

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Tese

**Deteção de doenças em galinhas de criação colonial na região sul do Brasil,  
em um período de 20 anos (2000 a 2019)**

**Rosimeri Zamboni**

Pelotas, 2020

**Rosimeri Zamboni**

**Detecção de doenças em galinhas de criação colonial na região sul do Brasil,  
em um período de 20 anos (2000 a 2019)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientadora: Eliza Simone Viégas Sallis

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

Z24d Zamboni, Rosimeri

Detecção de doenças em galinhas de criação colonial na região sul do Brasil, em um período de 20 anos (2000 a 2019) / Rosimeri Zamboni ; Eliza Simone Viégas, Sallis, orientadora. — Pelotas, 2020.

78 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Avicultura alternativa. 2. Galinhas coloniais. 3. Salmonelose. 4. Aspergilose aviária. 5. Histomoníase. I. Sallis, Eliza Simone Viégas, orient. II. Título.

CDD : 636.5089

Rosimeri Zamboni

Detecção de doenças em galinhas de criação colonial na região sul do Brasil, em um período de 20 anos (2000 a 2019)

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 28/02/2020

Banca examinadora:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliza Simone Viéguas Sallis (Orientadora)  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margarida Buss Raffi  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal de Santa Maria

Dr<sup>a</sup>. Silvia Regina Leal Ladeira  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidad Nacional de La Plata

Prof. Dr. Gilberto D'Ávila Vargas  
Doutor em Sanidade Animal pela Universidade Federal de Pelotas

## Resumo

ZAMBONI, Rosimeri. **Detecção de doenças em galinhas de criação colonial na região sul do Brasil, em um período de 20 anos (2000 a 2019)**. 2020. 78f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

A avicultura brasileira é classificada em industrial e alternativa, de acordo com o sistema de produção utilizado. A avicultura industrial consiste em um sistema intensivo de produção, enquanto a avicultura alternativa ou colonial é baseada em sistemas de criação semi-intensivos (galinha caipira industrial) ou extensivos (galinha de fundo de quintal). Nas criações alternativas as aves são consideradas mais adaptadas ao modo de criação livre, utilizando pouca ou nenhuma instalação e baixo controle sanitário, tornando esses animais e o ambiente no qual vivem potenciais reservatórios e fontes de infecção para diversos patógenos. Assim, o objetivo desta tese foi determinar as principais doenças que ocorrem em galinhas domésticas criadas em sistemas alternativos no sul do Brasil. Foram, portanto, incluídos quatro trabalhos científicos nesta tese. No primeiro artigo foi realizado um levantamento nos arquivos do Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LRD/FV/UFPel), sendo selecionados os protocolos de necropsia de galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) de criações alternativas, encaminhadas de janeiro de 2000 a dezembro de 2019. Dos 565 materiais correspondentes a cadáveres e órgãos de galinhas domésticas, 229 aves foram oriundas de criações alternativas. Destas, 203/229 (88,64%) casos tinham diagnóstico conclusivo e em 26/229 (11,36%) o diagnóstico foi inconclusivo. Este estudo demonstrou que as doenças infecciosas corresponderam a 88,18% (179/203) dos diagnósticos em galinhas de criação colonial no LRD/FV/UFPel nos últimos 20 anos. As causas bacterianas foram as mais frequentes, com 79 casos (38,92%), seguidas das doenças parasitárias com 59 (29,06%) casos e, doenças virais com 29 (14,29%) diagnósticos. Dentre as doenças bacterianas a salmonelose aviária foi o diagnóstico de maior ocorrência (26/79), com 22/26 casos de tifo aviário (*Salmonella Gallinarum*) e 4/26 de pulorose (*S. Pullorum*). No segundo artigo foi realizada uma pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas de criação colonial nos municípios de Pelotas e Piratini, no estado do Rio Grande do Sul. Foram realizadas análises microbiológicas e moleculares, de amostras de necropsia encaminhadas ao LRD/FV/UFPel e suabes cloacais coletados em criações avícolas alternativas. Das 12 amostras analisadas de necropsia e dos 136 pools coletados de galinhas coloniais, foram confirmadas pela técnica de PCR, 12 amostras positivas para *Salmonella* spp., sendo 11 confirmadas dos isolados de órgãos e uma dos suabes cloacais. Na análise microbiológica dessas amostras, 10 corresponderam a *S. Gallinarum* e duas a *S. Pullorum*. No terceiro artigo descreveu-se um surto de aspergilose em aves de criação colonial na região sul do Rio Grande

do Sul, destacando os aspectos epidemiológicos e patológicos dessa patologia. E por fim, no quarto artigo relatou-se a ocorrência de dois surtos de histomoníase como causa de morte em aves oriundas de criações coloniais dos municípios de Pelotas e Santa Vitória do Palmar, no estado do Rio Grande do Sul. Dentre todas as patologias discutidas nesta tese o sistema de criação alternativo e o manejo sanitário inadequado, tanto das aves quanto do ambiente, foram considerados os principais fatores relacionados à ocorrência dessas enfermidades.

**Palavras-chave:** avicultura alternativa; galinhas coloniais; salmonelose; aspergilose aviária; histomoníase

## Abstract

ZAMBONI, Rosimeri. **Detection of diseases in colonial hens in southern Brazil, over a period of 20 years (2000 to 2019)**. 2020. 78f. Thesis (Doctor degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Brazilian aviculture is classified as industrial and alternative, according to the production system used. Industrial aviculture consists of an intensive production system, while alternative or colonial poultry farming is based on semi-intensive (industrial free-range chicken) or extensive (backyard chicken) systems. In alternative breeding, poultry are considered more adapted to the free-breeding mode, using little or no installation and low sanitary control, making these animals and the environment in which potential reservoirs and sources of infection live for various pathogens. Thus, the objective of this thesis was to determine the main diseases that occur in poultry reared in alternative systems in southern Brazil. Therefore, four scientific papers were included in this thesis. In the first article, a survey was carried out in the archives of the Laboratório Regional de Diagnóstico of the Faculdade de Veterinária of the Universidade Federal de Pelotas (LRD/FV/UFPel), and the necropsy protocols of domestic chickens (*Gallus gallus domesticus*) of alternative creations were selected, forwarded from January 2000 to December 2019. Of the 565 materials corresponding to body and organs of domestic chickens, 229 birds came from alternative breeding. Of these, 203/229 (88.64%) cases had a conclusive diagnosis and in 26/229 (11.36%) the diagnosis was inconclusive. This study demonstrated that infectious diseases accounted for 88, 18% (179/203) of diagnoses in colonial hens in LRD/FV/UFPel in the last 20 years. Bacterial causes were the most frequent, with 79 cases (38.92%), followed parasitic diseases with 59 (29.06%) cases, and viral diseases with 29 (14.29%) diagnoses. Among the bacterial diseases, salmonellosis was the most common diagnosis (26/79), with 22/26 cases of fowl typhoid (*Salmonella Gallinarum*) and 4/26 cases of pullorum disease (*S. Pullorum*). In the second article, a survey of *Salmonella* spp. in colonial hens in the municipalities of Pelotas and Piratini, in the state of Rio Grande do Sul. For this study, microbiological and molecular analyzes were performed, of necropsy samples sent to LRD/FV/UFPel and of swabs collected in alternative poultry farms. Of the 12 analyzed necropsy samples and 136 pools collected from colonial hens, 12 positive samples for *Salmonella* spp. were confirmed by the PCR, 11 of which were confirmed from organ isolates and one from cloacal swabs. In the microbiological analysis of these samples, 10 corresponded to *S. Gallinarum* and two to *S. Pullorum*. In the third article an outbreak of aspergillosis in birds of colonial breeding in the southern region of Rio Grande do Sul was described, highlighting the epidemiological and pathological aspects. Finally, in the fourth article, two outbreaks of histomoniasis were reported as a cause of death in birds from colonial farms in the municipalities of

Pelotas and Santa Vitória do Palmar, in the state of Rio Grande do Sul. Among all the pathologies discussed in this thesis, the alternative breeding system and inadequate sanitary management, both for poultry and the environment, were considered the main factors related to the occurrence of these diseases.

**Keywords:** alternative aviculture; backyard chickens; salmonellosis; avian aspergillosis; histomoniasis



## Lista de Figuras

### Artigo 1

- Figura 1 (A) Lesão hepática de tifo aviário em galinha doméstica. Fígado aumentado de tamanho, com áreas brancacentas multifocais (setas) na superfície capsular hepática. (B) Lesão hepática de pulorose em galinha doméstica. Fígado discretamente aumentado de tamanho, com áreas brancacentas multifocais (seta) na superfície capsular hepática. (C) Lesão hepática de histomoníase em galinha doméstica. Fígado marcadamente aumentado de tamanho, exibindo nódulos branco-amarelados, multifocais a coalescentes com área central deprimida, circundados por halo pálido. (D) Lesão hepática de leucose aviária em galinha doméstica. Nódulos brancacentos, multifocais, estendendo-se da cápsula ao parênquima hepático..... 28
- Figura 2 (A) Lesão em sacos aéreos por colibacilose em galinha doméstica. Sacos aéreos anteriores preenchidos por material amarelado de aspecto caseoso (asteriscos). (B) Lesão pulmonar de aspergilose aviária em pintainha. Pulmões apresentando lesões nodulares multifocais a coalescentes, branco-amareladas e firmes (seta)..... 29

### Artigo 3

- Figura 1 Chicks. Isa Brown, 6-day-old. 1A. Celomatic cavity: In situ observation of celomatic cavity's organs from 11 necropsied birds. In the pulmonary pleura there were numerous nodules, multifocal to coalescent, yellowish-white (arrow). No involvement of air sacs or injuries to other organs was observed. 1B and 1C. Lungs: Multifocal nodular to coalescent lesions, yellowish-white, firm to the cut, compromising pleura and pulmonary parenchyma.. 49
- Figura 2 Chicks. Isa Brown, 6-day-old. 2A. Lung: Numerous granulomas with multifocal to coalescent distribution throughout the lung parenchyma. HE, obj. 4X. 2B. Lung: Granuloma characteristic of aspergillosis, exhibiting central necrosis. HE, obj. 10X. 2C. Pulmonary granuloma: Intralesional septate hyphae, similar to the letter "Y" (arrows), morphologically compatible with *Aspergillus* spp., located in the necrosis areas in the central region of granulomatous lesions. HE, obj. 40X. 2D. Pulmonary granuloma: Evidence of septate fungal hyphae through silver impregnation of the external wall of the fungus. Grocott, obj. 40X..... 50
- Figura 3 Mycological culture of lung samples from 11 chicks, Isa Brown, six days old. Figura 3A. Dark gray, filamentous fungal colonies characteristics of *Aspergillus fumigatus*. Sabouraud dextrose agar. 3B. Bifurcated fungal mycelia at an acute angle of 45°, conidiophores with a swollen apex, conidia, metulae, and phialides. Lactophenol cotton blue, obj 400X..... 51

## Artigo 4

- Figura 1 Lesões hepáticas associadas a histomoníase em galinhas de criação colonial. (A) Fígado: marcadamente aumentado de tamanho exibindo nódulos branco-amarelados, multifocais a coalescentes com área central deprimida (setas). (B) Fígado: nódulos branco-amarelados, multifocais a coalescentes, medindo até 2 mm de diâmetro. Superfície de corte, lesão caseosa observada na superfície capsular comprometendo parênquima hepático (inset). Bar = 1cm..... 65
- Figura 2 Lesão macroscópica por histomoníase em ceco de galinha de criação colonial. Ceco: distendido, com serosa exibindo lesão nodular amarelada que se estende até a mucosa (seta). Na abertura do órgão observa-se material amarelado, friável e amorfo. Parede cecal espessa contendo material caseoso no lúmen (inset)..... 65
- Figura 3 (A) Fígado: Áreas multifocais de necrose, circundadas por infiltrado inflamatório, na região central dessas áreas há inúmeros trofozoítos (cabeças de seta) morfológicamente compatíveis com *Histomonas meleagridis* (7-15 µm de diâmetro). HE 10X. (B) Fígado: inúmeros trofozoítos em meio às áreas de necrose, marcados positivamente na coloração de PAS. PAS 40X..... 66

## **Lista de Tabelas**

### **Artigo 1**

Tabela 1	Lesões traumáticas, distúrbios metabólicos e/ou nutricionais, neoplasias e doenças de etiologia indeterminada diagnosticadas em galinhas domésticas de criações alternativas no Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LRD) entre janeiro de 2000 e dezembro de 2019.....	26
Tabela 2	Doenças bacterianas, doenças parasitárias, doenças virais e doenças fúngicas diagnosticadas em galinhas domésticas de criações alternativas no Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LRD) entre janeiro de 2000 e dezembro de 2019.....	27

### **Artigo 2**

Tabela 1	Perfil das 25 propriedades de criações avícolas alternativas visitadas nos municípios de Pelotas e Piratini, RS.....	44
----------	--	----

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>12</b>
<b>2 Artigos.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Artigo 1.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Artigo 2.....</b>	<b>30</b>
<b>2.3 Artigo 3.....</b>	<b>45</b>
<b>2.4 Artigo 4.....</b>	<b>55</b>
<b>3 Considerações Finais.....</b>	<b>67</b>
<b>Referências.....</b>	<b>68</b>
<b>Anexo.....</b>	<b>76</b>

## 1 Introdução

O sistema avícola industrial é responsável por cerca de 1,5% do produto interno bruto (PIB) brasileiro. Dados do relatório anual de 2019 da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), no ano de 2018, o Brasil foi o segundo maior produtor mundial de carne de frango (12.855 mil ton) e o maior exportador do produto, neste período. Quanto à produção de ovos, foram produzidas no ano de 2018, 44,5 bilhões de unidades no Brasil, sendo que 99,6% dessa produção foi destinada ao mercado interno (ABPA, 2019). A produção avícola brasileira industrial apresenta grande importância no cenário mundial, devido aos avanços genéticos, nutricionais e práticas de manejo, gerando alta produtividade com qualidade e menores custos de produção (UBA, 2015).

A avicultura do país é dividida em sistema intensivo e alternativo, apresentando algumas vantagens em relação aos modelos produtivos de outros países, devido ao clima tropical o qual propicia a utilização de aviários abertos (ABREU & ABREU, 2011). Nesse contexto, nos últimos anos, a avicultura alternativa, vem buscando melhorias no desempenho das aves, nas condições de bem-estar destas, bem como, na redução dos custos de produção, através de mudanças nas instalações e no ambiente, como forma de agregar valor aos subprodutos (DAMASCENO et al., 2010; VIEITES et al., 2016a; VIEITES et al., 2016b).

O crescente interesse por alimentos saudáveis, naturais, livres de conservantes e agrotóxicos e pela exigência de bem estar das aves dentro dos sistemas de produção tem estimulado a utilização de modelos produtivos alternativos (MELENDEZ et al., 2010; PERDONCINI et al., 2014; VIEITES et al., 2016a), atraindo agricultores familiares para a criação avícola alternativa, em sistema semi-intensivo (galinha caipira industrial) (GOMES FILHO et al., 2014; VIEITES et al., 2016b). De acordo com os dados divulgados pelo Censo Agropecuário 2017, no Brasil 77% dos estabelecimentos agropecuários corresponde a agricultura familiar que é responsável por 23% do valor total da produção agrícola

do país (IBGE, 2019), e sendo estes os principais responsáveis pela avicultura extensiva (galinhas de fundo de quintal) no país (GUELBER SALES et al., 2015).

Na agricultura familiar se faz uso racional dos recursos existentes nas propriedades, assim a criação de aves além de proporcionar um baixo custo de investimento, aumenta a renda através da comercialização de carne e ovos, ao mesmo tempo em que enriquece a alimentação das próprias famílias (GOMES et al., 2007; GALVÃO JR et al., 2009). No entanto, muitas propriedades de agricultura familiar com criações avícolas alternativas, não possuem instalações e práticas de manejo adequados a esses animais, tornando as aves e os aviários potenciais reservatórios e fontes de infecção de diversos patógenos (GOMES FILHO et al., 2014).

Galinhas criadas em sistemas alternativos possuem alto risco de infecção por *Salmonella* sp. e outros patógenos, devido ao risco de transmissão por outros hospedeiros como aves silvestres, répteis, insetos e mamíferos (CAIRES et al., 2010; MELENDEZ et al., 2010). A detecção de patógenos nessas criações, principalmente os zoonóticos, é fundamental para determinar o manejo e as medidas sanitárias específicas, visando diminuir perdas de produção e prevenir a contaminação tanto ambiental quanto das aves, bem como, evitar a disseminação desses patógenos para humanos e criações circunjacentes (GOMES FILHO et al., 2014). Dessa forma, o objetivo desta tese foi determinar as principais doenças que ocorrem em galinhas domésticas criadas em sistemas alternativos no sul do Brasil.

