norte da Argentina. No Brasil pode ser encontrada em quase todo o território, excluindo somente as bacias mais áridas (HOSKEN; SILVEIRA, 2002; REIS et al., 2011). As duas espécies não são encontradas juntas em ambiente natural (AGUILERA et al., 2008).

Atividades humanas como a agricultura e pecuária, alteram ambientes naturais, o que pode ser prejudicial para alguns roedores, mas acaba favorecendo outros mais adaptados a presença humana. O convívio em ambientes antropizados pode aumentar a disponibilidade de alimentos e fornecer ambientes adequados para procriação e, ainda, reduz e afasta os principais predadores (MACKENZIE, 1972).

Os desmatamentos transformam matas fechadas em grandes áreas de pasto, e a criação de lagos artificiais favorecem o crescimento populacional de capivaras, onde no passado eram pouco abundantes (CAMPOS-KRAUER; WISELY, 2011; CORRIALE et al., 2013). Mudanças no seu habitat natural faz com que capivaras ocasionalmente invadam lavouras e periferia de áreas urbanas (SILVA et al., 2009).

Um país com uma enorme biodiversidade como o Brasil, necessita urgentemente conhecer a fundo todos patógenos que infectam a fauna silvestre, para que a partir disto, seja possível tomar medidas cabíveis para preservação da fauna silvestre bem como da saúde humana (CATÃO- DIAS, 2003).

Os estudos da epidemiologia das zoonoses são vitais para o conhecimento dos focos naturais, pois permitem avaliar quais são os fatores de risco associados e quais as doenças que ocorrem nos animais selvagens (MARVULO, 2006).

Nogueira e Cruz (2007) afirmaram que artigos sobre doenças de etiologia viral ou bacteriana na capivara são escassos, geralmente consistindo de relatos da presença de anticorpos contra este ou aquele microrganismo, o que não esclarece de fato sobre a importância da enfermidade para a espécie, ou mesmo da capivara como fonte de infecção para outras espécies. Esta é uma afirmação que continua atual.

A capivara pode albergar e disseminar agentes etiológicos responsáveis por doenças de importância médica humana e veterinária, dentre estas, alguns endoparasitas, como a filaria, fascíola e verminoses, protozoários causadores de tripanossomíase e toxoplasmose, além de bactérias responsáveis por brucelose, leptospirose, febre maculosa brasileira e algumas enterobactérias (NOGUEIRA; CRUZ, 2007).

Por possuírem hábitos semiaquáticos, as capivaras, podem apresentar riscos significativos de contaminação de abastecimento de água por doenças causadoras de zoonoses podendo afetar o ser humano e animais domésticos (MEIRELES et al., 2007).

Tendo em vista a irrefutável e crescente presença da capivara, no contexto de interação humano-animal faz se necessário a detecção de possíveis ameaças à saúde, em especial a salmonelose, doença que pode levar a morte. Pesquisas desta natureza são fundamentais para esclarecer o papel epidemiológico das capivaras, devido seu intenso convívio com homens e animais domésticos propiciando assim, a tomada de decisões quanto a planejamentos de ordem sanitária.

Com vistas ao exposto este trabalho tem como objetivo, verificar o status sanitário de capivaras (*H. hydrochaeris*) de vida livre que mantém convívio aproximado com o ser humano e animais domésticos, com ênfase a portabilidade e disseminação de *Salmonella* spp. utilizando dois diferentes métodos diagnósticos.

2 ARTIGOS

2.1 Artigo 1

Salmonella spp. em capivaras de vida livre e suas implicações na saúde pública.

Itacir olivio Farikoski, Luciana dos Santos Medeiros, Vânia Maria França Ribeiro

Submetido à revista científica Arquivos do Instituto Biológico em maio 2016.
(Revisão de literatura).

***Salmonella* spp. em capivaras de vida livre e suas implicações na saúde pública.**

Salmonella spp. in free life capybaras and its implications on public health.

Resumo:

Doenças zoonóticas são consideradas de grande importância na saúde pública. A *Salmonella* spp., agente etiológico de salmonelose, zoonose transmitida por mamíferos, répteis e aves, é uma enterobactéria que encontra-se disseminada no mundo todo, conhecida por causar grande número de enterites, podendo ser fatal tanto para o homem, como para os animais. Animais silvestres podem ser hospedeiros silenciosos desta bactéria, disseminando e carregando este patógeno sem apresentar qualquer sinal que indique a doença. O constante monitoramento e pesquisas de *Salmonella* spp, em animais selvagens, tornam possível conhecer os riscos do convívio aproximado com estes animais e a partir disso, permite que se possam tomar medidas preventivas para evitar a proliferação desta bactéria. Capivaras são roedores de grande porte e muito prolíferos, e é comum avistar esta espécie em parques urbanos, próximos a residências e de animais domésticos, surgindo assim a necessidade de esclarecer a importância destes animais na cadeia epidemiológica de zoonoses como por exemplo, a salmonelose. São escassos os artigos que tratam deste patógeno em capivaras de cativeiro e inexistentes são os artigos que tratam desta zoonose em capivaras de vida livre o que suscita a necessidade de pesquisas voltadas a este tema.

Palavra-chave: Zoonoses, *Hydrochoerus hydrochaeris*, enterobactérias

Abstract:

Zoonotic diseases are considered of great importance in public health. *Salmonella* spp., the etiological agent of Salmonellosis, a zoonosis transmitted by mammals, reptiles and birds, is an enterobacteria that is spread through out the world known for causing a big number of enteritis and can be fatal to humans and animals. Wild animals can be silent hosts of this bacterium, spreading and carrying this pathogen without showing any signs that could indicate the existence of the disease. Constant monitoring and research of *Salmonella* in wildlife, make it possible to know the risks of close contact with these animals, and from this, make it possible to take measures to prevent the proliferation of this bacterium. Capybaras are large rodents and very prolific, and it is common to find this species in urban parks, near homes and domestic animals, thus resulting in the need to clarify the importance of these animals in the epidemiological chain of zoonoses like, for example, the salmonellosis. There are few articles that talk about this pathogen in captivity capybara and inexistent are the articles that deal with this zoonosis in free life capybaras which raises the need for research with focus on this topic.

Key words: Zoonosis, *Hydrochoerus hydrochaeris*, enterobacteria.

Introdução

A capivara *Hydrochoerus hydrochaeris* também conhecida como capybara, carpincho, chiguirre (EISENBERG; REDFORD, 1999) é o maior roedor vivo do mundo, que pode atingir o peso de 100 quilos (HOSKEN; SILVEIRA, 2002).

É encontrada em grande parte do continente Sul Americano desde a Venezuela até o Uruguai e norte da Argentina. No Brasil, pode ser encontrado em quase todo o território, excluindo somente as bacias áridas (HOSKEN; SILVEIRA, 2002; REIS et al., 2011).