## **2 Artigos**

### **2.1 Artigo 1**

#### **Doenças diagnosticadas em galinhas coloniais (*Gallus gallus domesticus*) na região sul do Rio Grande Sul, em um período de 20 anos (2000 - 2019)**

Rosimeri Zamboni; Taina dos Santos Alberti; Haide Valeska Scheid; Fabiano da Rosa Venancio; Carolina Buss Brunner; Ana Lucia Schild; Gilberto D'Ávila Vargas; Margarida Buss Raffi; Eliza Simone Viégas Sallis

Será submetido à revista Semina Ciências Agrárias



**Doenças diagnosticadas em galinhas coloniais (*Gallus gallus domesticus*) na região sul do Rio Grande do Sul, em um período de 20 anos (2000 - 2019)**

**Diseases diagnosed in backyard chickens (*Gallus gallus domesticus*) in the southern region of Rio Grande do Sul, over a period of 20 years (2000 - 2019)**

Rosimeri Zamboni<sup>1\*</sup>; Taina dos Santos Alberti<sup>1</sup>; Haide Valeska Scheid<sup>1</sup>; Fabiano da Rosa Venancio<sup>2</sup>; Carolina Buss Brunner<sup>2</sup>; Ana Lucia Schild<sup>3</sup>; Gilberto D'Ávila Vargas<sup>4</sup>; Margarida Buss Raffi<sup>5</sup>; Eliza Simone Viégas Sallis<sup>5</sup>

**Resumo**

A avicultura brasileira é classificada em industrial e alternativa. Nas criações alternativas as aves são consideradas mais adaptadas ao modo de criação livre. Porém, o contato com aves silvestres e animais sinantrópicos, bem como, a utilização de criações avícolas consorciadas, torna essas aves e o ambiente no qual vivem potenciais reservatórios e fontes de infecção a diversos patógeno. Assim, o objetivo desse estudo foi identificar e descrever as principais doenças que acometem galinhas criadas em sistemas alternativos, na região de abrangência do Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas (LRD/UFPel), entre os anos de 2000 e 2019. Para este, foram revisados os protocolos de necropsia desta espécie encaminhados ao LRD/UFPel, nos últimos 20 anos. Nesse período foram recebidos 565

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Departamento de Patologia Animal –Universidade Federal de Pelotas- Capão do Leão, RS. E-mail: rosi\_zamboni@yahoo.com.br, taina\_alberti@yahoo.com, haidevaleskascheid@hotmail.com

<sup>2</sup> Programa de Residência Multiprofissional em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária, Departamento de Patologia Animal –Universidade Federal de Pelotas- Capão do Leão, RS. E-mail: fabianodarosavenancio@gamil.com, carolina.bbrunner@gmail.com

<sup>3</sup> Médica Veterinária, Laboratório Regional de Diagnóstico, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas- Capão do Leão, RS. E-mail: alschild@terra.com.br

<sup>4</sup> Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Capão do Leão, RS. E-mail: gdavilavargas@gmail.com

<sup>5</sup> Departamento de Patologia Animal –Universidade Federal de Pelotas- Capão do Leão, RS. E-mail: margaraffi@hotmail.com, esvsallis@yahoo.com.br

\*Autor para correspondência

materiais correspondentes a cadáveres e órgãos de galinhas domésticas, sendo 336 materiais referentes a aves de criações industriais e 229 de criações alternativas. Das 229 aves de criações semi-intensivas e extensivas, 203 (88,64%) protocolos tinham diagnóstico conclusivo e em 26 (11,36%) o diagnóstico era inconclusivo. As principais doenças diagnosticadas em galinhas coloniais, no LRD/UFPel nos últimos 20 anos, foram as bacterianas com 79/203 (38,92%) casos, seguidas das doenças parasitárias 59/203 (29,06%). Dentre as doenças bacterianas, as salmoneloses foram as mais frequente com 26/79 casos, sendo isolados 22/26 biovares gallinarum e 4/26 pullorum. Das doenças parasitárias, as parasitoses mistas foram as mais prevalentes com 37/59 casos, associadas principalmente ao nematódeo intestinal *Acaridia galli*. O sistema de criação alternativo e o manejo sanitário inadequado, foram os principais fatores relacionados à ocorrência das principais doenças infecciosas diagnosticadas nesse estudo. Sendo considerada a ausência de assistência técnica nessas criações um fator importante relacionado aos problemas sanitários observados na epidemiologia das aves analisadas.

**Palavras-chave:** Avicultura colonial, galinha caipira, doenças de aves, salmonelose.

### Abstract

**Key words:** Colonial poultry, free-range chicken, poultry diseases, salmonellosis.

### Introdução

A avicultura brasileira é classificada em industrial e alternativa, de acordo com o sistema de produção utilizado. A avicultura industrial consiste em um sistema intensivo de produção e a alternativa (colonial) em sistemas semi-intensivos (galinha caipira industrial) ou extensivos (galinha de fundo de quintal) (CAIRES et al., 2010; MELENDEZ et al., 2010), sendo a agricultura familiar a principal responsável pela implementação e manutenção da

criação avícola colonial (GOMES FILHO et al., 2014; GUELBER SALES et al., 2015; VIEITES, 2016).

Nas criações alternativas as aves são consideradas mais adaptadas ao modo de criação livre. Entretanto, o contato direto com outros animais domésticos e silvestres, torna essas aves e o ambiente no qual vivem potenciais reservatórios e fontes de infecção de diversos patógenos (CAIRES et al., 2010; MELENDEZ et al., 2010; GOMES FILHO et al., 2014; GUELBER SALES et al., 2015).

A detecção de patógenos na avicultura alternativa contribui para a determinação de medidas sanitárias e mudanças na forma de manejo das aves, visando à prevenção e disseminação de doenças para outras criações, bem como para humanos (GOMES FILHO et al., 2014). Nos últimos anos a mudança no perfil dos consumidores, tem estimulado a utilização dos sistemas avícolas alternativos de produção (CAIRES et al., 2010; VIEITES et al., 2016). Estudos sobre a ocorrência das enfermidades que afetam aves criadas nesses sistemas são escassos, sendo principalmente desenvolvidos com patologias específicas (GOMES FILHO et al., 2014).

Com isso, o objetivo do presente estudo foi identificar e descrever as principais doenças diagnosticadas em galinhas coloniais na área de abrangência do Laboratório Regional de Diagnóstico, da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, nos últimos 20 anos.

## **Material e Métodos**

Foram pesquisados nos arquivos do Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LRD/UFPel) os protocolos de necropsias realizadas em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) de criações alternativas, encaminhadas ao LRD entre janeiro de 2000 e dezembro de 2019. Foram

analisados os dados epidemiológicos obtendo-se informações referentes à procedência dos animais, tipo de criação, alimentação e manejo sanitário. Foram coletados, também, os sinais clínicos e evolução da doença, as alterações macroscópicas e histopatológicas, bem como o diagnóstico que constava no protocolo original dos arquivos.

Os diagnósticos que constavam nos protocolos foram agrupados em diferentes categorias, de acordo com o agente etiológico em doenças bacterianas, virais, parasitárias e fúngicas, distúrbios metabólicos e nutricionais, lesões traumáticas e neoplasias. Os casos que não se enquadraram em nenhuma das etiologias mencionadas foram classificados como diagnósticos de etiologia indeterminada e inconclusivos.

## **Resultados**

Foram recebidos no LRD/UFPel, de janeiro de 2000 a dezembro de 2019, 565 materiais correspondentes a cadáveres e órgãos de galinhas domésticas oriundas dos municípios da área de abrangência do LRD, sendo 336 materiais referentes a aves de criação industrial e 229 materiais provenientes de criações alternativas. Destes, 203/229 (88,64%) casos tinham diagnóstico conclusivo e em 26/229 (11,36%) o diagnóstico foi inconclusivo. Dos 203 casos, 79 (38,92%) corresponderam a doenças bacterianas, 59 (29,06%) a doenças parasitárias, 29 (14,29%) a doenças virais, 12 (5,91%) doenças fúngicas (Tabela 1), sete (3,45%) a lesões traumáticas, seis (2,96%) a distúrbios metabólicos e/ou nutricionais e três (1,48%) a neoplasias. Oito casos (3,94%) foram classificados como doenças de etiologia indeterminada (Tabela 2).

Nas doenças de causas bacterianas, salmonelose representou o maior número de casos, com 26/79 diagnósticos, sendo 22/26 casos de tifo aviário e 4/26 casos de pulorose (Figuras 1A e 1B). Colibacilose foi a segunda causa bacteriana de mortalidade mais prevalente dos protocolos revisados, com 17/79 casos (Figura 2A). As parasitoses mistas com 37/59 casos

foram as mais relevantes entre as doenças parasitárias (Figura 1C), sendo considerados dois ou mais parasitas como causa da morte das aves necropsiadas. Na maioria dos casos nos quais os parasitas foram submetidos para identificação observou-se uma maior prevalência de *Ascaridia galli* associado a outros nematódeos e cestódeos. Os agentes virais foram à terceira causa de morte de maior ocorrência, com 29 casos, sendo a leucose aviária a mais prevalente entre esses, com 12/29 casos (Figura 1D). Ainda, entre os diagnósticos de maior ocorrência de acordo com a etiologia, a aspergilose aviária foi à doença fúngica mais importante com 11/12 casos (Figura 2B).

## **Discussão**

O presente estudo demonstrou que as doenças infecciosas, corresponderam a 88,18% (179/203) dos diagnósticos em galinhas de criação colonial no LRD/UFPel nos últimos 20 anos, sendo as de causa bacteriana as mais frequentes.

Dentre as doenças bacterianas, a salmonelose foi o diagnóstico de maior ocorrência com 26/79 casos. Em 22/26 desses casos, o diagnóstico foi de tifo aviário, mediante o isolamento de *Salmonella gallinarum* e em 4/26 foi de pulorose com isolamento de *S. pullorum*. Dos sorotipos de *Salmonella*, o *Gallinarum* biovars *gallinarum* e *pullorum* são os de maior importância na avicultura, adaptados as aves (BARROW e FREITAS NETO, 2011; BARROW et al., 2012; WIGLEY, 2017) e responsáveis por altas taxas de morbidade e mortalidade (DE CARLI et al., 2017). Dados relacionados ao tifo aviário e a pulorose nas criações avícolas brasileiras são imprecisos, pois além de subnotificados, muitos casos ocorrem em criações coloniais extensivas (BARROW et al., 2012).

Aves domésticas criadas em sistemas alternativos têm contato direto com outras aves domésticas de diferentes categorias e espécies e animais sinantrópicos (BUCHALA et al., 2006), favorecendo principalmente a infecção pela *S. gallinarum* (BARROW e FREITAS

NETO, 2011). Acredita-se que a maior prevalência do biovar gallinarum observado nos casos diagnosticados no LRD/UFPel, está relacionada a ocorrência do contato interespécies nas criações estudadas. Outras práticas observadas nos casos de salmoneloses descritos nesse estudo, foram a troca de ovos embrionados entre criações e a compra de aves de linhagens comerciais sem procedência confiável, predispondo a disseminação dos diferentes biovars de *Salmonella*.

Colibacilose aviária foi a segunda doença bacteriana de maior ocorrência em aves de criação colonial encaminhadas ao LRD. Na avicultura intensiva, colibacilose é considerada a principal causa infecciosa de condenação total de carcaça de frangos no sul do Brasil (FERREIRA & KNÖBE, 2008). Dentre os principais fatores relacionados a sua ocorrência nas criações industriais, os fatores ambientais relacionados às altas concentrações de amônia, a deficiência na ventilação, grandes variações de temperatura, umidade da cama, alta densidade nos lotes e a desinfecção ineficiente das instalações predispoem as infecções respiratórias por *Escherichia coli*, que evoluem para a colisepticemia nas aves (BARNES et al., 2008; FERREIRA & KNÖBE, 2008; CASAGRANDE et al., 2017). Uma vez que, nas criações alternativas as aves são criadas livres e com baixa densidade populacional, estas apresentam uma menor predisposição a da colibacilose (CASAGRANDE et al., 2017), como observado nesse estudo.

Dentre os mais frequentes problemas que acometeram as galinhas domésticas encaminhadas ao LRD/UFPel, destacaram-se as parasitoses. A criação de forma livre das aves, juntamente com o contato direto com o solo e a usual prática de criação avícola consorciada, associadas às condições ambientais e a ausência de uma rotina de vermifugação das aves e desinfecção ambiental, predispoem a infecção por diferentes parasitas (BABOOLAL et al., 2012; QUADROS et al., 2015). Em todos os casos de parasitoses desse estudo, considerou-se a ausência ou realização esporádica de vermifugação o fator limitante para a

ocorrência das mortes. Uma vez que a utilização incorreta desses protocolos, não interrompe o ciclo dos parasitas, mantendo aves e ambiente com alta carga parasitária, sendo a prevalência das espécies de helmintos e protozoários relacionada ao ambiente e manejo (BABOOLAL et al., 2012; RADFAR et al., 2012).

No presente estudo, a leucose aviária foi a patologia de causa viral mais frequente com 12/203 casos diagnosticados. Em um estudo realizado entre os anos de 2000 e 2016 na região sul do Rio Grande do Sul, as principais doenças virais diagnosticadas em aves domésticas foram Doença de Marek (DM) e Doença de Gumboro, no entanto, nesse trabalho foram incluídas aves de criações industriais e alternativas (HIRSCHMANN et al., 2019). Deve-se considerar, que a transmissão dos vírus tanto de Marek quanto de Gumboro estão relacionados principalmente a problemas de biossegurança nos incubatórios de granjas (HIRSCHMANN et al., 2019), não sendo este um grande risco para as criações coloniais, uma vez que, somente uma pequena parcela dessas aves é adquirida de criatórios industriais. Outro fato relevante no presente estudo, devendo ser considerado, é que todas as galinhas afetadas tinham contato com aves silvestres, fator epidemiológico importante, pois, aves silvestres são consideradas disseminadoras do vírus da leucose aviária para as criações domésticas (ROCHA et al., 2009).

A aspergilose aviária foi à afecção fúngica mais frequente observada nos casos analisados com 11 diagnósticos, afetando pintainhas de uma mesma propriedade de criação alternativa semi-intensiva. Aspergilose é uma causa frequente de pneumonia e aerossaculite granulomatosa em aves, principalmente jovens, com maior importância econômica para o setor avicultura industrial (ARNÉ et al., 2011; DUTTA et al., 2017), não tendo na literatura casos descritos em criações semi-intensivas ou extensivas. Acredita-se que os fatores predisponentes relacionados ao desenvolvimento e altas concentrações do fungo *Aspergillus* spp. no ambiente dos aviários (BEERNAERT et al., 2010; ARNÉ et al., 2011;

CHOTIRMALL et al., 2013), raramente estão presentes nas criações avícolas alternativas, principalmente as extensivas.

A implementação o Programa Nacional de Saúde Avícola (BRASIL, 2009), a fim de minimizar as perdas econômicas da avicultura nacional decorrentes de doenças infecciosas, principalmente as incluídas no programa, acontece de forma efetiva no setor avícola industrial. Pode-se dizer, que não somente como o observado nesse estudo no qual as criações avícolas extensivas analisadas não executam medidas de manejo e controle sanitário predispostas no PNSA, a grande maioria das criações avícolas extensivas no Brasil não as faz. Dentre todas as doenças de causas infecciosas diagnosticadas no LRD/UFPel, observou-se que a forma de criação das aves, o manejo sanitário inadequado tanto ambiental quanto dos animais, foram os principais fatores predisponentes para a ocorrência das patologias diagnosticadas.

As doenças não infecciosas e sem etiologia determinada representaram somente 11,82% (24/203) dos diagnósticos conclusivos, sendo considerados casos individuais, ou acidentais como nos casos de traumatismos, sem relevância epidemiológica para as criações analisadas.

A partir dos dados analisados, acredita-se que as falhas de manejo, tanto das aves quanto do ambiente, estão relacionadas principalmente há falta de assistência técnica e orientação aos produtores. Pode-se constatar que as criações avícolas alternativas de forma geral são negligenciadas, principalmente em decorrência do menor impacto econômico que suas perdas geram, uma vez que a maioria tem como finalidade a subsistência. Os casos desse estudo foram prevalentemente encaminhados ao LRD/UFPel pelos próprios produtores, devido ao histórico recorrente de alta mortalidade nas criações justificando, também, o baixo número de galinhas coloniais recebidas em 20 anos no LRD/UFPel, laboratório referência em diagnóstico na região sul do Rio Grande do Sul. Dessa forma, alerta-se para a importância de determinar as doenças que afetam criações avícolas coloniais, uma vez que, essas aves



possam ser disseminadoras de inúmeros patógenos tanto de importância para sanidade animal quanto humana.

## Conclusões

As principais doenças diagnosticadas em galinhas de criação colonial no LRD/UFPEL nos anos de 2000 a 2019 foram as bacterianas, seguidas das doenças parasitárias, destacando-se entre essas as salmoneloses aviárias.

O sistema de criação alternativo e o manejo sanitário inadequado, tanto das aves quanto do ambiente, foram os principais fatores relacionados à ocorrência das principais doenças infecciosas diagnosticadas nesse estudo. Sendo considerada a ausência de assistência técnica nessas criações um fator importante relacionado aos problemas sanitários observados na epidemiologia das aves analisadas.

## Referências

- ARNÉ, P.; THIERRY, S.; WANG, D.; DEVILLE, M.; LE LOC'H, G.; DESOUTTER, A.; FÉMÉLIA, F.; NIEGUITSI, A.; HUANG, W.; CHERMETTÉ, R.; GUILLOT, J. *Aspergillus fumigatus* in Poultry. *International Journal of Microbiology*, Article ID746356, p. 1-14, 2011. DOI:10.1155/2011/746356
- BABOOLAL, V.; SURATSINGH, V.; GYAN, L.; BROWN, G.; OFFIAH, N. V.; ADESIYUN, A. A.; BASU, A. K. The prevalence of intestinal helminths in broiler chickens in Trinidad. *Veterinarski Arhiv*, v. 82, n. 6, p. 591-597, 2012.
- BARNES, H. J.; NOLAN, L. K.; VAILLANCOURT, J. P. Colibacillosis. In: SAIF, Y. M. *Diseases of Poultry*. 12ed. Iowa: Blackwell, 2008, p. 691-737.
- BARROW, P.; FREITAS NETO, O. C. Pullorum disease and fowl typhoid-new thoughts on old diseases: a review. *Avian Pathology*, v. 40, n. 1, p. 1-13, 2011. DOI: 10.1080/03079457.2010.542575
- BARROW, P. A.; JONES, M. A.; SMITH, A. L.; WIGLEY, P. The long view: *Salmonella* – the last forty years. *Avian Pathology*, v. 41, n. 5, p. 413-420, 2012. DOI: 10.1080/03079457.2012.718071
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. *PNSA: Programa Nacional de Sanidade Avícola. Manual de Legislação: programas nacionais de saúde animal*

do Brasil/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. – Brasília: MAPA/SDA/DSA, p. 171–241.