São animais prolíferos, com duas parições por ano e relatos de até oito filhotes por gestação (RIBEIRO; ZAMORA, 2008). Geralmente, habitam áreas próximas a rios e lagoas, onde ficam durante os períodos mais quentes do dia para auxiliar na termorregulação (NOGUEIRA et al., 2004).

Os desmatamentos transformam matas fechadas em grandes áreas de pasto, e a criação de lagos artificiais favorecem o crescimento populacional de capivaras, onde no passado eram pouco abundantes (CAMPOS-KRAUER; WISELY, 2011; CORRIALE et al., 2013).

Neste sentido, a convivência entre esta espécie com animais domésticos e humanos, pode levar a disseminação de potenciais agentes patogênicos uma vez que, de acordo com Chiacchio et al. (2014) estas possuem importante papel na transmissão de agentes etiológicos causadores de zoonoses.

Estudos regionais sobre doenças infecciosas em animais silvestres de regiões tropicais são de fundamental importância, pois permite que se conheçam possíveis doenças que possam infectar animais domésticos e humanos daquela região, e desta forma evitar surtos de doenças (SIEMBIEDA et al., 2011).

Grande parte das doenças infecciosas emergentes é representada por patógenos causadores de zoonoses que representam 60,3% do total de doenças infecciosas emergentes, e do total de zoonoses 71,8% têm origem em animais silvestres (JONES et al., 2008).

Estudos epidemiológicos devem ser realizados constantemente, assim é possível evitar, ou minimizar os impactos, prevenindo a disseminação de agentes com potencial patogênico para o Homem (GONÇALVES et al. 2013)

Roedores silvestres são mais suscetíveis a algumas doenças infecciosas, e seu sistema imune consegue mesmo assim manter uma homeostasia, impedindo que este animal apresente sinais clínicos da doença, assim, tornam-se um risco eminente na transmissão de zoonoses, onde sua presença pode causar um impacto negativo para a saúde humana e animal (JACKSON, 2015).

Surtos de doenças entéricas geralmente estão associados ao uso de fontes de água contaminada por fezes ou resíduos agrícolas, onde mesmo fontes subterrâneas podem manter bactérias contaminantes (PAGAYA, et al., 2015). Irrigação de hortaliças e frutos com águas de lagos contaminadas por *Salmonella* spp. podem apresentar um sério risco a saúde humana, pois poucos destes alimentos são submetidos ao cozimento antes do consumo (LUO et al., 2015).

Artigos sobre doenças de etiologia bacteriana na capivara são escassos, geralmente consistindo de relatos da presença de anticorpos contra este ou aquele microrganismo, o que não esclarece de fato sobre a importância de enfermidades para a espécie, ou mesmo da capivara como fonte de infecção para outras espécies (NOGUEIRA; CRUZ, 2007).

Enterobactérias:

Bactérias gram negativas da família *Enterobacteriaceae*, fazem parte da microbiota intestinal normal de alguns animais e causam problemas a estes, por serem bactérias oportunistas (PUERTA-GARCÍA; MATEOS-RODRÍGUEZ, 2010). Neste grupo, estão as *Salmonella* spp.

***Salmonella* spp. e salmonelose**

Salmonella spp. são caracterizadas por apresentarem motilidade, serem anaeróbios facultativos, terem capacidade de desenvolver-se em temperaturas a partir de oito até 45 °C, podem permanecer viáveis mesmo sob diferentes níveis de pH (4 a 8) e conseguem sobreviver em condições de desidratação, permanecendo viáveis por longos períodos (ACHA; SZYFRES, 2003).

São bactérias oportunistas, que em animais domésticos manifesta-se clinicamente com enterites em animais jovens de idade inferior a quatro meses (RIBEIRO et al., 2010).

Hoje são conhecidos pela literatura mais de 2500 sorovares de *Salmonella* spp, mas, devemos considerar que destas, apenas 90 sorovares são importantes para a saúde humana e animal (PENHA et al., 2008).

Alguns sorotipos de *Salmonella* spp. são adaptados para infectar uma espécie em específico, já outros sorotipos, infectam uma variedade de espécies (FERREIRA; CAMPOS, 2008). Assim sendo, sorovares de *Salmonella* spp. comportam-se de forma diferente em cada organismo, podendo serem muito patogênicos para uma espécie animal, mas colonizar o intestino de outra espécie, sem causar dano algum, vivendo em equilíbrio com o hospedeiro (MUNIZ et al., 2015).

Salmonelose em animais silvestres é um grande risco para a saúde pública, pois estes animais podem disseminar bactérias sem apresentar sinais que indiquem a doença, havendo assim necessidade de constantes monitoramentos para que sejam

conhecidos os riscos, e assim possam ser tomadas medidas preventivas (De LIMA et al., 2012).

Diniz; Costa (1997) relatam que em primatas não humanos esta bactéria só é encontrada em grupos com manifestações clínicas, causando normalmente septicemias fatais.

Na busca de tratamento de salmonelose é comum o uso indiscriminado de antibióticos, podendo gerar cepas multirresistentes, tornando se um risco para a saúde (SILVA et al., 2014; LIMA et al., 2016)

Shinohara et al.(2008) relatam a importância do mapeamento de animais que possam portar esta bactéria bem como descobrir os portadores assintomáticos, para que se possam tomar medidas preventivas visando obter segurança alimentar evitando desta maneira, surtos de salmonelose em seres humanos.

Estudos sobre Salmonelose devem ser realizados de forma continua, para que se possa monitorar o desenvolvimento e prevalência de sorovares potencialmente zoonóticos (HOFER et al., 1997).

Muitas vezes uma única amostragem é insuficiente para detecção deste patógeno, uma vez que a disseminação ocorre de forma sazonal (CARRASCO et al., 2011)

A enterobactéria *Salmonella* é causadora de uma das zoonoses mais problemáticas para a saúde pública em todo o mundo, em razão da elevada endemicidade, alta morbidade e acima de tudo, pela dificuldade no controle (HOFER; REIS, 1994).

Aves migratórias podem ser o elo na disseminação de diferentes sorotipos de *Salmonella* entre os continentes (GOMES et al., 2015).

***Salmonella* spp. em capivaras e implicações na saúde pública**

Em se tratando de *Salmonella* spp. em capivaras, os poucos relatos encontrados dizem respeito aos achados desta enterobactéria em animais de cativeiro no estado de São Paulo – Brasil.

O primeiro relato foi feito por Bandarra et al. (1995) onde o animal após 45 dias de captura e condição de intenso estresse em cativeiro, apresentou um quadro septicêmico, levando este a morte. O segundo relato, foi feito por Nogueira (1998) em animais assintomáticos cuja contaminação dos animais segundo a autora sugere, pode ter sido via tratadores.

Marques et al. (2013) observaram em propriedades que tinham altos índices de mortalidades de bezerros por surtos de salmonelose, que estes tinham contato com capivaras, o que fez os autores suspeitarem serem estas um possível reservatório de *Salmonella* spp. Cabe ressaltar que nenhuma investigação foi feita para confirmar esta hipótese.

Outras tentativas de isolamento de *Salmonella* spp. em capivaras foram efetuadas (CHIACCHIO et al., 2014) sem obtenção de sucesso, o que não significa a ausência deste agente patógeno na espécie em estudo. Devem ser considerados os métodos de diagnósticos que foram utilizados uma vez que, de acordo com Burnham et al. (1998), mesmo os animais apresentando resultados negativos para *Salmonella* spp., o pesquisador deve ter o cuidado de repetir as amostragens pelo menos três vezes com intervalo de uma semana, pois animais portadores podem eliminá-las intermitentemente.

Apesar de existirem sorovares de *Salmonella* spp. adaptados e causarem maior patogenicidade em humanos, todos os sorovares de *Salmonella* devem ser considerados potencialmente zoonóticos, havendo assim a necessidade de cuidados e

monitoramento de *Salmonella* spp., principalmente em países sub desenvolvidos onde esta zoonose apresenta maior impacto (ACHA; SZYFRES, 2003)

Contaminações de alimentos por bactérias além da importância para a saúde pública geram um grande problema para a economia de um país, uma vez que, quando as carnes exportadas não estão de acordo com as normas de segurança alimentar, estas recebem uma notificação e são rejeitadas. Entre os anos de 2008 a 2013 o Brasil recebeu 119 notificações da União Européia de carne contaminada. O maior número de rejeições deve-se a contaminação por *Salmonella* que foi de 56,8% (JANSEN et al., 2015).

Considerações finais

Tendo em vista a irrefutável e crescente presença da capivara no contexto de interação humano – animal e seus hábitos semiaquáticos que as levam a serem potenciais disseminadoras de zoonoses por via hídrica, faz-se necessário esclarecer o papel epidemiológico de capivaras de vida livre na disseminação de Salmonellas, propiciando assim, a tomada de decisões quanto a planejamentos de ordem sanitária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ACHA, Pedro N.; SZYFRES, Boris. **Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals: Parasitic Zoonoses**. Pan American Health Org, 2003.

BANDARRA, Ênio Pedone, et al. Septicemia por *Salmonella* sp. em capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 16, n. 1, p. 153-155, 1995.

BURNHAM, Bryan R. et al. Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* organisms among captive green iguanas and potential public health implications. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 1, p. 48-50, 1998.

CAMPOS-KRAUER, JUAN M.; WISELY, Samantha M. Deforestation and cattle ranching drive rapid range expansion of capybara in the Gran Chaco ecosystem. **Global Change Biology**, v. 17, n. 1, p. 206-218, 2011.

CARRASCO, Adriano de Oliveira Torres et al. Levantamento Sorológico de Mycoplasma spp, Salmonella sp e Doença de Newcastle em Pombos Domésticos (Columba livia) de Vida Livre. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde= Journal of Health Sciences**, v. 13, n. 1, 2011.

CHIACCHIO, Rosely Gioia-Di et al. Health evaluation and survey of zoonotic pathogens in free-ranging capybaras (Hydrochoerus hydrochaeris). **Journal of wildlife diseases**, v. 50, n. 3, p. 496-504, 2014.

CORRIALE, María J.; OROZCO, María M.; JIMÉNEZ PEREZ, Ignacio. Parámetros poblacionales y estado sanitario de carpinchos (Hydrochoerus hydrochaeris) en lagunas artificiales de los Esteros del Iberá. **Mastozoología neotropical**, v. 20, n. 1, p. 31-45, 2013.

DE LIMA, Débora Costa Viegas; SIQUEIRA, Daniel Barreto; APARECIDO, Rinaldo. Microbiologia de swabs retais e otológicos em carnívoros silvestres do zoológico do Parque Estadual de Dois Irmãos, Pernambuco1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 159-164, 2012.

DINIZ, Lilian de Stefani Munaó; COSTA, Elizabet Oliveira. **Primatas em cativeiro: manejo e problemas veterinários: enfoque para espécies neotropicais: enfoque para espécies neotropicais**. Ícone, p. 119, 1997.

EISENBERG, John F.; REDFORD, Kent H. **Mammals of the Neotropics, Volume 3: Ecuador, Bolivia and Brazil**. University of Chicago Press, 1999. pp 460-461 P 60

- FERREIRA, Eliane de Oliveira; CAMPOS, Leila Carvalho. *Salmonella* In: TRABULSI, Luiz. Rachid; ALBERTUM, Flavio. **Microbiologia** 5°. ed. São Paulo: Atheneu, 760 p.329-338. 2008.
- GONÇALVES, Guilherme A. Marietto et al. Avaliação sorológica de Parainfluenzavirus Tipo 1, Salmonella spp., Mycoplasma spp. e Toxoplasma gondii em aves silvestres. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 473-480, 2013.
- GOMES, Sâmara et al. Isolamento de Salmonella enterica subsp. diarizonae em Calidris fuscicollis (Aves: Scolopacidade) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Ornithologia**, v. 8, n. 1, p. 43-45, 2015.
- HOSKEN, Fabio Morais.; SILVEIRA, Ana Cristina. **Criação de capivaras**. Coleção Animais Silvestres, v. 3, Viçosa-MG: Aprenda Fácil, 298 p. 2002.
- HOFER, Ernesto; REIS, Eliane Moura Falavina dos. Salmonella serovars in food poisoning episodes recorded in Brazil from 1982 to 1991. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 36, n. 1, p. 7-9, 1994.
- HOFER, Ernesto et al. Prevalência de sorovares de Salmonella isolados de aves no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 55-62, 1997.
- JACKSON, Joseph A. Immunology in wild nonmodel rodents: an ecological context for studies of health and disease. **Parasite immunology**, v. 37, n. 5, p. 220-232, 2015.
- JANSEN, W. et al. Food Safety Hazards and Microbiological Zoonoses in European Meat Imports Detected in Border Inspection in the Period 2008–2013. **Zoonoses and Public Health**, 2015
- JONES, Kate E. et al. Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 990-993, 2008.