BUCHALA, F. G.; ISHIZUKA, M. M.; MATHIAS, L. A.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; KANASHIRO, A. M. I. Ocorrência de reação sorológica contra *Salmonella pullorum* em aves de “fundo de quintal” do estado de São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 73, n. 1, p. 1-5, 2006.

CAIRES, C. M.; DE CARVALHO, A. P.; CAIRES, R. M. Criação Alternativa de Frangos de Corte. *Nutritime*, v. 7, n. 2, p. 1169-1174, 2010.

CASAGRANDE, R. A.; MACHADO, G.; GUERRA, P. R.; CASTRO, L. A.; SPANAMBERG, A.; SILVA, S. C.; CARDOSO, M. R. I.; DRIEMEIER, D. Caracterização anatomopatológica e bacteriológica em frangos de corte condenados totalmente por colibacilose sob Serviço de Inspeção Federal. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n.9, p. 949-957, 2017. DOI: 10.1590/S0100-736X2017000900009

CHOTIRMALL, S.H.; AL-ALAWI, M.; MIRKOVIC, B.; LAVELLE, G.; LOGAN, P. M.; GREENE, C. M.; MCELVANEY, N. G. *Aspergillus*-associated airway disease, inflammation, and the innate immune response. *BioMed Research International*, ID 723129, p. 1-14, 2013. DOI: 10.1155/2013/723129

DE CARLI, S.; GRÄF, T.; KIPPER, D.; LEHMANN, F. K. M.; ZANETTI, N.; SIQUEIRA, F. M.; CIBULSKI, S.; FONSECA, A. S. K.; IKUTA, N.; LUNGE, V. R. Molecular and phylogenetic analyses of *Salmonella Gallinarum* trace the origin and diversification of recent outbreaks of fowl typhoid in poultry farms. *Veterinary Microbiology*, v. 212, p. 80–86, 2017. DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.11.001

DUTTA, B.; KONCH, P.; KONCH, C.; GOGOI, S. M.; FARHAD, H. M.; KAKOTY, S. P. Clinicopathological studies of Brooder pneumonia in Broiler Chicken. *International Journal of Chemical Studies*, v. 5, n. 3, p. 510-512, 2017.

FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. Colibacilose. In: BERCHIERI JR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. Z. Eds. *Doença das Aves*. Campinas: FACTA, 2009, p. 457-482.

GOMES FILHO, V. J. R.; TEIXEIRA, R. S. C.; LOPES, E. S.; ALBUQUERQUE, A. H.; LIMA, S. V. G.; HORN, R. V.; ROCHA-E-SILVA, R. C.; CARDOSO, W. M. Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas criadas em fundo de quintal (*Gallus gallus domesticus*) e ovos comercializados nas feiras livres na cidade de Fortaleza, Ceará. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 35, n. 4, p. 1855-1864, 2014. DOI: 10.5433/1679-0359.2014v35n4p1855

GUELBER SALES, M. N.; BARROS, B. L. A.; MÁXIMO, H. L.; SETÚBAL, R. L.; SALES, E. F. Caracterização da criação de galinhas caipiras em sistema agroecológico. In: IX Congresso Brasileiro de Agroecologia, 2015. *Cadernos de Agroecologia*, v. 10, n. 3, 2015.

HIRSCHMANN, L. C.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; LIMA, M.; VARGAS, G. D. A. Fatores de risco associados com a presença de infecções virais em aves domésticas na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 47, p. 1642, 2019. DOI: 10.22456/1679-9216.89774

MELENDEZ, S. N.; HANNING, I.; HAN, J.; NAYAK, R.; CLEMENT, A. R.; WOOMING, A.; HERERRA, P.; JONES, F. T.; FOLEY, S. L.; RICKE, S. C. *Salmonella enterica* isolates from pasture-raised poultry exhibit antimicrobial resistance and class I integrons. *Journal of Applied Microbiology*, v. 109, n. 6, p. 1957-1966, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2010.04825.x

QUADROS, R. M.; WIGGERS, S. B.; PAES, M. P. V.; MARQUES, S. M. T. Prevalência de endo e ectoparasitos de galinhas caipiras em pequenas propriedades da região serrana de Santa Catarina. *PUBVET - Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 9, n. 1, p. 1-5, 2015.

RADFAR, M. H.; KHEDRI, J.; ADINEHBEIGI, K.; NABAVI, R.; RAHMANI, K.. Prevalence of parasites and associated risk factors in domestic pigeons (*Columba liviadomestica*) and free-range backyard chickens of Sistan region, east of Iran. *Journal of Parasitic Diseases*, v. 36, n. 2, p. 220–225, 2012. DOI: 10.1007/s12639-012-0112-5

ROCHA, J. R.; ANTONIO, N. S.; PEREIRA, R. E. P.; LOT, R. F. E. Leucose aviária: relato de caso. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, v. 7, n.13, p. 1-5, 2009.

VIEITES, F.; SOUZA, C.S.; SALINAS, J.A.P. Bien estar animal em los procesos de producción avícola –experiencias brasileiras. *Revista Colombiana de Zootecnia*, v.2, n.3, p.17-22, 2016.

VIELITZ, E. Evolution of avian pathology in Europe during the past 50 years. *Lohmann Information*, v. 50, n. 1, p. 4–10, 2016.

WIGLEY, P. *Salmonella enterica* serovar Gallinarum: addressing fundamental questions in bacteriology sixty years on from the 9R vaccine. *Avian Pathology*, v. 46, n. 2, p. 119-124, 2017. DOI: 10.1080/03079457.2016.1240866

Tabela 1 Doenças bacterianas, doenças parasitárias, doenças virais e doenças fúngicas diagnosticadas em galinhas domésticas de criações alternativas no Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LRD) entre janeiro de 2000 e dezembro de 2019

<b>Doenças bacterianas</b>	<b>Número de Casos n=79 (%)</b>
Salmonelose <sup>a</sup>	26 (32,91)
Colibacilose	17 (21,52)
Botulismo	10 (12,66)
Tuberculose	8 (10,13)
Aerossaculite e Pneumonia bacteriana <sup>b</sup>	7 (8,86)
Hepatite bacteriana <sup>b</sup>	4 (5,06)
Enterite bacteriana <sup>b</sup>	2 (2,53)
Pasteurelose	2 (2,53)
Salpingite <sup>b</sup>	1 (1,27)
Septicemia <sup>b</sup>	1 (1,27)
Traqueíte por <i>Streptococcus</i> spp.	1 (1,27)
<b>Doenças parasitárias</b>	<b>Número de Casos n=59 (%)</b>
Parasitose Mista	37 (62,71)
Coccidiose	12 (20,34)
Histomoníase	5 (8,47)
Singamose	5 (8,47)
<b>Doenças virais</b>	<b>Número de Casos n=29 (%)</b>
Leucose aviária	12 (41,38)
Doença de Marek	8 (27,59)
Bouba aviária	5 (17,24)
Gumboro	2 (6,90)
Bronquite infecciosa	1 (3,45)
Enterite não supurativa <sup>c</sup>	1 (3,45)
<b>Doenças fúngicas</b>	<b>Número de Casos n=12 (%)</b>
Aspergilose	11 (91,67)
Candidíase	1 (8,33)

<sup>a</sup> *Salmonella* gallinarum e *S. pullorum*.

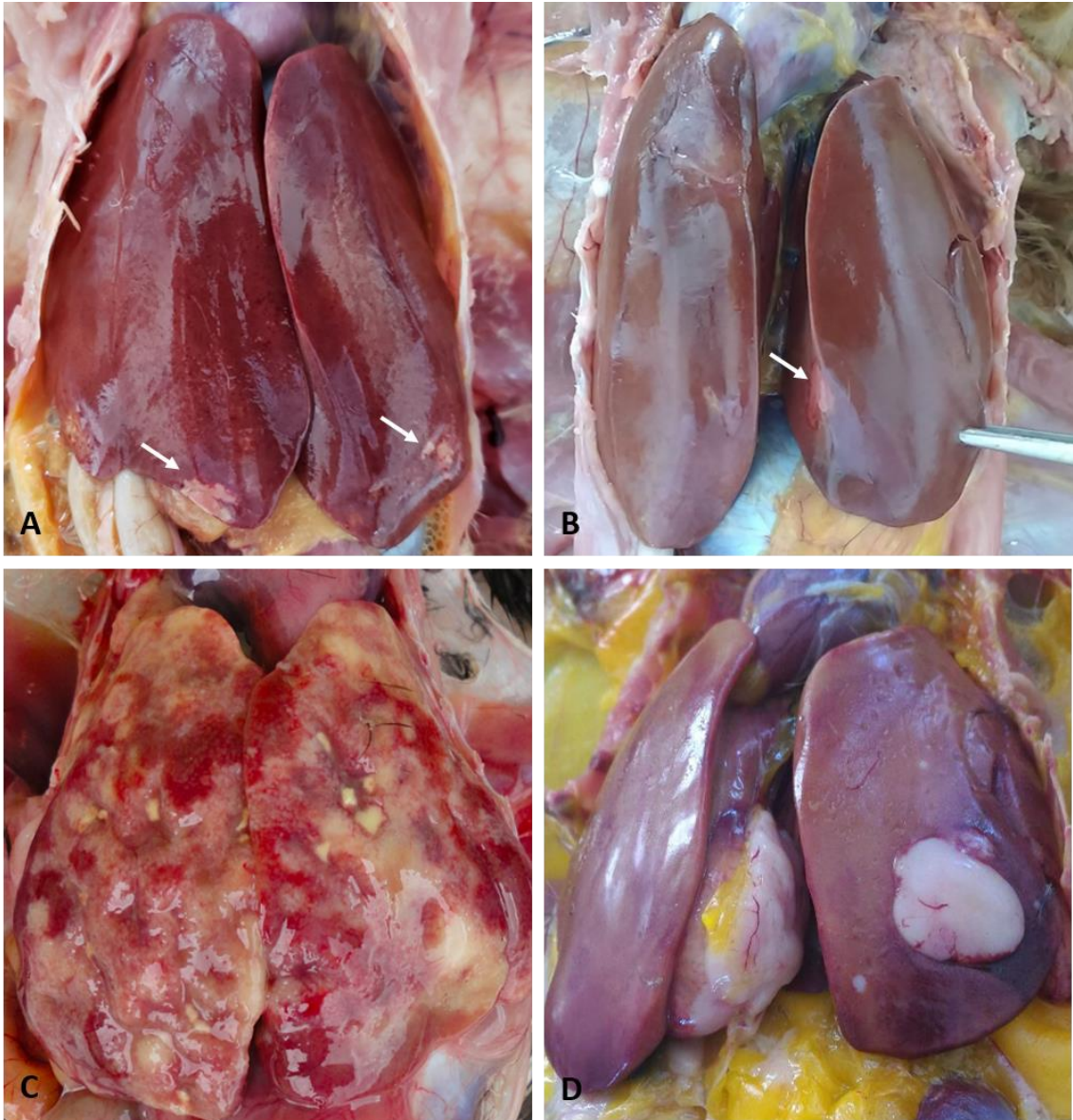
<sup>b</sup> Diagnóstico morfológico, com lesões histológicas características de agente bacteriano, porém sem identificação do agente etiológico.

<sup>c</sup> Diagnóstico morfológico baseado nos achados histológicos característicos de agente viral, porém sem identificação do agente etiológico.

Tabela 2 Lesões traumáticas, distúrbios metabólicos e/ou nutricionais, neoplasias e doenças de etiologia indeterminada diagnosticadas em galinhas domésticas de criações alternativas no Laboratório Regional de Diagnóstico da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (LRD) entre janeiro de 2000 e dezembro de 2019

<b>Doenças não infecciosas</b>	
<b>Lesões traumáticas</b>	<b>Número de Casos n=7 (%)</b>
Politraumatismo	3 (42,86)
Miosite traumática	2 (28,57)
Granuloma por trauma <sup>a</sup>	2 (12,82)
<b>Distúrbios metabólicos e nutricionais</b>	<b>Número de Casos n=6 (%)</b>
Enterite associada a distúrbio nutricional	4 (66,67)
Esteatose hepática	2 (33,33)
<b>Neoplasias</b>	<b>Número de Casos n=3 (%)</b>
Teratoma	1 (33,33)
Carcinoma de células escamosas	1 (33,33)
Colangiocarcinoma	1 (33,33)
<b>Doenças de etiologia indeterminada</b>	<b>Número de Casos n=8 (%)</b>
Enterite inespecífica	3 (37,50)
Degeneração e necrose hepática	2 (25,00)
Bursite necrosante	1 (12,50)
Poliartrite	1 (12,50)
Granuloma esplênico	1 (12,50)

<sup>a</sup> Lesão por corpo estranho em esôfago e lesão traumática em músculo esquelético.



**Figura 1.** (A) Lesão hepática de tifo aviário em galinha doméstica. Fígado aumentado de tamanho, com áreas brancacentas multifocais (setas) na superfície capsular hepática. (B) Lesão hepática de pulorose em galinha doméstica. Fígado discretamente aumentado de tamanho, com áreas brancacentas multifocais (seta) na superfície capsular hepática. (C) Lesão hepática de histomoníase em galinha doméstica. Fígado marcadamente aumentado de tamanho, exibindo nódulos branco-amarelados, multifocais a coalescentes com área central deprimida, circundados por halo pálido. (D) Lesão hepática de leucose aviária em galinha doméstica. Nódulos brancacentos, multifocais, estendendo-se da cápsula ao parênquima hepático.



**Figura 2. (A)** Lesão em sacos aéreos por colibacilose em galinha doméstica. Sacos aéreos anteriores preenchidos por material amarelado de aspecto caseoso (asteriscos). **(B)** Lesão pulmonar de aspergilose aviária em pintainha. Pulmões apresentando lesões nodulares multifocais a coalescentes, branco-amareladas e firmes (seta).

## 2.2 Artigo 2

### **Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criação colonial no sul do Brasil**

Rosimeri Zamboni; Taina dos Santos Alberti; Fabiano da Rosa Venancio; Tassiana Ramires; Silvia Regina Leal Ladeira; Wladimir Padilha da Silva; Margarida Buss Raffi; Eliza Simone Viégas Sallis

Submetido à revista Ciência Rural



1 **Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criação colonial**  
2 **no sul do Brasil**

3 **Investigation of *Salmonella* spp. in chickens (*Gallus gallus domesticus*) colonial creation**  
4 **in Southern Brazil**

5 **Rosimeri Zamboni<sup>1</sup> Taina dos Santos Alberti<sup>1</sup> Fabiano da Rosa Venancio<sup>1</sup> Tassiana**  
6 **Ramires<sup>2</sup> Wladimir Padilha da Silva<sup>3</sup> Silvia Regina Leal Ladeira<sup>4</sup> Gilberto D'Ávila**  
7 **Vargas<sup>5</sup> Margarida Buss Raffi<sup>6</sup> Eliza Simone Viégas Sallis<sup>5</sup>**

8  
9 **RESUMO**

10 Salmonelose é uma doença causada por bactérias do gênero *Salmonella*, com  
11 importância para saúde pública e animal. Dentre os inúmeros sorotipos destaca-se o  
12 Gallinarum, que possui dois biovars adaptados as aves, responsáveis pelo tifo aviário e a  
13 pulrose, amplamente difundidos pelo mundo, principalmente em países em  
14 desenvolvimento. Os dados sobre a ocorrência de *Salmonella* spp. em criações alternativas no  
15 Brasil são escassos. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi pesquisar a ocorrência de  
16 *Salmonella* spp. nessas criações no sul do Brasil. Foram realizadas análises microbiológicas e  
17 moleculares de 12 amostras de órgãos de galinhas domésticas encaminhadas ao  
18 LRD/FV/UFPel, e de 136 pools de suabes cloacais coletados em 25 criações avícolas  
19 alternativas, dos municípios de Pelotas e Piratini, do estado do Rio Grande do Sul. Na análise  
20 microbiológica das 12 amostras de necropsia 10/12 amostras apresentaram características  
21 compatíveis com *S. gallinarum* e 2/12 com *S. pullorum*, sendo 11/12 (91,7%) confirmadas

---

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Departamento de Patologia Animal, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Faculdade de Veterinária, Campus Universitário, s/n - Prédio 1, Capão do Leão/RS. E-mail: rosi\_zamboni@yahoo.com.br \*Autor para correspondência

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

<sup>3</sup>. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

<sup>4</sup> Laboratório Regional de Diagnóstico, Departamento de Patologia Animal, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Faculdade de Veterinária.

<sup>5</sup> Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

<sup>6</sup> Departamento de Patologia Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

1 pela técnica de PCR. Nas amostras de suabes cloacais, dos 136 pools, 13 amostras foram  
2 sugestivas de *Salmonella* spp., porém apenas uma (0,7%) foi confirmada pela análise  
3 molecular e, bioquimicamente compatível com o biovar pullorum. O maior número de  
4 isolados foi proveniente da cultura de órgãos de aves que apresentaram sinais clínicos  
5 compatíveis com salmonelose. Nas criações alternativas avícolas analisadas no sul do Brasil a  
6 ocorrência de *Salmonella* spp. foi baixa. Em todas as amostras positivas foi identificado o  
7 sorotipo Gallinarum, biovars gallinarum e pullorum.

8

9 **Palavras-chave:** avicultura alternativa, galinhas coloniais, tifo aviário, pulorose, *Salmonella*  
10 spp.

11

## 12 **ABSTRACT**

13

14 Salmonellosis is a disease caused by bacteria of the genus *Salmonella*, with importance for  
15 public and animal health. Among the numerous serotypes, Gallinarum stands out, which has  
16 two biovars adapted to birds, responsible for fowl typhoid and pullorum disease, widely  
17 spread throughout the world, mainly in developing countries. Data on the occurrence of  
18 *Salmonella* spp. alternative creations in Brazil are scarce. Thus, the objective of this study  
19 was to investigate the occurrence of *Salmonella* spp. in these creations in southern Brazil.  
20 Microbiological and molecular analyzes were carried out on 12 samples of organs from  
21 domestic chickens sent to the LRD/FV/UFPel, and 136 pools of cloacal swabs collected in 25  
22 alternative poultry farms, in the municipalities of Pelotas and Piratini, in the state of Rio  
23 Grande do Sul. In the microbiological analysis of the 12 necropsy samples, 10/12 samples  
24 showed characteristics compatible with *S. gallinarum* and 2/12 with *S. pullorum*, 11/12  
25 (91,7%) were confirmed by the PCR. In samples of cloacal swabs, from 136 pools, 13

1 samples were suggestive of *Salmonella* spp., however only one (0.7%) was confirmed by  
2 molecular analysis, and biochemically compatible with biovar pullorum. The largest number  
3 of isolates came from the culture of bird organs that showed clinical signs compatible with  
4 salmonellosis. In alternative poultry farms analyzed in southern Brazil, the occurrence of  
5 *Salmonella* spp. it was low. In all positive samples, the Gallinarum serotype, biovars  
6 gallinarum and pullorum were identified.

7

8 **Key words:** alternative aviculture, backyard chickens, fowl typhoid, pullorum disease,  
9 *Salmonella* spp.

10

## 11 **INTRODUÇÃO**

12

13 Salmonelose é uma doença causada por bactérias do gênero *Salmonella*, sendo  
14 considerada a principal doença transmitida por alimento (DTA), vinculada ao consumo de  
15 produtos de origem avícola (GAST, 2008; SHINOHARA et al., 2008; DE CARLI et al,  
16 2017). *Salmonella* spp. é altamente patogênica, podendo infectar humanos e uma grande  
17 variedade de animais domésticos e silvestres. O principal meio de manutenção desses  
18 patógenos no ambiente é através dos animais portadores e a transmissão pode ocorrer de  
19 forma horizontal e vertical (BUCHALA et al., 2006; DE CARLI et al., 2017).

20 O gênero *Salmonella* possui mais de 2500 variantes (sorotipos) distinguíveis  
21 sorologicamente (GAST, 2008; SHINOHARA et al., 2008; DE CARLI et al, 2017). Dentre os  
22 diferentes sorotipos, o Gallinarum possui dois biovars adaptados as aves, o gallinarum  
23 (bvGA) e o pullorum (bvPU), agentes causadores do tifo aviário e pulorose, respectivamente  
24 (GAST, 2008; BARROW e FREITAS NETO, 2011; BARROW et al., 2012; WIGLEY,  
25 2017).

1 O tifo aviário e a pulorose são doenças amplamente distribuídas em todo o mundo,  
2 principalmente nos países em desenvolvimento (BARBOUR et al., 2015). Essas são  
3 responsáveis por significativas perdas econômicas na avicultura industrial brasileira (DE  
4 CARLI et al., 2017) sendo considerados um risco zoonótico mínimo (SHIVAPRASAD,  
5 2000). Pesquisas relacionadas à salmonelose em criações avícolas no Brasil são na sua  
6 maioria realizadas em criações industriais, enquanto que nas criações alternativas pouco se  
7 sabe sobre a ocorrência de *Salmonella* spp. (BUCHALA et al., 2006; GOMES FILHO et al.,  
8 2014).

9 Dessa forma, devido ao risco da salmonelose para a saúde pública e animal, bem  
10 como, seu impacto econômico, o objetivo desse trabalho foi pesquisar a ocorrência de  
11 *Salmonella* spp. em criações avícolas alternativas no sul do Brasil.

12

## 13 MATERIAL E MÉTODOS

14

15 Para a pesquisa de *Salmonella* spp. foram realizadas análises microbiológicas e  
16 moleculares. Nas análises foram utilizadas amostras provenientes de órgãos de galinhas  
17 domésticas (*Gallus gallus domesticus*) necropsiadas e suabes cloacais de coletas realizadas  
18 em criações avícolas alternativas. Todas as amostras foram provenientes dos municípios de  
19 Pelotas e Piratini, do estado do Rio Grande do Sul.

20

### 21 *Amostras de necropsia*

22 As amostras dos órgãos foram coletadas entre os anos de 2017 e 2019, de 12 galinhas  
23 domésticas, de criações coloniais, encaminhadas para necropsia ao Laboratório Regional de  
24 Diagnóstico (LRD), Faculdade de Veterinária (FV), Universidade Federal de Pelotas (UFPel),  
25 com histórico clínico de diarreia. As aves eram oriundas de seis propriedades, sendo uma  
26 localizada no município de Piratini e as demais no município de Pelotas. Nas necropsias

1 foram coletados fragmentos de todos os órgãos e fixados em formalina tamponada a 10%,  
2 para exame histopatológico. Fragmentos de fígado, coração e intestino (ceco) foram coletados  
3 sob refrigeração para análise microbiológica. Informações referentes ao tipo de criação,  
4 manejo e sanidade foram revisados nos protocolos de necropsia.

5

#### 6 *Amostras de suabes cloacais*

7 As coletas foram realizadas entre julho e novembro de 2019, em 25 propriedades  
8 rurais com criações avícolas semi-intensivas e extensivas. No município de Pelotas, foram  
9 visitadas 17 propriedades, pertencentes ao 3º, 5º, 7º e 9º distrito e, em Piratini oito  
10 propriedades, todas pertencentes ao 2º distrito. As coletas dos suabes foram agrupadas em  
11 pools em caldo tetracionato (meio seletivo). Cada pool continha três suabes cloacais de  
12 diferentes aves, da mesma propriedade. O número de pools em cada propriedade variou entre  
13 quatro e seis, de acordo com a quantidade de animais e disponibilidade de apreensão dos  
14 mesmos no momento da coleta. Após as coletas os suabes em caldo tetracionato eram  
15 acondicionados sob refrigeração em período máximo de duas horas. Posteriormente essas  
16 amostras eram incubadas em estufa a 37°C por 24h, 48h e 72h, para análise microbiológica.  
17 Durante as visitas foram aplicados questionários a fim de avaliar o perfil sanitário das 25  
18 criações visitadas.

19

#### 20 *Análise microbiológica*

21 Para a análise microbiológica das amostras de necropsia, foi realizada semeadura dos  
22 órgãos em ágar Mac Conkey (AMC) e ágar Verde Brilhante (AVB), com leitura após 24h de  
23 incubação a 37°C. Posteriormente as colônias bacterianas foram submetidas à realização de  
24 provas bioquímicas como Sulfato Indol Motilidade (SIM), Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI),  
25 citrato de Simmons, uréia, ornitina, glicose, sacarose, lactose, arabinose, dulcitol, ramnose,

1 sorbitol, manitol, maltose, trealose e gelatina de acordo com QUINN, CARTER e MARKEY  
2 (1994), para caracterização dos microorganismos.

3 Dos suabes cloacais, foram realizadas três sementeiras em AMC e AVB, em um  
4 período de 24h, 48h e 72h após incubação a 37°C em caldo seletivo. Posteriormente foi  
5 realizada análise bioquímica, das colônias suspeitas de *Salmonella* spp., como descrito acima.

### 6 7 *Análise molecular*

8 As amostras sugestivas de *Salmonella* spp., provenientes das análises microbiológicas  
9 de necropsia e suabes cloacais foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de  
10 Alimentos, do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da UFPel, para  
11 identificação molecular pela técnica Polymerase Chain Reaction (PCR). A técnica molecular  
12 foi realizada de acordo com CRĂCIUNAŞ et al. (2012), utilizando o Gene *hila* para  
13 confirmação de gênero *Salmonella* spp. Como controle positivo utilizou-se uma amostra de *S.*  
14 *typhimurium* (ATCC 14028) e controle negativo uma amostra de *Escherichia coli* (ATCC  
15 25922).

## 16 17 **RESULTADOS**

18  
19 Na cultura microbiológica das 12 amostras provenientes de órgãos de aves  
20 necropsiadas foram observadas em AMC colônias incolores (não fermentadoras de lactose),  
21 pequenas, brilhantes e lisas. Em AVB as colônias eram translúcidas, circulares, pequenas e  
22 brilhantes, com alteração da cor do meio para rosa. Na análise bioquímica dos 12 isolados de  
23 necropsia, 10/12 amostras apresentaram características compatíveis com *S. gallinarum* e 2/12  
24 com *S. pullorum*. Na análise molecular (PCR) em 11 (91,7%) das 12 amostras suspeitas, foi  
25 confirmada a presença do DNA de bactérias do gênero *Salmonella* spp. Quanto a forma de

1 criação, cinco propriedades utilizavam sistema extensivo e uma semi-intensivo. Somente a  
2 propriedade com criação semi-intensiva, com finalidade exclusiva de comercialização de  
3 ovos, realizava protocolos de vacinação, vermifugação periódica e manejo sanitário das  
4 instalações.

5 Durante as visitas nas 25 propriedades, foram coletados 136 pools, totalizando 408  
6 suabes cloacais de galinhas coloniais, de idades e linhagens variadas. Na análise  
7 microbiológica dos 136 pools, 13 (9,5%) de 10/25 propriedades diferentes apresentaram  
8 características de colônias em AMC e AVB semelhantes às observadas nas amostras de  
9 necropsia. Na análise bioquímica das 13 amostras com colônias sugestivas de *Salmonella*  
10 houve compatibilidade com o gênero. Em 12/13 das amostras ocorreram discrepâncias entre  
11 alguns açúcares testados, e 1/13 apresentou todas as características bioquímicas compatíveis  
12 com o gênero *Salmonella* e o biovar pullorum. Das 13 amostras encaminhadas para  
13 identificação molecular, a amostra (0,7%) bioquimicamente compatível com o biovar  
14 pullorum foi confirmada o gênero *Salmonella* spp.

15 De acordo com o questionário realizado, em 60% (15/25) das propriedades as aves  
16 eram criadas livres com alguma instalação com a finalidade de subsistência. Quanto ao  
17 manejo sanitário, 92% (23/25) das propriedades não utilizavam nenhum tipo de vacina e, em  
18 68% (17/25) era realizada a vermifugação dos animais, seja com medicamentos comerciais ou  
19 homeopáticos. Em todas as propriedades os animais tinham contato com outras espécies de  
20 aves silvestres e/ou domésticas. Na tabela 1 estão exemplificadas as demais informações  
21 referentes ao perfil das criações avícolas visitadas.

22

## 23 **DISCUSSÃO**

24

1 No presente estudo, *Salmonella* spp. foi confirmada em 12 amostras analisadas pela  
2 técnica de PCR, sendo 11 dessas provenientes de órgãos e uma de suabe cloacal. *Salmonella*  
3 spp., em aves que apresentam sinais clínicos da doença (fase aguda), é facilmente isolada de  
4 praticamente todos os órgãos e fezes (BARROW et al., 2012; OIE, 2019), como observado  
5 nesse estudo, o maior índice de isolados confirmados de *Salmonella* spp. foram das amostras  
6 de necropsia de aves doentes, quando comparados com isolados de suabes cloacais.

7 Dos 136 pools, coletados aleatoriamente de 408 galinhas coloniais assintomáticas,  
8 foram isoladas colônias sugestivas de *Salmonella* em 13 amostras, sendo apenas uma  
9 confirmada na análise molecular. Este resultado foi semelhante ao observado por GOMES  
10 FILHO et al. (2014) e GAMBIRAGI et al. (2003) em criações coloniais e industriais, sem  
11 isolamento de *Salmonella* spp. na análise microbiológica de suabes cloacais. Entretanto,  
12 nesses estudos os mesmos animais analisados demonstraram soropositividade no teste de  
13 soroaglutinação rápida. Apesar da confirmação de *Salmonella* spp. pela técnica de PCR em  
14 apenas 0,73% dos pools (1/136), não se descarta a possibilidade de as aves coletadas serem  
15 portadoras do patógeno. Uma vez que esses animais podem apresentar uma baixa carga de  
16 *Salmonella* spp., associada à excreção intermitente da bactéria, e mesmo em meios seletivos  
17 seu crescimento pode ser inibido por microrganismos concorrentes, assim como descrito em  
18 outros estudos (GOMES FILHO et al. 2014; BEZERRA et al., 2016; BAPTISTA et al., 2018;  
19 OIE, 2019).

20 Os biovares gallinarum e pullorum são amplamente difundidos, principalmente em  
21 países em desenvolvimento (BARBOUR et al., 2015). No Brasil nos últimos cinco anos, em  
22 criações industriais, foram reportados a OIE 112 surtos de tifo aviário (90,3%) e 12 surtos de  
23 pulorose (9,7%), sendo que 48,2% dos casos de tifo aviário e 25,0% dos casos de pulorose  
24 ocorreram no estado do Rio Grande do Sul (OIE, 2020). No presente estudo, dos 12 isolados  
25 confirmados na PCR, 10/12 e 2/12, foram bioquimicamente compatíveis com *S. gallinarum* e



1 *S. pullorum*, respectivamente. A principal forma de contaminação das aves domésticas pelo  
2 biovar *gallinarum* ocorre por transmissão horizontal, enquanto para o biovar *pullorum* a  
3 transmissão vertical mostra-se mais importante para a disseminação do patógeno (BARROW  
4 e FREITAS NETO, 2011; BARROW et al., 2012). Acredita-se que as principais formas de  
5 contaminação de *Salmonella* nas aves das propriedades analisadas no presente estudo, seja  
6 pelo contato direto desses animais com aves silvestres, ou pela introdução de aves de  
7 diferentes locais, muitas vezes, associado ao hábito desses produtores em trocar ovos  
8 embrionados, ou pela compra de linhagens comerciais sem procedência certificada.

9       Em 24 (96%) das 25 propriedades visitadas o sistema de criação era extensivo, e 19/25  
10 (76%) utilizavam algum tipo de instalação como puleiros ou gaiolas. Nesse sistema de criação  
11 os animais são considerados menos suscetíveis a infecções, devido a sua criação livre e,  
12 também, pela utilização de aves de linhagens mais rústicas (GOMES FILHO et al., 2014;  
13 VIELITZ, 2016). Porém, a criação consorciada de aves de diferentes idades e espécies,  
14 juntamente com o contato direto das aves domésticas com aves silvestres predispõe a infecção  
15 pelos biovars *gallinarum* e *pullorum* em criações alternativas (GOMES FILHO et al., 2014).  
16 Assim, apesar do baixo índice de isolados, não se descarta a possibilidade das aves coletadas  
17 serem portadoras de *Salmonella*.

18

## 19 **CONCLUSÃO**

20

21       No presente estudo, a ocorrência de *Salmonella* spp. em criações avícolas alternativas  
22 no sul do Brasil foi baixa, porém, o sorotipo *Gallinarum*, biovars *gallinarum* e *pullorum*  
23 estão presentes nessas criações.

1 Na cultura de órgãos de aves que apresentavam sinais clínicos *ante mortem*, houve  
2 maior número de isolados de *Salmonella* spp., quando comparados com a cultura de suabes  
3 cloacais de aves assintomáticas.

4

## 5 **COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA**

6 Esta pesquisa foi desenvolvida de acordo com a Comissão de Ética e Experimentação  
7 Animal, registro CEEA 57627.

8

## 9 **DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES**

10 Os autores declaram não haver conflito de interesses.

11

## 12 **CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES**

13 Todos os autores contribuíram igualmente para este trabalho e preparação do  
14 manuscrito.

15

## 16 **REFERÊNCIAS**

17 BAPTISTA, D.Q. *et al.* Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de  
18 *Salmonella* spp. isolados de frangos vivos e carcaças no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa**  
19 **Veterinária Brasileira**, v.38, n.7, p.1278-1285, 2018. Available  
20 from:<<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v38n7/1678-5150-pvb-38-07-1278.pdf>>. Accessed: Sep,  
21 22, 2019. doi: 10.1590/1678-5150-PVB-5289

22 BARBOUR, E.K. *et al.* Impact of sporadic reporting of poultry *Salmonella* serovars from  
23 selected developing countries. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n.  
24 1,p. 1–7, 2015. Available  
25 from:<<https://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/25596565/1224>> Accessed: Nov,  
26 01, 2019. doi: 10.3855/jidc.5065.