- LIMA, A. L. et al. Sorovares e perfil de suscetibilidade a antimicrobianos em *Salmonella* spp. isoladas de produtos de origem suína. **Arquivo brasileiro medicina veterinária zootecnia**, v. 68, n. 1, p. 39-47, 2016.
- LUO, Zhiyao et al. Distribution and characterization of *Salmonella enterica* isolates from irrigation ponds in the southeastern United States. **Applied and environmental microbiology**, v. 81, n. 13, p. 4376-4387, 2015.
- MARQUES, Ana LA et al. Surto de salmonelose pelo sorovar Dublin em bezerros no Maranhão. **Pesq. Vet. Bras**, v. 33, n. 8, p. 983-988, 2013.
- MUNIZ, Eduardo C. et al. Avaliação da resposta imunológica da mucosa intestinal de frangos de corte desafiados com diferentes sorovares de *Salmonella*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 241-248, 2015.
- NOGUEIRA, Marcia Furlan. **Avaliação da presença de Enterobacteriaceae, Aeromonas, Campylobacter e Cryptosporidium em fezes de capivara, Hydrochoerus hydrochaeris hydrochaeris (L. 1766), e determinação do perfil de susceptibilidade bacteriana frente a diferentes drogas.** 1998. 132p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu 1998.
- NOGUEIRA, S.S.C; BERNARDI, L. G; NOGUEIRA FILHO, S. L.C. A note on comparative enclosure facility usage by wild and captive-born capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) **Applied Animal Behaviour Science**. v. 89 p.139–143, 2004.
- NOGUEIRA, Marcia Furlan; DA CRUZ, Tais Fukuta. **Doenças da Capivara.** Dados eletrônicos. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2007.

PAGAYA, Joseph et al. Detection of flaA Virulence Genes Campylobacter jejuni, Isolated from Human Faeces and Groundwater Using PCR Method. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci**, v. 4, n. 6, p. 379-387, 2015.

PENHA, Guilherme de Almeida et al. Diagnóstico da salmonelose e sua importância para a avicultura: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 4, n. 10, 2008.

PUERTA-GARCÍA, A.; MATEOS-RODRÍGUEZ, F. Enterobacterias. **Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v. 10, n. 51, p. 3426-3431, 2010.

REIS, Nélio Roberto et al. **Mamíferos do Brasil**. 2.ed. Universidade Estadual de Londrina, 439p. 359-389pp 2011.

RIBEIRO, Vânia Maria França; ZAMORA, Laíz Macedo. **Pacas e capivaras: criação em cativeiro com ambientação natural**. Universidade Federal do Acre, p. 13, 2008.

RIBEIRO, Márcio G. et al. Caracterização de sorotipos em linhagens do gênero Salmonella isoladas de diferentes afecções em animais domésticos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 155-160, 2010.

SIEMBIEDA, Jennifer L. et al. The role of wildlife in transboundary animal diseases. **Animal Health Research Reviews**, v. 12, n. 1, p. 95, 2011.

SILVA, Carolina Janelli; TEJADA, Talita Schneid; TIMM, Cláudio Dias. Resistência de Salmonella isoladas de humanos e de frangos a antimicrobianos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 4, p. 120-131, 2014.

SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa et al. Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência saúde coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

2.2 Artigo 2

Primeiro isolamento de *Salmonella* spp em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de vida livre.

Itacir Olivio Farikoski, Luciana dos Santos Medeiros, Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo, Dandara Virginia Guia Semedo Fernandes, Vânia Maria França Ribeiro.

Artigo a ser submetido a revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Primeiro isolamento de *Salmonella* spp em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de vida livre.

First isolation of *Salmonella* spp in wild capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*).

Itacir Olivio Farikoski^{1*}, Luciana dos Santos Medeiros², Eduardo Eustáquio de Souza Figueiredo³, Dandara Virginia Guia Semedo Fernandes⁴, Vânia Maria França Ribeiro⁵

1 - Mestrando PPG Ciência Animal MESPA/UFAC. Itacir.farikoski@gmail.com

2- Professora Doutora da Universidade Federal do Acre

3- Professor Doutor da Universidade Federal do Mato Grosso

4 - Mestranda PPG Ciência Animal, FAMEVZ/UFMT.

5- Professora Doutora da Universidade Federal do Acre

RESUMO

Muitas doenças infecciosas são zoonoses, e animais silvestres, frequentemente são reservatórios desconhecidos. A Capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) é o maior roedor do mundo, possuindo importante papel epidemiológico na transmissão de patógenos zoonóticos devido sua aproximação com o homem e animais domésticos. No estado do Acre, as populações de capivaras têm aumentado significativamente. Neste sentido, a convivência próxima desta espécie com animais domésticos e humanos pode levar a disseminação de potenciais agentes patogênicos, dentre estes as bactérias do gênero *Salmonella* spp. Este trabalho teve por objetivo de verificar o status sanitário de capivaras de vida livre, com ênfase para bactérias do gênero *Salmonella* spp. Foram capturadas 54 capivaras, que habitam áreas urbanas e rurais. A captura ocorreu em quatro cevas, duas em áreas urbanas e duas em áreas rurais. Os animais eram contidos nas cevas para a primeira coleta de fezes para pesquisa de *Salmonella* spp., em seguida, os animais eram transportados para um recinto apropriado, onde foram efetuadas mais duas repetições de amostragem. As amostras foram posteriormente levadas até laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal do Acre, onde foram efetuados os cultivos bacteriológicos. Oito amostras obtiveram perfil bioquímico sugestivo para o gênero bacteriano *Salmonella* spp. As amostras referentes a primeira captura foram enviadas para o laboratório de genética da Universidade Federal do Mato Grosso para detecção de *Salmonella* spp. por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) identificando o gene hilA. Cinco amostras foram confirmadas como *Salmonella* spp. pela PCR. Todas as amostras foram coletadas em animais de vida livre e sem sinais clínicos aparentes de salmonelose,

indicando o potencial da capivara como reservatório, no que concerne este agente etiológico, colocando em risco, humanos e outros animais neste ecossistema.

Palavra-chave: zoonose, capivara, *Salmonella* spp.

ABSTRACT

Many infectious diseases are zoonoses, and wild animals are often unknown reservoirs. The Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) is the largest rodent in the world with important epidemiological role in the transmission of zoonotic pathogens because their approach to man and domestic animals. In the state of Acre, populations of capybaras have increased significantly. In this sense, the close contact of this type of animal with domestic animals and humans can lead to spreading of potential pathogens, including bacteria of the genus *Salmonella*. This study aimed to verify the health status of free life capybaras, with emphasis on bacteria of the genus *Salmonella*. 54 capybaras, inhabiting urban and rural areas were captured. The arrest occurred in four traps two in urban areas and two in rural areas. The animals were contained to the first collection of feces for detection of *Salmonella* spp., and then, the animals were transported to a suitable enclosure, which were performed two more repetitions of sampling. The samples were then taken to the laboratory of Bacteriology Veterinary of Acre Federal University, where the bacteriological cultures were made. Eight samples obtained suggestive biochemical profile for bacterial genus *Salmonella*. The samples concerning the first capture were sent to the Genetics Laboratory of Mato Grosso the Federal University for the detection of *Salmonella* spp. by polymerase chain reaction (PCR) identifying the *hlyA* gene. Five samples were confirmed as *Salmonella* spp. by the PCR. All samples were collected in wild animals with no apparent symptoms of salmonellosis, indicating the potential of the capybara as a reservoir, regarding this etiologic agent, putting at risk humans and other animals in this ecosystem.