- 1 BARROW, P.; FREITAS NETO, O.C. Pullorum disease and fowl typhoid-new thoughts on  
2 old diseases: a review. **Avian Pathology**, v. 40, n. 1, p. 1-13. Available from:  
3 <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21331943>>. Accessed: Oct, 03, 2019. doi:  
4 10.1080/03079457.2010.542575.
- 5 BARROW, P.A. *et al.* The long view: Salmonella – the last forty years. **Avian Pathology**,  
6 v.41, p.413–420, 2012. Available from:  
7 <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03079457.2012.718071>>. Accessed: Oct, 05,  
8 2019. doi: 10.1080/03079457.2012.718071.
- 9 BEZERRA, W.G.A., *et al.* Isolation and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and  
10 *Salmonella entérica* subsp. *enterica* (O: 6, 8) in broiler chickens. **Acta Scientiae**  
11 **Veterinariae**, v.44, p.1-7, 2016. Available from:  
12 <<http://www.ufrgs.br/actavet/44/PUB%201364.pdf>>. Accessed: Nov, 01, 2019.
- 13 BUCHALA, F. G. *et al.* Ocorrência de reação sorológica contra *Salmonella pullorum* em aves  
14 de “fundo de quintal” do estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73,  
15 n.1, p.1-5, 2006. Available from:  
16 <[http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/arg/V73\\_1/buchala.PDF](http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/arg/V73_1/buchala.PDF)>.  
17 Accessed: Sept, 29, 2019.
- 18 CRĂCIUNĂȘ, C. *et al.* DNA-based diagnostic tests for *Salmonella* strains targeting *hilA*,  
19 *agfA*, *spvC* and *sef* genes. **Journal of Environmental Management**, v. 95, p. 15-18, 2012.  
20 Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479710002239>>  
21 Accessed: Sep, 02, 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.07.027>.
- 22 DE CARLI, S. *et al.* Molecular and phylogenetic analyses of *Salmonella Gallinarum* trace the  
23 origin and diversification of recent outbreaks of fowl typhoid in poultry farms. **Veterinary**  
24 **Microbiology**, v. 212, p. 80–86, 2017. Available from:

- 1 <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29173593>>. Accessed: Oct, 02, 2019. doi:  
2 <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.11.001>.
- 3 GAMBIRAGI, A.P.O.M. *et al.* *Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia de idade na  
4 região metropolitana de Fortaleza, CE. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, n. 2, p. 149-153,  
5 2003. Available from:<<https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/view/17156>>  
6 Accessed: Oct, 12, 2019.
- 7 GAST, R.K. Bacterial diseases: *Salmonella* infection. In: SAIF, Y.M., FADLY, A.M.,  
8 GLISSON, J.R., MCDUGALD, L.R., NOLAN, L.K., SWAYNE, D.E. (Eds.), **Diseases of**  
9 **Poultry**. Blackwell Publishing, Oxford, 2008, p. 619–636.
- 10 GOMES FILHO, V.J.R. *et al.* Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas criadas em fundo de  
11 quintal (*Gallus gallus domesticus*) e ovos comercializados nas feiras livres na cidade de  
12 Fortaleza, Ceará. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.4, p.1855-1864, 2014. Available from:  
13 <<https://pdfs.semanticscholar.org/0f7c/b3df4e618de84ce86ab74265e9feafeda6f3.pdf>>.  
14 Accessed: Sep, 22, 2019. doi: 10.5433/1679-0359.2014v35n4p1855.
- 15 OIE – World Organization for Animal Health. 2019. **Manual of Diagnostic Tests and**  
16 **Vaccines for Terrestrial Animals 2019 - Fowl Typhoid and Pullorum disease**. Chapter  
17 3.3.11, p. 1-17, 2019. Available from: <[https://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-](https://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/)  
18 [manual/access-online/](https://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/)>. Accessed: Sep, 05, 2019.
- 19 OIE – World Organization for Animal Health, 2020. **Fowl Typhoid and Pullorum diseases**.  
20 World Animal Health Information Database (WAHID). Available from:  
21 <[https://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail](https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail)> Accessed:  
22 Jan, 05, 2020.
- 23 PANDINI, J.A. *et al.* Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de  
24 *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**,  
25 v.20, n.10, p.1-6, 2014. Available from: <[http://www.scielo.br/pdf/aib/v82/1808-1657-aib-](http://www.scielo.br/pdf/aib/v82/1808-1657-aib-1808-1657000352013.pdf)  
26 [1808-1657000352013.pdf](http://www.scielo.br/pdf/aib/v82/1808-1657-aib-1808-1657000352013.pdf)>. Accessed: Sep, 22, 2019. doi: 10.1590/1808-1657000352013

- 1 QUINN, P.J.; CARTIER, M. E.; MARKEY, B. Salmonellas species. In: \_\_\_\_\_. **Clinical**  
2 **veterinary microbiology**. London: Wolfe, 1994. p.237-242.
- 3 SHINOHARA, N. K. S. *et al.* *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em  
4 alimentos. **Ciência Saúde Coletiva**, v.13, n.5, p.1675-1683, 2008. Available from:  
5 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1413-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-81232008000500031&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)  
6 [81232008000500031&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-81232008000500031&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Accessed: Oct, 02, 2019. doi:  
7 <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232008000500031>.
- 8 SHIVAPRASAD, H.L. Fowl typhoid and pullorum disease. **Revue scientifique et technique**  
9 **(International Office of Epizootics)**, v. 19, p. 405–424. Available from:  
10 <<https://pdfs.semanticscholar.org/f33d/81b98ebd62ff49e11b34e28ecdd5e735fde3.pdf>>.  
11 Accessed: Oct, 02, 2019.
- 12 VIELITZ, E. Evolution of avian pathology in Europe during the past 50 years. **Lohmann**  
13 **Information**, v. 50, p. 4–10, 2016. Available from: <[http://www.ltz.de/en/news/lohmann-](http://www.ltz.de/en/news/lohmann-information/Evolution-of-Avian-Pathology-in-Europe-during-the-past-50-years.php)  
14 [information/Evolution-of-Avian-Pathology-in-Europe-during-the-past-50-years.php](http://www.ltz.de/en/news/lohmann-information/Evolution-of-Avian-Pathology-in-Europe-during-the-past-50-years.php)>.  
15 Accessed: Oct, 10, 2019.
- 16 WIGLEY, P. *Salmonella enterica* serovar Gallinarum: addressing fundamental questions in  
17 bacteriology sixty years on from the 9R vaccine. **Avian Pathology**, v. 46, n. 2, p. 119-124,  
18 2017. Available from: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27791403>>. Accessed: Oct,  
19 10, 2019. doi: 10.1080/03079457.2016.1240866.  
20

- 1 Tabela 1. Perfil das 25 propriedades de criações avícolas alternativas visitadas nos municípios de Pelotas e  
 2 Piratini, RS.

Variável		n/N	Frequência (%)
Município de Origem	Pelotas	17/25	68,0
	Piratini	8/25	32,0
Sistema de Criação	Semi-intensivo	1/25	4,0
	Extensivo	24/25	96,0
Total de animais por propriedade	Até 50 aves	14/25	56,0
	Entre 50 e 100 aves	9/25	36,0
	Mais de 100 aves	2/25	8,0
Finalidade da criação	Subsistência	15/25	60,0
	Consumo e comercialização	9/25	36,0
	Comercialização	1/25	4,0
Tipo de Instalação	Vida Livre	6/25	24,0
	Aviário com acesso a piquete	19/25	76,0
Vacinação	Sim	2/25	8,0
	Não	23/25	92,0
Vermifugação	Sim	17/25	68,0
	Não	8/25	32,0
Contato com outras espécies de aves *	Sim	25/25	100,0
	Não	0/25	0,0
Tratamento com Antibióticos **	Sim	0/25	0,0
	Não	25/25	100,0
Assistência técnica	Sim	1/25	4,0
	Não	24/25	96,0

- 3 n: propriedades correspondentes as diferentes variáveis  
 4 N: total de propriedades analisadas  
 5 \*outras espécies de aves domésticas e/ou aves silvestres  
 6 \*\*tratamentos realizados 10 dias antes da coleta

### 2.3 Artigo 3

#### **Surto de aspergilose aviária em pintainhas (Isa Brown) de criação colonial na região sul do Rio Grande do Sul**

Rosimeri Zamboni; Taina dos Santos Alberti; Haide Valeska Scheid; Fabiano da Rosa Venancio; Carolina Buss Brunner; Otávia de Almeida Martins; Margarida Buss Raffi; Eliza Simone Viégas Sallis

Aceito para publicação na revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

1       **Surto de aspergilose aviária em pintainhas (Isa Brown) de criação**  
2                               **colonial na região sul do Rio Grande do Sul**  
3       **Outbreak of avian aspergillosis in colonial-bred chicks (Isa Brown) in**  
4                               **southern Rio Grande do Sul**

5  
6   **RESUMO**

7       Descrevem-se os aspectos epidemiológicos e patológicos de um surto de aspergilose  
8       aviária em criação alternativa na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. De um lote de  
9       4000 pintainhas, entre o quinto e décimo dia de vida, 360 aves apresentaram sinais  
10      clínicos inespecíficos e morreram. As aves foram alojadas em cama reutilizada do  
11      aviário, sem tratamento prévio. Na necropsia de 11 pintainhas (*Gallus gallus*  
12      *domesticus*), fêmeas, seis dias de idade da linhagem Isa Brown, foi observado no  
13      pulmão lesões multinodulares, branco-amareladas e firmes que se estendiam da pleura  
14      ao parênquima. Histologicamente foi observada pneumonia granulomatosa, multifocal a  
15      coalescente. Os granulomas eram caracterizados por necrose central, com infiltrado  
16      inflamatório de heterófilos, macrófagos, células epitelioides com presença de inúmeras  
17      hifas septadas intralésionais, semelhantes à letra “Y”, morfológicamente compatíveis  
18      com *Aspergillus* spp. O diagnóstico foi confirmado pelo isolamento de *Aspergillus*  
19      *fumigatus*. Alerta-se para a importância da aspergilose como causa primária de afecções  
20      no trato respiratório de aves jovens em criações alternativas. Medidas preventivas  
21      relacionadas ao manejo dessas aves são indispensáveis principalmente quanto à  
22      reutilização da cama dos aviários, a fim de evitar perdas econômicas, reduzir à  
23      contaminação ambiental e o potencial risco a saúde pública.

24  
25      Palavras chave: *Aspergillus fumigatus*, pneumonia granulomatosa, avicultura  
26      alternativa, aves jovens.

27   **ABSTRACT**

28      We describe the epidemiology, clinical signs, and pathology of an outbreak of avian  
29      aspergillosis in alternative breeding in the southern region of Rio Grande do Sul, Brazil.  
30      Between the fifth and tenth day of life, 360 chicks from a flock of 4000 developed  
31      unspecific clinical signs and died. The birds were housed in a reused aviary litter,  
32      without previous treatment. In 11 six-day-old female ISA Brown chicks (*Gallus gallus*



33 *domesticus*), necropsy revealed firm, yellowish-white, multinodular lesions extending  
34 from the pleura to the lung parenchyma. Histologically, a granulomatous, multifocal to  
35 coalescent pneumonia was observed. Granulomas were characterized by central  
36 necrosis, with heterophil and epithelioid macrophage infiltration and presence of  
37 countless Y-shaped intralesional septate hyphae morphologically compatible with  
38 *Aspergillus* spp. The diagnosis through isolation confirmed *Aspergillus fumigatus*. We  
39 highlight the importance of aspergillosis as a primary cause of diseases in the  
40 respiratory tract of young birds in alternative breeding. Measures to prevent  
41 aspergillosis mainly regarding the reuse of aviary litter are essential in poultry  
42 husbandry to prevent economic losses, reduce environmental contamination and  
43 mitigate the potential risk to public health.

44

45 Keywords: *Aspergillus fumigatus*, granulomatous pneumonia, alternative poultry farms,  
46 young birds.

47

## INTRODUCTION

48 *Aspergillus* spp. are saprophytic fungi found in soil, decaying vegetation, seeds,  
49 and grains. Some species are opportunistic pathogens of animals and humans, mainly  
50 causing secondary respiratory infections, with *A. fumigatus* being the species most often  
51 involved in the pathogenesis of avian aspergillosis (Kunkle, 2003; Ozhak-Baysan *et al.*,  
52 2010; Arné *et al.*, 2011; Cafarchia *et al.*, 2014). Aviary litter is rich in organic matter,  
53 which activates the proliferation and sporulation of *A. fumigatus*, producing a high  
54 number of conidia, which can remain viable for long periods in this environment and  
55 are easily dispersed in the air (Kunkle, 2003; Arné *et al.*, 2011).

56 The main virulence factor related to the pathogenesis of *A. fumigatus* is the small  
57 size of its conidia (2 to 10  $\mu\text{m}$ ) that allows inhalation and colonization of the lower  
58 airways of susceptible hosts (Oca *et al.*, 2017). High concentrations of conidia in the  
59 environment and prolonged host exposure to the fungus, together with anatomical  
60 characteristics of the respiratory tract of birds, are also considered important factors in  
61 the pathogenesis of aspergillosis (Arné *et al.*, 2011; Chotirmall *et al.*, 2013).

62 Avian aspergillosis has acute clinical signs in young birds (three days to 20  
63 weeks), with high morbidity and mortality rate. In adult birds, it presents a chronic  
64 leading to decrease productivity and consequently economic losses. Currently, the main

65 form of control of avian aspergillosis in the industrial poultry sector is prevention  
66 through the monitoring of hatcheries (Kunkle, 2003; Arné *et al.*, 2011; Dutta *et al.*,  
67 2017), but in the alternative poultry breeding there are few studies about the occurrence  
68 of this pathology.

69 The present study aimed to describe an outbreak of aspergillosis in colonial-bred  
70 chicks in the southern region of Brazil, highlighting epidemiological and pathological  
71 aspects.

72

73

### CASE REPORT

74 The outbreak of avian aspergillosis occurred in October 2018 at a breeding  
75 located in Third District of the municipality of Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil.  
76 There were approximately 6000 ISA Brown laying hens at the property, separated into  
77 two lots, the largest one consisting of 4000 5-day-old animals and the smallest of 2000  
78 hens aged 16 months. The semi-intensive system was used; all animals were housed in a  
79 single shed, and the two lots were separated by a metal screen.

80 The new flock of chicks had been housed on reused aviary litter, without prior  
81 treatment. In those birds, size differences were observed, and on the fifth day of life,  
82 some animals had developed lethargy, anorexia, and drooping wings. From the onset of  
83 clinical signs to the tenth day of age, 360 birds (9%) died.

84 Eleven six-day old female chicks (*Gallus gallus domesticus*), Isa Brown lineage,  
85 were forwarded to the Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD) of Faculdade de  
86 Veterinária (FV) at the Universidade Federal de Pelotas (UFPel). In the necropsy, brain  
87 and celomatic cavity organs fragments were collected and fixed in 10% buffered  
88 formalin. After 48h, the organs were embedded in paraffin, cut into sections 3µm thick,  
89 and stained with hematoxylin–eosin (HE) and Grocott's methenamine silver. Lung  
90 fragments were sent to the Laboratório de Micologia Veterinária (MicVet), of  
91 FV/UFPel for fungal cultures. Briefly, fragments were sown on cycloheximide-free  
92 medium (Sabouraud dextrose agar) supplemented with chloramphenicol (0.05 mg/ml)  
93 and incubated at 37°C for five days, with daily observation.

94 Macroscopically, exposure of the celomatic cavity revealed firm, multinodular,  
95 white-yellowish lesions extending from the pleura to the lung parenchyma (Figs. 1A,  
96 1B, and 1C).

97

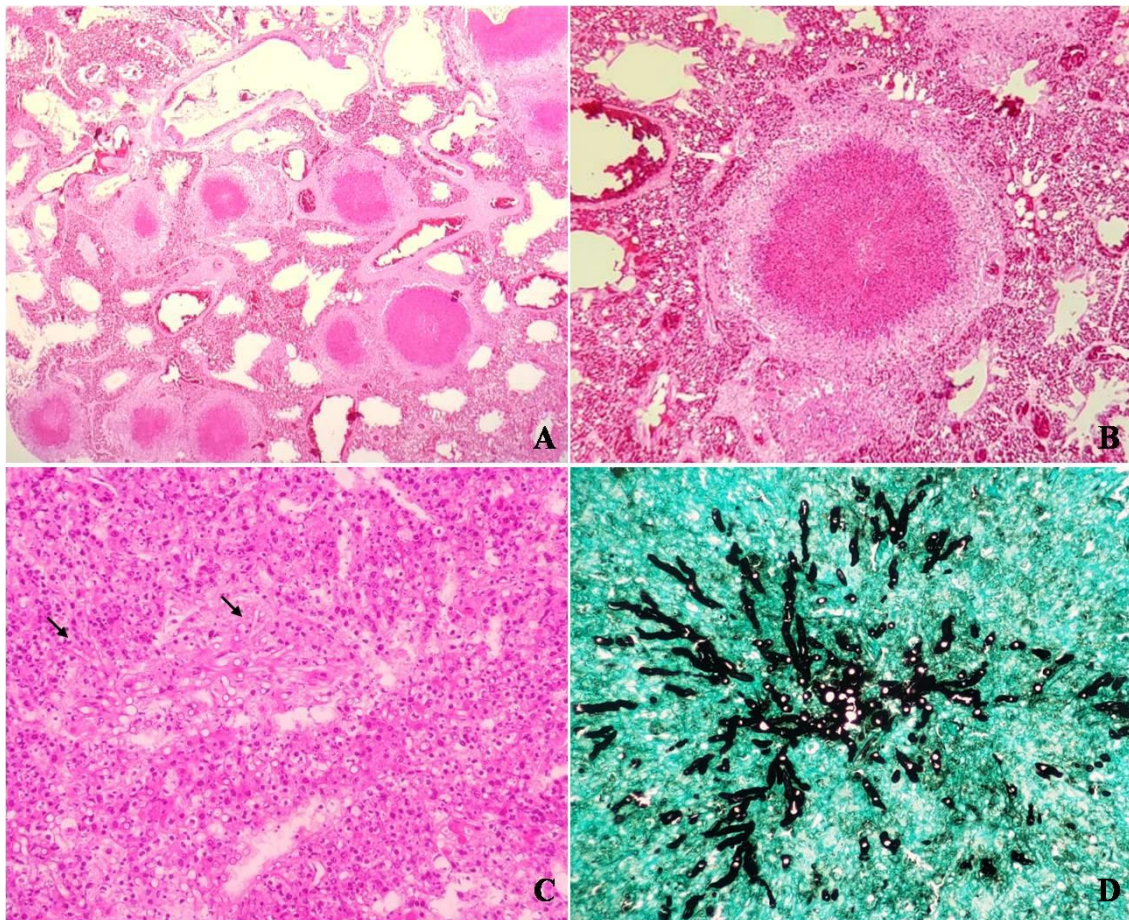


98

99 Figure 1. Chicks. Isa Brown, 6-day-old. 1A. Celomatic cavity: *In situ* observation of celomatic cavity's  
 100 organs from 11 necropsied birds. In the pulmonary pleura there were numerous nodules, multifocal to  
 101 coalescent, yellowish-white (arrow). No involvement of air sacs or injuries to other organs was observed.  
 102 1B and 1C. Lungs: Multifocal nodular to coalescent lesions, yellowish-white, firm to the cut,  
 103 compromising pleura and pulmonary parenchyma.