Keyword: zoonosis, Enterobacteriaceae, Salmonellosis

INTRODUÇÃO

Dentro da família *Caviidae* e subfamília *Hydrochoerinae* estão descritas as capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), o maior roedor vivo do mundo, que pode chegar a atingir o peso de 100 quilos, com distribuição geográfica em grande parte do continente Sul Americano, sendo que no Brasil, esta espécie pode ser encontrada em quase todo o território, excluindo somente as bacias mais áridas (Hosken e Silveira, 2002; Reis et al., 2011). A convivência entre esta espécie com animais domésticos e humanos, pode levar a disseminação de potenciais agentes patogênicos uma vez que, de acordo com Chiacchio et al. (2014) estas possuem importante papel na transmissão de agentes etiológicos causadores de zoonoses.

Estudos regionais sobre doenças infecciosas, em animais silvestres de regiões tropicais são de fundamental importância, pois permitem que se conheçam possíveis doenças que possam infectar animais domésticos e humanos daquela região, e desta forma evitar surtos de doenças (Siembieda et al., 2011). Artigos sobre doenças de etiologia bacteriana na capivara são escassos, geralmente consistindo de relatos da presença de anticorpos, o que não esclarece de fato a importância de enfermidades para a espécie, ou mesmo da capivara como fonte de infecção para outras espécies (Nogueira e Cruz, 2007).

A enterobactéria *Salmonella* é causadora de uma das zoonoses mais problemáticas para a saúde pública em todo o mundo, em razão da elevada endemicidade, alta morbidade e acima de tudo, pela dificuldade no controle (Hofer e Reis, 1994). Adicionalmente em se tratando de *Salmonella* spp. em capivaras, a literatura registra apenas dois relatos em animais de cativeiro no Brasil. O primeiro feito por Bandarra et al. (1995) em achados de necropsia de uma fêmea que morreu após condição de intenso estresse e o segundo, feito por Nogueira (1998).

Tentativas de isolamento de *Salmonella* spp. em capivaras de vida livre não obtiveram sucesso (Chiacchio et al., 2014), o que não significa a ausência deste agente patógeno nos animais em estudo. Neste sentido, este trabalho teve por objetivo pesquisar a presença de *Salmonella* spp. em capivaras de vida livre em zona urbana e rural, de maneira a contribuir com o esclarecimento do papel epidemiológico deste roedor como reservatório de *Salmonella* spp.

MATERIAIS E MÉTODOS

Entre os meses de Junho de 2014 à novembro de 2015, foram capturados e analisados amostras de fezes de 54 animais provenientes de duas áreas urbanas e duas áreas rurais.

Nas áreas urbanas foram capturados 26 animais: 16 no campus da Universidade Federal do Acre - UFAC (S 09°57'33,0" W 067°52'23,3") e 10 na Chácara Ipê (S 09°57'51,4" W 067°52'14,9"), condomínio fechado onde habitam cerca de 100 famílias.

Nas áreas rurais foram capturados 28 animais: 16 na Fazenda São Raimundo (S 09°56'49,7" W 067°44'09,4") localizada a margem esquerda do rio Acre e 12 na Fazenda Piracema localizada na rodovia AC 90 km 12 (S 10°00'39,7" W 067°56'14,9").

Após a captura todos os animais foram identificados com microchip e transportados para Fazenda Experimental Catuaba onde está localizado o criatório de animais silvestres Caboclinho da Mata, situado no município de Senador Guiomard Santos, Acre (10°03'42,6" W 067°36'07,3"). Neste local, os animais foram contidos novamente para repetições das coletas. Após conclusão do projeto os animais foram redirecionados aos sítios de captura inicial.

Para a captura e coleta de material biológico, os animais eram atraídos por meio de cevas efetuadas com sal mineral e alimentos palatáveis para a espécie, a cercados feitos de tela de alambrado e estacas de madeiras (com 9x12m² de medidas), fechados com portas tipo guilhotina. Depois de aprisionados, foram capturados e anestesiados conforme protocolo aprovado pelo CEUA CEUA/UFAC N° 23107.016723/2014-41.

A captura e coleta de amostras de animais da fauna silvestre brasileira foram autorizadas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBIO através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO N° 44791-1.

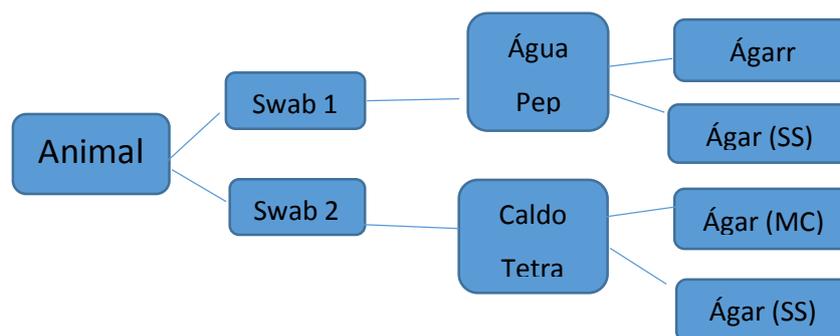
Feita a contenção, o animal recebia um transponder (microchip) subcutâneo para identificação. As coletas de amostras de fezes foram feitas, utilizando-se dois swabs estéreis por animal. Os swabs foram introduzidos via retal e rotacionados de maneira a cobrir toda superfície do swab com fezes do animal. Após a coleta, os materiais foram identificados e acondicionados em recipientes isotérmicos à temperatura de 4°C, e transportado até laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal do Acre, para serem processadas em período inferior a 12 horas.

Posteriormente, foram efetuadas mais duas repetições de coletas de fezes com intervalo de seis dias.

Para a pesquisa e identificação de *Salmonella* spp., as amostras de fezes de cada animal trazidas nos swabs, foram semeadas em água peptonada tamponada estéril e em caldo tetrionato (TT), subsequentemente mantidas em estufa à 37°C por 24 horas. Das 324 amostras analisadas (referentes às três repetições), 162 foram semeadas em caldo de pré enriquecimento tetrionato e 162 em caldo de pré enriquecimento água peptonada.

Após a primeira incubação de 24 horas todas as amostras foram semeadas em Ágar MacConkey (MC) e em Ágar *Salmonella-Shigella* (SS) conforme figura abaixo (Fig.1) e incubadas em aerobiose a 37°C com leituras em 24 e 48 horas.

Figura 1. Fluxograma de cultivo para *Salmonella* spp. a partir de swabs retais de capivaras.



Após a incubação de 24 - 48 horas, as colônias morfologicamente sugestivas de *Salmonella* spp. eram repicadas para uma placa de ágar sangue e incubadas à 37°C por 24 horas. Após o crescimento em ágar sangue as colônias sugestivas foram submetidas à análises bioquímicas. Foram avaliados os parâmetros: motilidade bacteriana, produção de lisina descarboxilase, fermentação da glicose em profundidade e da sacarose na superfície do meio, produção de gás sulfídrico (H₂S), produção de gás, utilização do aminoácido L-triptofano (desaminação), hidrólise da ureia e a formação de indol (Quinn et al., 1994; Konemam et al. 2001). Ágar TSI- Triple Sugar Iron foi utilizado para verificar a fermentação da glicose, lactose e sacarose. Colônias compatíveis à *Salmonella*, de acordo com perfil bioquímico, foram submetidas à sorotipagem (Sorokit para *Salmonella* - Probac do Brasil) com utilização de soros somáticos e flagelares para identificar os sorogrupos mais frequentes e os sorotipos de maior significado clínico de acordo com especificações do fabricante.

Para complementação diagnóstica, foi efetuada a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) onde, alíquotas de 1 ml do caldo TT e do meio de conservação (Thompson, 1987; Malik, 1988) das colônias isoladas, foram submetidas a extração e purificação de DNA com *DNeasy® merican Food Kit* (Qiagen®). A quantificação do DNA foi efetuada por fluorometria com Qubit 2.0 (Invitrogen®). Os ensaios de PCR foram realizados em duplicata para amplificação do gene *hlyA* com primers *hlyA* 2-F (5'-CTGCCGCGAGTGTTAAGGATA-3') e *hlyA* 2-R (5'-CTGTCGCCTTAATCGCATGT-3'), com uma desnaturação inicial a 94°C por 5 min, seguido por 30 ciclos de 94°C a 1 min, 58°C a 1 min, 72°C a 1 min e extensão final de 72°C por 10 min. utilizando uma mistura da reação 5 µL de tampão (Invitrogen®), 0,2 mM dNTP (Fermentas®), 1,5 U de Taq polimerase recombinante (Platinum® Taq – Invitrogen®), 5 mM MgCl₂ (Invitrogen®) e 25 pMol de cada *primer* (Invitrogen®) com um volume final de 25 µL. Os produtos da PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose ultrapura a 1,5% e corado com GelRed™, para visualização do fragmento de 497 pares de base (pb) confirmatório de *Salmonella* spp. O teste de qui-quadrado foi utilizado para comparar os métodos diagnósticos. Diferenças estatísticas foram consideradas significativas quando p<0,05.

RESULTADOS

Após captura e contenção dos animais foram coletadas 324 amostras de fezes para pesquisa de *Salmonella* spp., obtidas de 54 capivaras de vida livre em zona urbana e rural em três momentos de coleta. Nestas amostras, o isolamento bacteriano seguido de tipificação bioquímica detectou oito colônias sugestivas para *Salmonella* spp. Ao teste de soro aglutinação em lâmina com as colônias suspeitas, observou-se, que houve aglutinação nos soros pertencentes aos grupos A e E em todas amostras, entretanto não foi observado aglutinação quando submetidas aos respectivos soros flagelares.

As colônias suspeitas isoladas foram provenientes tanto do caldo tetracionato quanto da água peptonada. Sendo quatro isolados (50%) provenientes de cultivos que passaram por meio enriquecido de caldo tetracionato e quatro (50%) de água peptonada. Quatro colônias sugestivas para *Salmonella* spp. foram obtidas na primeira coleta, duas na segunda e duas na terceira coleta (Tabela 1). Todas as colônias foram isoladas de animais distintos. Das oito amostras detectadas como positivas para *Salmonella* spp. em técnica de cultivo convencional, cinco foram de animais provenientes de zona urbana e três de zona Rural (Tabela 2).

Tabela 1 - Detecção de *Salmonella* spp em fezes de capivaras de vida livre no Município de Rio Branco - Acre. Resultados comparativos entre isolamento bacteriológico convencional e a PCR após pré cultivo em caldo tetracionato e água peptonada.

	1ºAmostragem Convencional	1ºRepetição Convencional	2º Repetição Convencional	1ºAmostragem PCR
Positivos	04	02	02	05
Negativos	104	106	106	49
Total	108	108	108	54

A PCR identificou cinco amostras positivas (Tabela 1), sendo uma proveniente de animal de zona urbana (20%) e quatro de zona rural (80%) (Tabela 2). As amostras identificadas como positivas na PCR foram oriundas de animais considerados negativos na cultura bacteriana.

Tabela 2- Detecção de *Salmonella* spp em fezes de capivaras de vida livre no Município de Rio Branco - Acre. Resultados comparativos entre capivaras da zona urbana e zona rural.

	Zona Urbana	Zona Rural	Total
Cultivo bacteriano convencional	5 (62,5%)	3 (37,5%)	8
PCR	1 (20%)	4 (80%)	5
Total	6	7	13

DISCUSSÃO

As capivaras representam um importante elo entre animais silvestres, urbanos e de produção em zonas rurais e urbanas. Adicionalmente, o estreito contato com ambientes urbanos pode levar a transmissão de potenciais patógenos zoonóticos, bem como servirem de reservatórios de doenças infecciosas para humanos.

Neste trabalho, pretendeu-se confirmar o papel da capivara como reservatório de *Salmonella* spp. e os resultados encontrados empregando cultivo bacteriano e PCR demonstram uma porcentagem alta de animais portadores de *Salmonella* spp. uma vez que, 13 dos 54 animais analisados (24,07%) apresentaram resultados positivos.

Nogueira (1998), que pesquisou enterobactérias em capivaras, encontrou 4,92% de animais portadores de *Salmonella* spp. (três animais de um total de 61 pesquisados). Esta autora identificou uma cepa de *Salmonella belem* e duas de *Salmonella paratyphi* B. Porém, a mesma trabalhou somente com a técnica convencional de isolamento por cultivo bacteriano e sorologia, em animais de criação semi extensiva, levantando suspeita que estes animais possam ter sido contaminados por tratadores ou visitantes, devido a especificidade do sorovar *Paratyphi*.

Neste trabalho, a não aglutinação das amostras obtidas de capivaras de vida livre quando expostas aos soros flagelares, indicam que provavelmente estas são cepas de menor potencial patogênico para o homem. Entretanto, de acordo com Acha e Szyfres (2003), excluindo os sorotipos *S. typhi*, *S. paratyphi* A e *Sparathyphi* C, que são exclusivos de seres humanos, todos os sorotipos de *Salmonella* são considerados potencialmente zoonóticos.

As repetições das amostras foram importantes para aumentar a possibilidade de isolamento bacteriano, pois, duas repetições permitiram identificar 50% dos animais portadores de *Salmonella* spp., não identificados na primeira amostragem. O que confirma o relatado por Burnham et al (1998), sobre a importância de repetições de coletas amostrais no mesmo animal, comprovando que, o intervalo de tempo torna a pesquisa mais eficiente, pois animais portadores de *Salmonella* spp. podem eliminar bactérias de forma intermitente. Este procedimento é ainda mais importante, quando se pretende identificar novas espécies ou cepas bacterianas, com a finalidade de trabalhar com estudos de epidemiologia molecular e possível rastreamento de surtos.