104

105 Histologically, there was a multifocal-to-coalescent granulomatous pneumonia  
 106 (Fig. 2A). The granulomas were characterized by central necrosis (Fig. 2B), with  
 107 infiltration of heterophiles, macrophages, and epithelioid cells; numerous Y-shaped  
 108 intralesional septate hyphae were observed, morphologically consistent with *Aspergillus*  
 109 spp. (Fig. 2C). Grocott's methenamine-silver nitrate stain clearly showed hyphae of  
 110 regular diameter, with septations into dichotomous branches, often at acute angles (Fig.  
 111 2D).



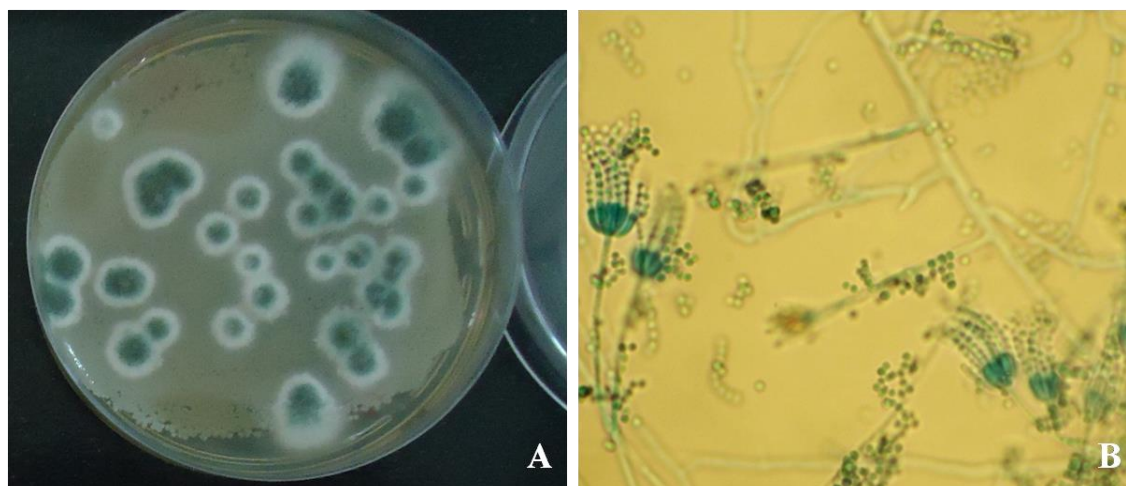
112

113 Figure 2. Chicks. Isa Brown, 6-day-old. 2A. Lung: Numerous granulomas with multifocal to coalescent  
 114 distribution throughout the lung parenchyma. HE, obj. 4X. 2B. Lung: Granuloma characteristic of  
 115 aspergillosis, exhibiting central necrosis. HE, obj. 10X. 2C. Pulmonary granuloma: Intralesional septate  
 116 hyphae, similar to the letter "Y" (arrows), morphologically compatible with *Aspergillus* spp., located in  
 117 the necrosis areas in the central region of granulomatous lesions. HE, obj. 40X. 2D. Pulmonary  
 118 granuloma: Evidence of septate fungal hyphae through silver impregnation of the external wall of the  
 119 fungus. Grocott, obj. 40X.

120

121 In the mycological culture, colonies characteristic of *Aspergillus fumigatus* were  
 122 observed (Fig. 3A). Microscopy revealed fungal hyphae bifurcated at an acute angle of  
 123 45°, conidiophores with a swollen apex (vesicle), conidia, metulae, and phialides (Fig.  
 124 3B). Direct examination of the colonies was performed by placing a filament of fungal  
 125 culture between the slide and coverslip with a sterile loop and staining with lactophenol  
 126 cotton blue. Slides were then observed at a magnification of 100 to 400x.





127

128 Figura 3. Mycological culture of lung samples from 11 chicks, Isa Brown, six days old. Figura 3A. Dark  
 129 gray, filamentous fungal colonies characteristics of *Aspergillus fumigatus*. Sabouraud dextrose agar. 3B.  
 130 Bifurcated fungal mycelia at an acute angle of 45°, conidiophores with a swollen apex, conidia, metulae,  
 131 and phialides. Lactophenol cotton blue, obj 400X.

132

133

### DISCUSSION

134

135

136

137

138

139

The diagnosis of avian aspergillosis was based on epidemiological data, characteristic macroscopic and histological lesions with the presence of intralesional fungal hyphae, together with the isolation of *A. fumigatus*. Avian aspergillosis has a greater economic impact on the industrial poultry sector (mortality and economic losses) and causes mortality in wild birds (Arné *et al.*, 2011; Oca *et al.* 2017). However, the impact of this pathogenic agent on alternative poultry breeding is unknown.

140

141

142

143

144

145

146

147

148

149

Although *A. fumigatus* is considered an opportunistic fungus associated with other pathogens, it has been described as a primary cause of granulomatous pneumonia and airsacculitis in birds, affecting even immunocompetent individuals (Kunkle, 2003; McClenny *et al.*, 2005; Arné *et al.*, 2011; Dutta *et al.*, 2017; Oca *et al.* 2017). Unlike mammals that develop pulmonary aspergillosis when in immunosuppressive conditions, birds are more susceptible to infections by fungi of the *Aspergillus* genus, mainly due to anatomical characteristics of the respiratory tract observed in this species (Kunkle, 2003; Tell, 2005; Arné *et al.* , 2011). In the present report, in the analyzes carried out, there was no growth of other fungal and/or bacterial agents, reinforcing that *A. fumigatus* was the primary cause of chick mortality.

150

151

Younger birds are more susceptible to infections, especially in the first days of life and when exposed to high concentrations of *Aspergillus* spp. conidia. Infections

152 tend to have high morbidity and mortality (Kunkle, 2003; Arné *et al.*, 2011; Dutta *et al.*,  
153 2017). In the present report, the disease occurred acutely and severely, with 9%  
154 mortality. This mortality rate and the clinicopathological presentation of this outbreak  
155 are probably attributable to the form of infection (inhaled), as well as to other factors  
156 that influenced the natural immune resistance of the affected chicks, such as age,  
157 transport stress and environmental contamination. Similar data have been described in  
158 alternative poultry breeding, with different morbidity and mortality rates varying  
159 according to the conditions of each breeding analyzed (Eassa *et al.*, 2017).

160 The reuse of aviary litter is standard practice in industrial aviculture, but  
161 treatment prior to reuse for new lots, and for chicks it is recommended to exchange  
162 (Beernaert *et al.*, 2010; Chotirmall *et al.*, 2013). When reused inappropriately, the litter  
163 becomes an important source of infection for birds, since it presents conditions of  
164 humidity, temperature and substrate are favorable to the development and permanence  
165 of *Aspergillus* spp. in the aviary for long periods (Kunkle, 2003; Throne Steinlage *et al.*,  
166 2003; McClenny *et al.*, 2005; Arné *et al.*, 2011).

167 In the case, the probable source of infection was the reuse of aviary litter  
168 handled incorrectly, being reused for chicks and without previous treatment. As  
169 observed in the present report, in many alternative creations, countless practices adopted  
170 in the birds and aviaries management, are not carried out according to what is  
171 recommended. Considering this epidemiological finding, colonization of the respiratory  
172 tract of the affected chicks was caused by a high concentration of *A. fumigatus* conidia  
173 in environment, as well as additional factors that increased the susceptibility of this  
174 flock. In addition to the microclimate of the aviary, the climate of the municipality of  
175 Pelotas, with high relative humidity rates (80%) and average temperatures (24°C) in  
176 October 2018 (INMET, 2018), favored the development of fungal agents in the  
177 environment.

178 Correct management, control of the aviary microclimate (temperature and  
179 humidity), and appropriate cleaning procedures (removal of feces, use of disinfectants)  
180 are essential to controlling environmental contamination by *Aspergillus* spp. (Ozhak-  
181 Baysan *et al.*, 2010; Arné *et al.*, 2011; Cafarchia *et al.*, 2014). In the case reported  
182 herein, after the diagnosis of aspergillosis, deaths ceased once the aviary litter was  
183 changed, a fact that corroborates the hypothesis that the source of infection in this

184 outbreak was the practice of reusing litter without prior sanitization. Due to the high  
185 cost of specific antifungals, only management changes were used to control mortality in  
186 the affected flock. Although there are numerous antifungal protocols for the treatment  
187 of aspergillosis, they are financially unfeasible for commercial poultry breeding  
188 (Beernaert *et al.*, 2009).

189 Avian aspergillosis is important not only as an opportunistic pathogen, but also  
190 as a primary agent of respiratory tract disorders in young poultry. Preventive measures  
191 should be taken, especially regarding the reuse of aviary litter (a key predisposing factor  
192 for the contamination of susceptible hosts), to reduce economic losses and mitigate risks  
193 to public health.

194

## 195 REFERÊNCIAS

196 ARNÉ, P.; THIERRY, S.; WANG, D.; et al. *Aspergillus fumigatus* in poultry. Int. J.  
197 Microbiol., ID 746356, p.1-14, 2011.

198

199 BEERNAERT, L.A.; PASMANS, F.; VAN WAEYENBERGHE, L.; et al. *Aspergillus*  
200 infections in birds: a review. Avian Pathol., v.39, n.5, p.325–331, 2010.

201

202 CHOTIRMALL, S.H.; AL-ALAWI, M.; MIRKOVIC, B.; et al. *Aspergillus*-associated  
203 airway disease, inflammation, and the innate immune response. Bio. Med. Res. Int. ID  
204 723129, p.1-14, 2013.

205

206 DUTTA, B.; KONCH, P.; GOGOI, S.M.; et al. Clinicopathological studies of brooder  
207 pneumonia in broiler chicken. Int. J. Chem. Stud., v.5, n.3, p.510-512, 2017.

208

209 FULLERINGER, S.L.; SEGUIN, D.; WARIN, S.; et al. Evolution of the environmental  
210 contamination by thermophilic fungi in a turkey confinement house in France. Poultr.  
211 Sci., v.85, p.1875–1880, 2006.

212

213 IBRAHIM-GRANET, O.; JOUVION, G.; HOHL, T.M.; et al. In vivo bioluminescence  
214 imaging and histopathologic analysis reveal distinct roles for resident and

- 215 recruited immune effector cells in defense against invasive aspergillosis. BMC  
216 Microbiol., v.10, p.105, 2010.
- 217
- 218 INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – INMET. Boletim  
219 Agroclimatológico Mensal, mensal de outubro – 2018. v.53, n.10, p.1-41, 2018.
- 220
- 221 KUNKLE, R.A. Aspergillosis. In: SAIF, Y.M.; BARNES, H.J.; GLISSON, J.R. (Eds).  
222 Diseases of Poultry. Iowa: Iowa State University Press, 2003, p.883–895,
- 223
- 224 MCCLENNY, N. Laboratory detection and identification of *Aspergillus* species by  
225 microscopic observation and culture: the traditional approach. Med. Mycol., v.43, n.1,  
226 p.125–128, 2005.
- 227
- 228 OCA, V.M; VALDÉS, S.E.; SEGUNDO, C.; et al. Aspergillosis, a natural infection in  
229 poultry: mycological and molecular characterization and determination of gliotoxin in  
230 *Aspergillus fumigatus* isolates. Avian Dis., v.61, p.77–82, 2017.
- 231
- 232 OZHAK-BAYSAN, B.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; SABA, R.; et al. *Aspergillus*  
233 *alliaceus* and *Aspergillus flavus* co-infection in an acute myeloid leukemia patient. Med.  
234 Mycol., v.48, n.7, p.995–999, 2010.
- 235
- 236 TELL, L.A. Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. Med.  
237 Mycol, v.43, p.71-73, 2005.
- 238
- 239 THRONE STEINLAGE, S.J.; SANDER, J.E.; BROWN, T.P.; et al. Disseminated  
240 mycosis in layer cockerels and pullets. Avian Dis., v.47, n.1, p.229–233, 2003.



## 2.4 Artigo 4

### **Histomoníase em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) no Rio Grande do Sul**

Rosimeri Zamboni; Taina dos Santos Alberti; Haide Valeska Scheid; Fabiano da Rosa Venancio; Carolina Buss Brunner; Gilberto D'Ávila Vargas; Margarida Buss Raffi; Eliza Simone Viégas Sallis

Submetido à revista Medicina Veterinária (UFRPE)

1 **Histomoníase em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações coloniais no sul do**

2 **Brasil**

3 **(Histomoniasis in poultry (*Gallus gallus domesticus*) of colonial creations in southern**

4 **Brazil)**

5  
6 **Resumo**

7 Relata-se a ocorrência de histomoníase em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) de  
8 criações coloniais no sul do Brasil. Os casos ocorreram em duas propriedades, localizadas nos  
9 municípios de Santa Vitória do Palmar (propriedade 1) e Pelotas (propriedade 2). As aves  
10 afetadas, em ambas propriedades, eram jovens e apresentaram emagrecimento, apatia e  
11 anorexia com taxa de mortalidade de aproximadamente 35%. De um total de 35 aves, 12  
12 animais apresentaram sinais clínicos evoluindo para morte na propriedade 1 e, na propriedade  
13 2, de 19 galinhas, sete foram afetadas. Na necropsia das aves, foi observado na superfície  
14 capsular e parênquima hepático nódulos branco-amarelados, multifocais a coalescentes, por  
15 vezes, com área central deprimida e circundados por halo pálido medindo até 2,0 mm. O ceco  
16 estava dilatado, com lesões elevadas, amareladas e multifocais, estendendo-se da serosa à  
17 mucosa, exibindo ainda com parede espessada contendo material caseoso na luz do órgão.  
18 Microscopicamente observou-se hepatite e tiflite piogranulomatosa necrosante com  
19 numerosos trofozoítos de *Histomonas meleagridis* intralesionais. O diagnóstico de  
20 histomoníase foi confirmado através dos achados histopatológicos e pela coloração de Ácido  
21 Periódico de Schiff. Alerta-se para a ocorrência de histomoníase como causa de mortalidade  
22 em aves de criação colonial.

23 **Palavras-chaves:** Galinha colonial; enterohepatite; *Histomonas meleagridis*; protozoário.

24  
25 **Abstract**

26 Histomoniasis has been reported in domestic poultry (*Gallus gallus domesticus*) from colonial  
27 farms in southern Brazil. The cases occurred in two properties, located in the municipalities of  
28 Santa Vitória do Palmar (property 1) and Pelotas (property 2). The affected birds, in both  
29 properties, were young and showed weight loss, apathy and anorexia with a mortality rate of  
30 approximately 35%. Of a total of 35 birds, 12 animals showed clinical signs evolving to death  
31 on property 1 and, on property 2, of 19 chickens, seven were affected. In the necropsy of the  
32 birds, white-yellow, multifocal to coalescent nodules were observed on the hepatic capsular  
33 surface and parenchyma, sometimes with a depressed central area and surrounded by a pale  
34 halo measuring up to 2.0 mm. The cecum was dilated, with elevated, yellowish and multifocal  
35 lesions, extending from the serosa to the mucosa, showing also with a thickened wall  
36 containing caseous material in the organ's lumen. Microscopically, necrotizing  
37 pyogranulomatous hepatitis and typhlitis were observed with numerous intralesional  
38 *Histomonas meleagridis* trophozoites. The diagnosis of histomoniasis was confirmed through  
39 histopathological findings and Schiff's Periodic Acid (PAS) staining. It is alert to the  
40 occurrence of histomoniasis as a cause of mortality in poultry.

41 **Keywords:** Colonial poultry; enterohepatitis; *Histomonas meleagridis*; protozoan.

42

### 43 **Introdução**

44 Histomoníase é uma doença infecciosa causada pelo protozoário flagelado *Histomonas*  
45 *meleagridis*, conhecida, também, como “blackhead” (cabeça negra). Afeta galináceos e  
46 caracteriza-se pelo desenvolvimento de lesões necrosantes, principalmente em fígado e ceco  
47 (Cortes et al., 2004; McDougald, 2005; Liebhart et al., 2008; Sentíes-Cué et al., 2009).

48 *H. meleagridis* é responsável por significativas perdas econômicas na produção  
49 avícola, sendo a segunda causa de mortalidade, dentre as doenças causadas por protozoários  
50 (Dolka et al., 2015). Em aves de produção é relatada com maior frequência em criações

51 alternativas, podendo apresentar morbidade e mortalidade elevadas (McDougald, 2005;  
52 Araújo et al., 2015). Os perus são considerados a espécie mais suscetível à infecção, sendo  
53 escassos os relatos em galinhas domésticas e aves silvestres (McDougald, 2005; Singh et al.,  
54 2008; Liebhart et al., 2008; Powell et al., 2009; Sentíes-Cué et al., 2009; McDougald et al.,  
55 2012; Araújo et al., 2015).

56 A principal forma de transmissão ocorre pela ingestão de ovos embrionados do  
57 nematóide cecal *Heterakis gallinarum* (hospedeiro intermediário) contendo os trofozoítos de  
58 *H. meleagridis* (McDougald, 2005; Powell et al., 2009). O maior número de casos de  
59 histomoníase é relatado em perus nos Estados Unidos e na Europa (Hu et al., 2003; Huber et  
60 al., 2005; Liebhart et al., 2008; Sentíes-Cué et al., 2009). No Brasil, a doença foi descrita em  
61 perus no estado do Rio de Janeiro (Brener et al., 2006), em pavões no Rio Grande do Sul e  
62 Paraná (Trindade et al., 2011; Michelazzo et al., 2017; Costa et al., 2018), em frangos caipiras  
63 na Paraíba (Araújo et al., 2015) e em aves ornamentais no Rio Grande do Sul (Oliveira et al.,  
64 2017).