Os resultados similares obtidos no cultivo de pré-enriquecimento com água peptonada tamponada e caldo tetracionato demonstraram serem ambos eficientes e complementares para o diagnóstico de *Salmonella* spp.

As oito colônias isoladas em meio de cultivo que apresentaram perfil bioquímico compatível com *Salmonella* spp. foram armazenadas em técnicas de criopreservação para após, serem testadas em análise confirmatória utilizando a técnica de PCR. Destas somente uma foi confirmada. Muitos são os fatores que

limitam a eficiência da técnica da PCR para detecção de bactérias. Amostras biológicas podem vir acompanhadas de artefatos que possuem inibidores, reduzindo a eficácia da técnica, dentre os artefatos podemos citar o sangue, sais biliares encontrados nas fezes e algumas proteínas do leite (Al-Soud e Rådström, 1998). Assim, a técnica de criopreservação utilizando ágar leite e glicerol, não foi a mais adequada para preservação de colônias para posterior análise em PCR neste estudo.

A PCR demonstrou melhor resultado na detecção de *Salmonella* spp. a partir de caldos de enriquecimento, quando comparado a cultura bacteriológica ($P < 0.05$). As duas técnicas aliadas a repetição de amostras tornam mais eficazes o diagnóstico de *Salmonella* spp. principalmente em animais assintomáticos como no caso das capivaras em estudo. Miller et al. (2008) observaram em rinocerontes assintomáticos a intermitência da eliminação de *Salmonella* spp. Este fato foi ainda mais evidente neste estudo pois as tanto o isolamento quanto a PCR foram capazes de identificar a presença de *Salmonella* spp. em amostras distintas, aumentando a sensibilidade conjunta do diagnóstico no grupo de animais estudados.

Neste estudo, amostras de um mesmo animal que se apresentaram positivas em cultivo convencional não foram identificadas como positivas em PCR e vice-versa, o que pode indicar perfis bacterianos diferenciados pela variabilidade. Cohen et al. (1996) em análises realizadas em cavalos observaram que, amostras positivas em PCR foram negativas em cultura, porém a maioria das culturas positivas apresentaram positividade também em PCR. Apesar de técnicas tradicionais de cultura de identificação bacteriana serem utilizadas como oficiais para análises, é fundamental a complementação de técnicas moleculares, pois, apresentam uma maior sensibilidade, em menor tempo (Gandra, et al 2008).

Em desacordo com o encontrado neste trabalho, Silva et al. (2010) realizaram de forma experimental um comparativo entre as duas técnicas, e observaram que em bezerros infectados de forma experimental por *Salmonella dublin*, o método tradicional apresentou maior sensibilidade no diagnóstico. Porém, Mir et al. (2015) afirmam que a técnica convencional de identificação pode não ser segura, pois, cepas de diferentes sorogrupos podem comportar se de forma distinta, podendo causar falsos negativos ou outras bactérias podem originar exames falsos positivos.

Foram encontradas diferenças também no padrão de isolamento entre os grupos de animais urbanos e rurais. Foram isoladas mais colônias sugestivas de *Salmonella* spp. de amostras provenientes de animais de áreas Urbanas, enquanto que a PCR foi

capaz de identificar como positivas mais amostras colhidas em Zona Rural. Este fato pode indicar que estes animais podem estar expostos à diferentes cepas, sugerindo uma sensibilidade diferente na identificação de cepas distintas em ambas as técnicas. O ambiente pode influenciar na carga parasitária dos animais diferenciando também as espécies de parasitas que acometem os animais (Valim et al., 2004).

CONCLUSÃO

Este artigo relata o primeiro isolamento de *Salmonella* spp. em capivaras de vida livre confirmados por cultivo bacteriológico e capivaras de vida livre de zona urbana e rural são portadoras assintomáticas de *Salmonellas* spp., podendo albergar e disseminar esta bactéria, sem apresentar qualquer sinal clínico. Apesar dos resultados neste trabalho demonstrarem que os sorovares isolados são de menor potencial patogênico para o homem, todos os sorotipos de *Salmonella* spp. são potencialmente zoonóticos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Acre (FAPAC) pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P N.; SZYFRES, B. *Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals: Parasitic Zoonoses*. Pan American Health Org, 2003.
- AL-SOUD, W. A; RÅDSTRÖM, P. Capacity of nine thermostable DNA polymerases to mediate DNA amplification in the presence of PCR-inhibiting samples. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 10, p. 3748-3753, 1998.
- BANDARRA, Ê.P; SILVA, C. A. LONGONI, E. UIEDA, W. Septicemia por *Salmonella* sp. em capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). *Semina: Ciências Agrárias*, v. 16, n. 1, p. 153-155, 1995.
- BURNHAM, B. R; ATCHLEI, D.H; DEFUSCO, R. P.et al. Prevalence of fecal shedding of *Salmonella* organisms among captive green iguanas and potential public health implications. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 213, n. 1, p. 48-50, 1998.

CAMPOS- KRAUER, J. M; WISELY, S. M. Deforestation and cattle ranching drive rapid range expansion of capybara in the Gran Chaco ecosystem. *Global Change Biology* v. 17, p. 206–218, 2011.

CHIACCHIO, R. G; PRIOSTE, F. E; VANSTREELS, R.E. et al. Health evaluation and survey of zoonotic pathogens in free-ranging capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Journal of wildlife diseases*, v. 50, n. 3, p. 496-504, 2014.

COHEN, N. D; MARTIN, L. J; SIMPSON, R. B. et al. Comparison of polymerase chain reaction and microbiological culture for detection of salmonellae in equine feces and environmental samples. *American journal of veterinary research*, v. 57, n. 6, p. 780-786, 1996.

CORRIALE, M. J; ORZOCO, M. M; PEREZ, I. J. Parámetros poblacionales y estado sanitario de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en lagunas artificiales de los esteros del Iberá. *Mastozoología Neotropical*, v.20, n.1, p. 31-45, 2013.

GANDRA, E. Á. GANDRA, T. K. V; DE MELO, W. S; SILVA GODOI H. Técnicas moleculares aplicadas à microbiologia de alimentos. *Acta Scientiarum. Technology*, v. 30, n. 1, p. 109-118, 2008.

HOSKEN, M. F.; SILVEIRA, A. C. *Criação de capivaras*. Coleção Animais Silvestres, v. 3, Viçosa-MG: Aprenda Fácil, 298 p. 2002.

JACKSON, J. A. Immunology in wild nonmodel rodents: an ecological context for studies of health and disease. *Parasite immunology*, v. 37, n. 5, p. 220-232, 2015.

JANSEN, W; GRABOWSKI, N; GERULAT, B; KLEIN, G. Food Safety Hazards and Microbiological Zoonoses in European Meat Imports Detected in Border Inspection in the Period 2008–2013. *Zoonoses and Public Health*, v. 60 p. 53-61, 2015.