65 Este trabalho tem como objetivo descrever a ocorrência de histomoníase como causa  
66 de morte em aves de criação colonial no sul do Brasil.

67

## 68 **Material e Métodos**

69 Foram encaminhadas para exame anatomopatológico, ao Laboratório Regional de  
70 Diagnóstico (LRD) da Faculdade de Veterinária (FV) da Universidade Federal de Pelotas  
71 (UFPEL), quatro galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) de diferentes criações  
72 avícolas coloniais, localizadas nos municípios de Santa Vitória do Palmar (propriedade 1) e  
73 Pelotas (propriedade 2), no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Das quatro aves  
74 necropsiadas, uma era oriunda da propriedade 1 e três da propriedade 2. Nas necropsias foram  
75 coletados e fixados em formalina tamponada à 10%, fragmentos dos órgãos da cavidade

76 celomática e encéfalo. Posteriormente, as amostras foram processadas rotineiramente e  
77 coradas pela técnica de hematoxilina e eosina (HE). Cortes do ceco e fígado foram  
78 selecionados e submetidos à coloração especial pelo Ácido Periódico de Schiff (PAS).

79

## 80 **Descrição dos casos**

81 Na propriedade 1, 12 aves de um lote de 35 galinhas, com aproximadamente 90 dias  
82 de idade, apresentaram emagrecimento, apatia e anorexia. A evolução do quadro clínico até a  
83 morte foi de aproximadamente 15 dias. As aves permaneciam em gaiolas durante os primeiros  
84 30 dias de vida, após esse período, eram soltas em um local com outras aves de diferentes  
85 idades e espécie, gansos (*Anser anser*) e patos (*Anas platyrhynchos*). Na propriedade 2, de um  
86 lote de 19 galinhas de idades variadas, sete aves com idade entre 24 e 28 semanas,  
87 apresentaram emagrecimento, apatia, anorexia e icterícia evoluindo para a morte. As aves  
88 eram criadas em sistema extensivo juntamente com patos, sendo confinadas no período da  
89 noite. Na propriedade 1 a taxa de mortalidade do surto foi de 34,3% (12/35) e na propriedade  
90 2 foi de 36,8% (7/19). Nas duas propriedades havia histórico de mortes das galinhas.

91 No exame externo de todas as aves necropsiadas (n=4) (propriedades 1 e 2) observou-  
92 se marcada emaciação das carcaças. Macroscopicamente os fígados (4/4) estavam aumentados  
93 de tamanho e na superfície capsular havia nódulos branco-amarelados, multifocais a  
94 coalescentes, por vezes, com área central deprimida e circundada por halo pálido medindo até  
95 2,0 mm (Figura 1A). Ao corte, as lesões estendiam-se da superfície capsular ao parênquima  
96 hepático (Figura 1B). Os cecos (4/4) estavam dilatados, com lesões amareladas estendendo-se  
97 da serosa à mucosa do órgão. Ao corte, os cecos tinham as paredes espessadas e friáveis de  
98 aspecto caseoso (Figura 2). Nas três aves oriundas da propriedade 2, no ceco havia inúmeros  
99 exemplares do nematódeo *H. gallinarum*.

100 Microscopicamente no fígado havia áreas multifocais a coalescentes de necrose com  
101 infiltrado inflamatório composto por macrófagos, células epitelióides, células gigantes  
102 multinucleadas, linfócitos, plasmócitos e heterófilos. Em meio à área de necrose, observaram-  
103 se inúmeras estruturas ovais, por vezes esféricas, com citoplasma eosinofílico, fracamente  
104 corada, circundada por halo claro e fina parede (Figura 3A). Essas estruturas variavam de  
105 tamanho (7-15 µm de diâmetro) sendo morfológicamente compatíveis com trofozoítos de *H.*  
106 *meleagridis*. Nos cecos, estendendo-se da mucosa à serosa, havia múltiplos focos de necrose  
107 com infiltrado inflamatório de heterófilos, linfócitos, macrófagos e células gigantes  
108 multinucleadas, associados a protozoários intralésionais como os descritos no fígado. Pela  
109 técnica de PAS as membranas do protozoário coraram em vermelho (Figura 3B).

110

## 111 **Discussão**

112 No presente trabalho, o diagnóstico de histomoníase foi baseado nos dados  
113 epidemiológicos das duas criações, lesões macroscópicas e histológicas observadas no ceco e  
114 fígado das aves necropsiadas, juntamente com características morfológicas do agente na  
115 coloração especial de PAS. Em todas as aves necropsiadas não foram observadas lesões  
116 associadas a outros patógenos, sendo a enterohepatite necrosante associada a infecção por *H.*  
117 *meleagridis* a causa da morte das aves, como descrito por outros autores (Liebhart et al.,  
118 2008; Trindade et al., 2011; Araújo et al., 2015; Oliveira et al., 2017; Costa et al., 2018).

119 Neste estudo, nas aves da propriedade 2 foi observado *H. gallinarum*, o principal  
120 agente da disseminação e manutenção do ciclo do protozoário (Araújo et al., 2015;  
121 Michelazzo et al., 2017). Na propriedade 1, visto que não foram observados exemplares do  
122 nematódeo no ceco das aves necropsiadas, acredita-se que a transmissão do protozoário  
123 ocorreu de forma direta, de ave para ave, através das fezes contaminadas, apesar de essa ser  
124 uma forma de transmissão menos frequente do *H. meleagridis* (McDougald, 2005; Hauck et

125 al., 2010). Este fato, porém, não exclui o envolvimento de *H. gallinarum* do ciclo de  
126 contaminação dessas aves, considerando que, as aves da propriedade 1 recebiam vermífugo  
127 esporadicamente.

128 Nas duas propriedades a doença ocorreu com mortalidade elevada, em torno de 35%,  
129 afetando aves jovens e adultas entre 12 e 28 semanas. Apesar de aves entre três e sete  
130 semanas de idade serem mais suscetíveis a infecção por *H. melagridis* (Hu et al., 2006;  
131 Senties-Cué et al., 2009), em criações consorciadas de galináceos de diferentes idades e  
132 espécies, o risco à infecção é consideravelmente maior (Van Der Heijden e Landman, 2011;  
133 Araújo et al., 2015), sendo esta a provável causa da ocorrência da doença em aves de idades  
134 variadas, nos casos relatados. Ainda, nas criações avícolas coloniais as aves adultas são  
135 consideradas mais resistentes a histomoníase, tornando-se importantes fontes de infecção  
136 como portadoras assintomáticas do protozoário (McDougald, 2005; Costa et al., 2018). Neste  
137 estudo, o sistema avícola extensivo e a criação conjunta de aves adultas com aves jovens,  
138 foram os principais fatores que favoreceram a disseminação e contaminação ambiental, tanto  
139 por *H. melagridis* quanto por *H. gallinarum*, resultando nos altos índices de mortalidade.

140 O crescente interesse por alimentos saudáveis, naturais, livres de conservantes e  
141 agrotóxicos, bem como, pelo bem-estar das aves dentro dos sistemas de produção, tem  
142 estimulado a utilização de sistemas avícolas alternativos (Vieites et al., 2016). Nesse contexto,  
143 a histomoníase vem sendo considerada uma doença reemergente, em decorrência do aumento  
144 do número de criações alternativas de aves (Michelazzo et al., 2017), entretanto, na avicultura  
145 brasileira são escassas as informações a respeito dessa patologia (Brener et al., 2006; Trindade  
146 et al., 2011; Araújo et al., 2015; Michelazzo et al., 2017; Oliveira et al., 2017; Costa et al.,  
147 2018). Assim, a crescente utilização dos sistemas alternativos pode favorecer a ocorrência da  
148 histomoníase, uma vez que, essa forma de criação propicia o desenvolvimento do ciclo do  
149 protozoário.

## 150 **Considerações Finais**

151 Destaca-se a infecção por *Histomonas meleagridis* como causa de morte em galinhas  
152 domésticas, criadas em sistemas alternativos na região sul Brasil. Ainda, considera-se que  
153 forma de criação e o déficit no manejo sanitário tanto dessas aves quanto do ambiente no qual  
154 vivem foram os principais fatores predisponentes ao desenvolvimento da histomoníase. Desse  
155 modo, medidas preventivas de biosseguridade devem ser tomadas, prevenindo a infecção e a  
156 disseminação desse protozoário nas criações avícolas coloniais.

157

## 158 **Conflito de Interesse**

159 Os autores declaram não existir conflito de interesse.

160

## 161 **Comitê de Ética**

162 O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação  
163 Animal (CEEAA) da Universidade Federal de Pelotas, sob o número 23110.000339/2013/97.

164

## 165 **Referências**

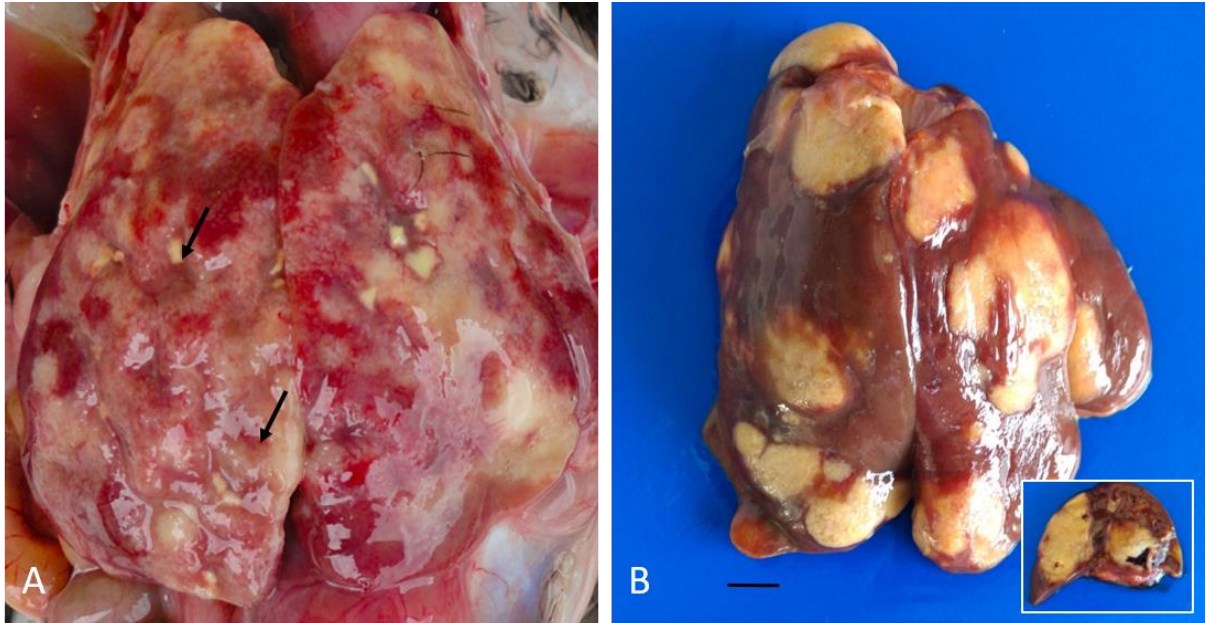
166 Araújo, J.L.; Olinda, R.G.; Frade, M.T.S.; Maia, L.A.; Dantas, A.F.M. Surto de histomoníase  
167 em frangos caipiras no semiárido da Paraíba, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, 36(1): 307-  
168 312, 2015.

169 Brener, B.; Tortelly, R.; Menezes, R.C.; Muniz-Pereira, L.C.; Pinto, R.M. Prevalence and  
170 pathology of the nematode *Heterakis gallinarum*, the trematode *Paratanaisia bragai*, and the  
171 protozoan *Histomonas meleagridis* in the turkey, *Meleagris gallopavo*. **Memórias do**  
172 **Instituto Oswaldo Cruz**, 101(6): 677-681, 2006.



- 173 Costa, R.A.; Pereira, A.P.M.; Silveira, C.S.; Anjos, B.L. Infecção natural por *Histomonas*  
174 *meleagridis* em pavões-indianos (*Pavo cristatus*). **Acta Scientiae Veterinariae**, 46(1): 333,  
175 2018.
- 176 Cortes, P.L.; Chin, R.P.; Bland, M.C.; Crespo, R.; Shivaprasad, H.L. Histomoniasis in the  
177 bursa of Fabricius of chickens. **Avian Diseases**, 48(3): 711-715, 2004.
- 178 Dolka, B.; Zbikowski, A.; Dolka, I.; Szeleszczuk, P. Histomonosis - na existing problem in  
179 chicken flocks in Poland. **Veterinary Research Communications**, 39(3): 189-195, 2015.
- 180 Hauck, R.S.; Balczulat, S.; Hafez, H.M. Detection of DNA of *Histomonas meleagridis* and  
181 *Tetratrichomonas gallinarum* in German poultry flocks between 2004 and 2008. **Avian**  
182 **Diseases**, 54(3): 1021-1025, 2010.
- 183 Hu, J.; Fuller, L.; Armstrong, P.L.; McDougald, L.R. *Histomonas meleagridis* in chickens:  
184 attempted transmission in the absence of vectors. **Avian Diseases**, 50(2): 277-279, 2006.
- 185 Huber, K.; Chauve, C.; Zenner, L. Detection of *Histomonas meleagridis* in turkeys cecal  
186 droppings by PCR amplification of the small subunit ribosomal DNA sequence. **Veterinary**  
187 **Parasitology**, 131(3): 311-316, 2005.
- 188 Liebhart, D.; Grabensteiner, E.; Hess, M. Oral infection of turkeys with in vitro-cultured  
189 *Histomonas meleagridis* results in high mortality. **Avian Pathology**, 38(3): 223-227, 2008.
- 190 McDougald, L.R. Blackhead disease (histomoniasis) in poultry: a critical review. **Avian**  
191 **Diseases**, 49(4): 462-476, 2005.
- 192 McDougald, L.R.; Abraham, M.; Beckstead, R.B. An outbreak of blackhead disease  
193 (*Histomonas meleagridis*) in farm-reared bobwhite quail (*Colinus virginianus*). **Avian**  
194 **Diseases**, 56(4): 754-756, 2012.
- 195 Michelazzo, M.M.Z.; Sasse, J.P.; Souza, M.; Marutani, V.H.B.; Sampaio Baptista, A.A.;  
196 Garcia, J.L.; Alfieri, A.A.; Headley, S.A. Systemic histomoniasis in a Leucistic Indian  
197 Peafowl (*Pavo cristatus*) from Southern Brazil. **Avian Diseases**, 61(3): 325-329, 2017.

- 198 Oliveira, L.G.S.; Boabald, F.M.; Lorenzett, M.P.; Rolim, V.; Santos, H.F.; Driemeier, D.;  
199 Cruz, C.E.F. Outbreaks of Mycoplasmosis and Histomoniasis in a Southern Brazilian Flock of  
200 Ornamental Birds. **Acta Scientiae Veterinariae**, 45(Suppl 1): 200, 2017.
- 201 Powell, F.L.; Rothwell, L.; Clarkson, M.J.; Kaiser, P. The turkey, compared to the chicken,  
202 fails to mount an effective early immune response to *Histomonas meleagridis* in the gut.  
203 **Parasite Immunology**, 31(6): 312–327, 2009.
- 204 Senties-Cué, G.; Chin, R.P.; Shivaprasad, H.L. Systemic histomoniasis associated with high  
205 mortality and unusual lesions in the bursa of fabricius, kidneys, and lungs in commercial  
206 turkeys. **Avian Diseases**, 53(2): 231-238, 2009.
- 207 Singh, A.; Weissenbock, H.; Hess, M. *Histomonas meleagridis*: immunohistochemical  
208 localization of parasitic cells in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections of  
209 experimentally infected turkeys demonstrates the wide spread of the parasite in its host.  
210 **Experimental Parasitology**, 118(4): 505–513, 2008.
- 211 Trindade, M.M.; Scheneiders, G.; Correa, I.M.O.; Flores, M.; Kommers, G.D. Histomoníase  
212 em pavão (*Pavo cristatus*). **A Hora Veterinária**, 31(184):56-58, 2011.
- 213 Van Der Heijden, H.M.J.F.; Landman, W.J.M. High Seroprevalence of *Histomonas*  
214 *meleagridis* in dutch layer chickens. **Avian Diseases**, 55(2): 324-327, 2011.
- 215 Vieites, F.; Souza, C.S.; Salinas, J.A.P. Bien estar animal em los procesos de producción  
216 avícola –experiencias brasileiras. **Revista Colombiana de Zootecnia**, 2(3): 17-22, 2016.



217

218 Figural. Lesões hepáticas associadas a histomoníase em galinhas de criação colonial. (A)

219 Fígado: marcadamente aumentado de tamanho exibindo nódulos branco-amarelados,

220 multifocais a coalescentes com área central deprimida (setas). (B) Fígado: nódulos branco-

221 amarelados, multifocais a coalescentes, medindo até 2 mm de diâmetro. Superfície de corte,

222 lesão caseosa observada na superfície capsular comprometendo parênquima hepático (inset).