JONES, K. E; PATEL, N. G; LEVY, M. A. et al. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, v. 451, n. 7181, p. 990-993, 2008.

KONEMAN, E. W; ALLEN, S. D; JANDA, W. M. et al. *Diagnóstico microbiológico, texto e atlas colorido*. 5.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1465 p., 2001.

MACKENZIE, R. B. Public health importance of rodents in South America. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 47, n. 2, p. 161, 1972.

MALIK, K. A. A new freeze-drying method for the preservation of nitrogen-fixing and other fragile bacteria. *Journal of microbiological methods*, v. 8, n. 5, p. 259-271, 1988.

MEIRELES, M. V; SOARES, R. M; BONELLO, F; GENNARI, S. M. Natural infection with zoonotic subtype of *Cryptosporidium parvum* in Capybara

(*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Brazil. *Veterinary parasitology*, v. 147, n. 1, p. 166-170, 2007.

MILLER, M; SCHILLE, B; PANCAKE, C. Salmonella Surveillance in a Herd of Asymptomatic Captive Black Rhinoceros (*Diceros bicornis*) Using Fecal Culture and PCR. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 39, n. 1, p. 56-60, 2008.

MIR, I. A; KASHYAP, S. K; MAHERCHANDANI, S. Isolation, serotype diversity and antibiogram of *Salmonella enterica* isolated from different species of poultry in India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 5, n. 7, p. 561-567, 2015.

PAGAYA, J; MASSI, N; LIMMON, G.V; NATSIR, R. Detection of *fla A* Virulence Genes *Campylobacter jejuni*, Isolated from Human Faeces and Groundwater Using PCR Method. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, v. 4, n. 6, p. 379-387, 2015.

PUERTA-GARCÍA, A.; MATEOS-RODRÍGUEZ, F. *Enterobacterias*. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, v. 10, n. 51, p. 3426-3431, 2010.

NOGUEIRA, M. F; CRUZ, T. F. *Doenças da Capivara*. Corumbá, MS, Embrapa Pantanal, ed. 21 p. 74, 2007.

NOGUEIRA, M. F. *Avaliação da presença de Enterobacteriaceae, Aeromonas, Campylobacter e Cryptosporidium em fezes de capivara, Hydrochoerus hydrochaeris hydrochaeris (L. 1766), e determinação do perfil de susceptibilidade bacteriana frente a diferentes drogas*. 1998. 132p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1998.

QUINN, M. E; MARKEY, B. K; LEONARD, F. C. et al. *Clinical Veterinary Microbiology*, London, Wolf Publishing, P.648, 1994.

REIS, Nélio Roberto. et al. **Mamíferos do Brasil**. 2.ed. Universidade Estadual de Londrina, 439p. 359-389pp 2011.

SILVA, D. G; SILVA D. R; SILVA P,R.L. et al. Avaliação da reação em cadeia da polimerase e do isolamento bacteriológico convencional na detecção de *Salmonella* Dublin em amostras de fezes de bezerros infectados experimentalmente. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, p. 752-756, 2010.

SIEMBIEDA, J. L; KOCK, R. A; MCCRACKEN, T.A; NEWMAN, S. H. The role of wildlife in transboundary animal diseases. *Animal Health Research Reviews*, v. 12, n. 1, p. 95, 2011.

THOMPSON, J. P. Cryopreservation of Azotobacteraceae in liquid nitrogen. *MIRCEN journal of applied microbiology and biotechnology*, v. 3, n. 3, p. 323-336, 1987.

VALIM, M. P; AMORIM, M; SERRAFREIRE, N. M. Parasitismo por Acari e Phthiraptera em cobaias [*Cavia Porcellus* (Linnaeus, 1758)] de ambientes rural e urbano nos municípios de Silva Jardim e Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil. *Brasillian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 41, p. 240-246, 2004.

3 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados encontrados neste trabalho colaboraram para o esclarecimento do papel epidemiológico das capivaras de vida livre na disseminação de *Salmonella* spp. em zona urbana e rural, demonstrando que embora assintomáticas as mesmas podem albergar esta enterobactéria e que os sorovares isolados apesar de menor potencial patogênico, não podem ser negligenciados uma vez que, todos os sorotipos de *Salmonella* spp. são potencialmente zoonóticos.

Com relação às técnicas de diagnósticos utilizados, a PCR demonstrou melhor resultado na identificação de *Salmonella* spp., quando comparado ao meio de cultura e, as duas técnicas, aliadas a repetição de amostras, foram eficientes e complementares no diagnóstico desta enterobactéria.

Os resultados desta pesquisa permitiram o pioneirismo do isolamento de *Salmonella* spp. em capivaras de vida livre confirmados por cultivo bacteriológico e PCR, contribuindo assim, com a tomada de decisões quanto a planejamentos de ordem sanitárias pelos órgãos governamentais competentes.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILERA, M. et al. 2008. *Hydrochoerus isthmius*. Disponível em: The IUCN Red List of Threatened Species 2008:e.T136277A4268411. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T136277A4268411.en>. Acesso em **14 Janeiro 2016**.
- CAMPOS-KRAUER, J. M; WISELY, S. M. Deforestation and cattle ranching drive rapid range expansion of capybara in the Gran Chaco ecosystem. **Global Change Biology**, v. 17, p. 206–218, 2011.
- CATÃO-DIAS, J. L. Doenças e seus impactos sobre a biodiversidade. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, p. 32-34, 2003.
- CORRIALE, M. J; ORZOCO, M. M; PEREZ, I. J. Parámetros poblacionales y estado sanitario de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en lagunas artificiales de los esteros del Iberá. **Mastozoología Neotropical**, v. 20, n.1, p. 31-45, 2013.
- HOSKEN, M. F.; SILVEIRA, A. C. Criação de capivaras. **Coleção Animais Silvestres**, v. 3, Viçosa-MG: Aprenda Fácil, p. 298, 2002.
- MACKENZIE, R. B. Public health importance of rodents in South America. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 47, n. 2, p. 161, 1972.
- MARVULO, M. F. Zoonoses. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, p. 1250-1256, 2006.
- MEIRELES, M. V. et al. Natural infection with zoonotic subtype of *Cryptosporidium parvum* in Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 1, p. 166-170, 2007.
- NOGUEIRA, M. F.; CRUZ, T. F. **Doenças da Capivara**. Dados eletrônicos. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2007.
- PAGLIA, A. P. et al. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil 2ª Edição/Annotated Checklist of Brazilian Mammals. **Occasional Papers in Conservation Biology**, v. 6, p.76, 2012.
- REIS, N. R. et al. **Mamíferos do Brasil**. 2.ed. Universidade Estadual de Londrina, p. 439, 2011.
- SILVA, É. F. et al. Soroprevalência da infecção leptospiral em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) abatidas em um frigorífico do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. V. 29, n.2, p.174-176, 2009.