223 Bar = 1cm.

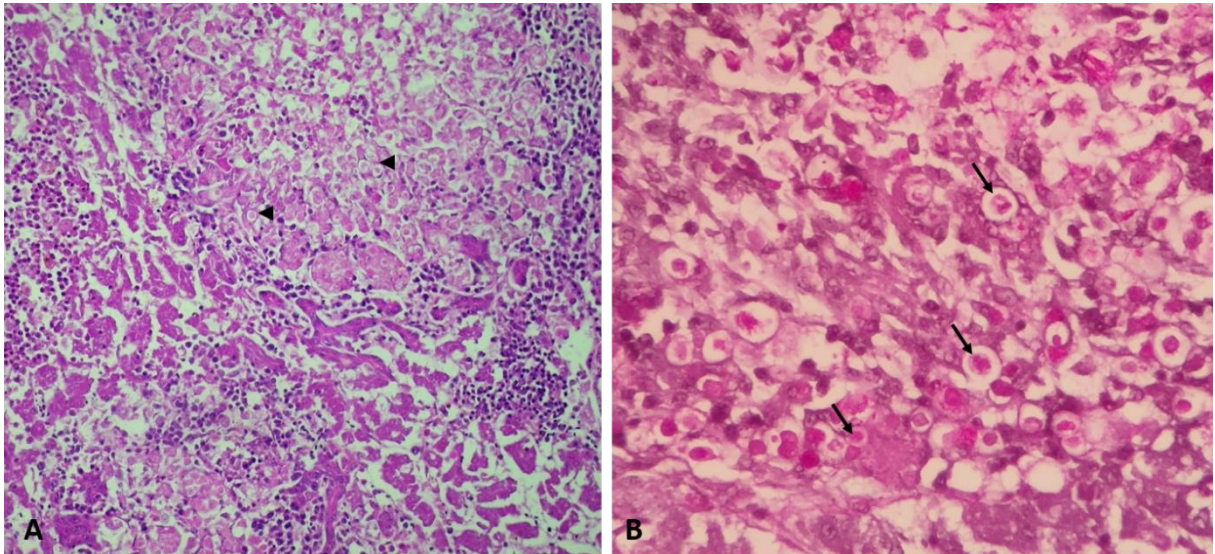
224



225

226 Fig. 2. Lesão macroscópica por histomoníase em ceco de galinha de criação colonial. Ceco:  
 227 distendido, com serosa exibindo lesão nodular amarelada que se estende até a mucosa (seta).  
 228 Na abertura do órgão observa-se material amarelado, friável e amorfo. Parede cecal espessa  
 229 contendo material caseoso no lúmen (inset).

230



231

232 Fig.3. (A) Fígado: Áreas multifocais de necrose, circundadas por infiltrado inflamatório, na  
 233 região central dessas áreas há inúmeros trofozoítos (cabeças de seta) morfologicamente  
 234 compatíveis com *Histomonas meleagridis* (7-15  $\mu$ m de diâmetro). HE 10X. (B) Fígado:  
 235 inúmeros trofozoítos em meio às áreas de necrose, marcados positivamente na coloração de  
 236 PAS. PAS 40X.

### **3 Considerações Finais**

Os resultados obtidos nos estudos desenvolvidos nesta tese demonstraram que as principais doenças diagnosticadas em galinhas de criação colonial no LRD/FV/UFPel nos anos de 2000 a 2019 foram as bacterianas, seguidas das parasitárias. Destacou-se ainda, a ocorrência *Salmonella* spp. sorotipo Gallinarum, biovars Gallinarum e Pullorum nessas criações. Outras patologias como aspergilose aviária e histomoníase, destacaram-se nesse estudo, uma vez que, estas são importantes enfermidades que afetam galináceos, com significativas perdas econômicas.

Dentre todas as patologias discutidas nesta tese o sistema de criação alternativo e o manejo sanitário inadequado, tanto das aves quanto do ambiente, foram considerados os principais fatores relacionados à ocorrência dessas enfermidades. Sendo, ainda, a ausência de assistência técnica nessas criações um fator importante relacionado aos problemas sanitários observados na epidemiologia das aves analisadas.

## Referências

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2019**. p.1-167, 2019. Disponível em: < <http://cleandrodias.com.br/wp-content/uploads/2019/05/RELATO%C3%ACRIO-ANUAL-ABPA-2019.pdf>>. Acesso em: 04 jan. 2020.

ABREU, V. M. N.; ABREU, P. G. Os desafios da ambiência sobre os sistemas de aves no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.1-14, 2011.

ARAÚJO, J. L.; OLINDA, R. G.; FRADE, M. T. S.; MAIA, L. A.; DANTAS, A. F. M. Surto de histomoníase em frangos caipiras no semiárido da Paraíba, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.1, p.307-312, 2015.

ARNÉ, P.; THIERRY, S.; WANG, D.; DEVILLE, M.; LE LOC'H, G.; DESOUTTER, A.; FÉMÉNIA, F.; NIEGUISILA, A.; HUANG, W.; CHERMETTÉ, R.; GUILLOT, J. *Aspergillus fumigatus* in poultry. **International Journal of Microbiology**, ID746356, p. 1-14, 2011.

BABOOLAL, V.; SURATSINGH, V.; GYAN, L.; BROWN, G.; OFFIAH, N. V.; ADESIYUN, A. A.; BASU, A. K. The prevalence of intestinal helminths in broiler chickens in Trinidad. **Veterinarski Arhiv**, v.82, n.6, p.591-597, 2012.

BAPTISTA, D. Q.; SANTOS, A. F. M.; AQUINO, M. H. C.; ABREU, D. L. C.; RODRIGUES, D. P.; NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A. Prevalência e susceptibilidade antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de frangos vivos e carcaças no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n.7, p.1278-1285, 2018.

BARBOUR, E. K.; AYYASH, D. B.; ALTURKISTNI, W.; ALYAHIBY, A.; YAGHMOOR, S.; IYER, A.; YOUSEF, J.; KUMOSANI, T.; HARAKEH, S. Impact of sporadic reporting of poultry *Salmonella* serovars from selected developing countries. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v.9, n.1, p.1-7, 2015.

BARNES, H. J.; NOLAN, L. K.; VAILLANCOURT, J. P. Colibacillosis. In: SAIF, Y. M. **Diseases of Poultry**. 12ed. Iowa: Blackwell, 2008, p.691-737.

BARROW, P.; FREITAS NETO, O. C. Pullorum disease and fowl typhoid-new thoughts on old diseases: a review. **Avian Pathology**, v. 40, n. 1, p. 1–13, 2011.

BARROW, P. A.; JONES, M. A.; SMITH, A. L.; WIGLEY, P. The long view: *Salmonella* – the last forty years. **Avian Pathology**, v.41, n. 5, p.413-420, 2012.

BEERNAERT, L. A.; PASMANS, F.; VAN WAEYENBERGHE, L.; MARTEL, A. *Aspergillus* infections in birds: a review. **Avian Pathology**, v.39, n.5, p.325–331, 2010.

BEZERRA, W. G. A.; SILVA, I. N. G.; VASCONCELOS, R. H.; MACHADO, D. N.; LOPES, E. S.; LIMA, S. V. G.; TEIXEIRA, R. S. C.; LIMA, J. B.; OLIVEIRA, F. R.; MACIEL, W. C. Isolation and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella entérica* subsp. *enterica* (O: 6, 8) in broiler chickens. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.44, p.1-7, 2016.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. PNSA: Programa Nacional de Sanidade Avícola. Manual de Legislação: programas nacionais de saúde animal do Brasil/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Saúde Animal. – Brasília: MAPA/SDA/DSA, p. 171–241.

BRENER, B.; TORTELLY, R.; MENEZES, R. C.; MUNIZ-PEREIRA, L. C.; PINTO, R. M. Prevalence and pathology of the nematode *Heterakis gallinarum*, the trematode *Paratanaisia bragai*, and the protozoan *Histomonas meleagridis* in the turkey, *Meleagris gallopavo*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, n.6, p.677-681, 2006.

BUCHALA, F. G.; ISHIZUKA, M. M.; MATHIAS, L. A.; BERCHIERI JÚNIOR, A.; CASTRO, A. G. M.; CARDOSO, A. L. S. P.; TESSARI, E. N. C.; KANASHIRO, A. M. I. Ocorrência de reação sorológica contra *Salmonella pullorum* em aves de “fundo de quintal” do estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.1, p.1-5, 2006.

CAIRES, C. M.; DE CARVALHO, A. P.; CAIRES, R. M. Criação Alternativa de Frangos de Corte. **Nutritime**, v.7, n.2, p.1169-1174, 2010.

CASAGRANDE, R. A.; MACHADO, G.; GUERRA, P. R.; CASTRO, L. A.; SPANAMBERG, A.; SILVA, S. C.; CARDOSO, M. R. I.; DRIEMEIER, D. Caracterização anatomopatológica e bacteriológica em frangos de corte condenados totalmente por colibacilose sob Serviço de Inspeção Federal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.9, p.949-957, 2017.



CHOTIRMALL, S. H.; AL-ALAWI, M.; MIRKOVIC, B.; LAVELLE, G.; LOGAN, P. M.; GREENE, C. M.; MCELVANEY, N. G. *Aspergillus*-associated airway disease, inflammation, and the innate immune response. **BioMed Research International**, ID 723129, p.1-14, 2013.

CORTES, P. L.; CHIN, R. P.; BLAND, M. C.; CRESPO, R.; SHIVAPRASAD, H. L. Histomoniasis in the bursa of Fabricius of chickens. **Avian Diseases**, v.48, n.3, p.711-715, 2004.

COSTA, R. A.; PEREIRA, A. P. M.; SILVEIRA, C. S.; ANJOS, B. L. Infecção natural por *Histomonas meleagridis* em pavões-indianos (*Pavo cristatus*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.46, n.1, p.333, 2018.

CRĂCIUNAȘ, C.; KEUL, A. L.; FLONTA, M.; CRISTEA, M. DNA-based diagnostic tests for *Salmonella* strains targeting *hilA*, *agfA*, *spvC* and *sef* genes. **Journal of Environmental Management**, v.95, p.15-18, 2012.

DAMASCENO, F. A.; SCHIASSI, L.; OSÓRIO, J. A.; GOMES, R. C. C.; BAÊTA, F. C. Concepções arquitetônicas das instalações utilizadas para a produção avícola visando o conforto térmico em climas tropicais e subtropicais. **PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.4, n.42, ed.147, art.991, 2010.

DE CARLI, S.; GRÄF, T.; KIPPER, D.; LEHMANN, F. K. M.; ZANETTI, N.; SIQUEIRA, F. M.; CIBULSKI, S.; FONSECA, A. S. K.; IKUTA, N.; LUNGE, V. R. Molecular and phylogenetic analyses of *Salmonella* Gallinarum trace the origin and diversification of recent outbreaks of fowl typhoid in poultry farms. **Veterinary Microbiology**, v.212, p.80–86, 2017.

DOLKA, B.; ZBIKOWSKI, A.; DOLKA, I.; SZELESZCZUK, P. Histomonosis - na existing problem in chicken flocks in Poland. **Veterinary Research Communications**, v.39, n.3, p.189-195, 2015.

DUTTA, B.; KONCH, P.; KONCH, C.; GOGOI, S. M.; FARHAD, H. M.; KAKOTY, S. P. Clinicopathological studies of Brooder pneumonia in Broiler Chicken. **International Journal of Chemical Studies**, v.5, n.3, p.510-512, 2017.

FERREIRA, A. J. P.; KNÖBL, T. Colibacilose. In: BERCHIERI JR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. Z. Eds. **Doença das Aves**. Campinas: FACTA, 2009, p. 457-482.



FULLERINGER, S.L.; SEGUIN, D.; WARIN, S.; BEZILLE, A.; DESTERQUE, C.; ARNÉ, P.; CHERMETTE, R.; BRETAGNE, S.; GUILLOT, J. Evolution of the environmental contamination by thermophilic fungi in a turkey confinement house in France. **Poultry Science**, v.85, p.1875–1880, 2006.

GALVÃO JÚNIOR, J. G. B.; BENTO, E. F.; DE SOUZA, A. F. Diagnóstico da realidade dos criatórios de aves na comunidade base física – Ipangaçu/RN. **Holos-IFRN**, v.4, n.25, p.120-126, 2009.

GAMBIRAGI, A. P. O. M.; SALLES, R. P. R.; AGUIAR FILHO, J. R.; OLIVEIRA, W. F.; MACIEL, W. C.; ROMÃO, J. M.; TEIXEIRA, R. S. C. *Salmonella* sp. em frangos de corte de um dia de idade na região metropolitana de Fortaleza, CE. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, n.2, p.149-153, 2003.

GAST, Richard K. Bacterial diseases: *Salmonella* infection. In: SAIF, Y.M., FADLY, A.M., GLISSON, J.R., MCDOUGALD, L.R., NOLAN, L.K., SWAYNE, D.E. (Eds.), **Diseases of Poultry**. Blackwell Publishing: Oxford, 2008, p. 619–636.

GOMES FILHO, V. J. R.; TEIXEIRA, R. S. C.; LOPES, E. S.; ALBUQUERQUE, A. H.; LIMA, S. V. G.; HORN, R. V.; ROCHA-E-SILVA, R. C.; CARDOSO, W. M. Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas criadas em fundo de quintal (*Gallus gallus domesticus*) e ovos comercializados nas feiras livres na cidade de Fortaleza, Ceará. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.4, p.1855-1864, 2014.

GUELBER SALES, M. N.; BARROS, B. L. A.; MÁXIMO, H. L.; SETÚBAL, R. L.; SALES, E. F. Caracterização da criação de galinhas caipiras em sistema agroecológico. In: IX CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 2015. **Cadernos de Agroecologia**, v.10, n.3, 2015.

HAUCK, R. S.; BALCZULAT, S.; HAFEZ, H. M. Detection of DNA of *Histomonas meleagridis* and *Tetratrichomonas gallinarum* in German poultry flocks between 2004 and 2008. **Avian Diseases**, v.54, n.3, p.1021-1025, 2010.

HIRSCHMANN, L. C.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; LIMA, M.; VARGAS, G. D. A. Fatores de risco associados com a presença de infecções virais em aves domésticas na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.47, p.1642, 2019.

HU, J.; FULLER, L.; ARMSTRONG, P. L.; MCDOUGALD, L. R. Direct lateral transmission of *Histomonas meleagridis* in turkeys. **Avian Diseases**, v.47, n.2, p.489–492, 2003.

HUBER, K.; CHAUVE, C.; ZENNER, L. Detection of *Histomonas meleagridis* in turkeys cecal droppings by PCR amplification of the small subunit ribosomal DNA sequence. **Veterinary Parasitology**, v.131, n.3, p.311-316, 2005.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA DE ESTATÍSTICA. **Censo agropecuário: resultados definitivos / IBGE – 2017**. Rio de Janeiro: IBGE, v.quinquenal, 2019.

IBRAHIM-GRANET, O.; JOUVION, G.; HOHL, T.M.; PHILIPPART, F.; KIM, O. Y.; ADIB-CONQUY, M.; SCHWENDENER, R.; CAVAILLON, J. M.; BROCK, M. In vivo bioluminescence imaging and histopathologic analysis reveal distinct roles for resident and recruited immune effector cells in defense against invasive aspergillosis. **BMC Microbiology**, v.10, p.105, 2010.

INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Boletim Agroclimatológico Mensal, mensal de outubro – 2018. v.53, n.10, p.1-41, 2018.

KUNKLE, R. A. Aspergillosis. In: SAIF, Y. M.; BARNES, H. J.; GLISSON, J. R. (Eds). Diseases of Poultry. Iowa: Iowa State University Press, 2003, p.883–895,

LIEBHART, D.; GRABENSTEINER, E.; HESS, M. Oral infection of turkeys with in vitro-cultured *Histomonas meleagridis* results in high mortality. **Avian Pathology**, v.38, n.3, p.223-227, 2008.

MCCLENNY, N. Laboratory detection and identification of *Aspergillus* species by microscopic observation and culture: the traditional approach. **Medical Mycology**, v.43, n.1, p.125–128, 2005.

MCDUGALD, L. R. Blackhead disease (histomoniasis) in poultry: a critical review. **Avian Diseases**, v.49, p.462-476, 2005.

MCDUGALD, L. R.; ABRAHAM, M.; BECKSTEAD, R.B. An outbreak of blackhead disease (*Histomonas meleagridis*) in farm-reared bobwhite quail (*Colinus virginianus*). **Avian Diseases**, v.56, n.4, p.754-756, 2012.

MELENDEZ, S. N.; HANNING, I.; HAN, J.; NAYAK, R.; CLEMENT, A. R.; WOOLING, A.; HERERRA, P.; JONES, F. T.; FOLEY, S. L.; RICKE, S. C. *Salmonella enterica* isolates from pasture-raised poultry exhibit antimicrobial resistance and class I integrons. **Journal of Applied Microbiology**, v.109, n.6, p.1957-1966, 2010.

MICHELAZZO, M. M. Z.; SASSE, J. P.; DE SOUZA, M.; MARUTANI, V. H. B.; SAMPAIO BAPTISTA, A. A.; GARCIA, J. L.; ALFIERI, A. A.; HEADLEY, S. A. Systemic histomoniasis in a Leucistic Indian Peafowl (*Pavo cristatus*) from Southern Brazil. **Avian Diseases**, v.61, n.3, p.325-329, 2017.

OCA, V. M; VALDÉS, S. E.; SEGUNDO, C.; GÓMEZ, G. G.; RAMÍREZ, J.; CERVANTES, R. A. Aspergillosis, a natural infection in poultry: mycological and molecular characterization and determination of gliotoxin in *Aspergillus fumigatus* isolates. **Avian Diseases**, v.61, p.77–82, 2017.

OIE – World Organization for Animal Health. 2019. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2019 - Fowl Typhoid and Pullorum disease**. Chapter 3.3.11, p. 1-17, 2019. Available from: <<https://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>>. Accessed: Sep, 05, 2019.

OIE – World Organization for Animal Health, 2020. **Fowl Typhoid and Pullorum diseases**. World Animal Health Information Database (WAHID). Available from: <[https://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail](https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statusdetail)> Accessed: Jan, 05, 2020.

OLIVEIRA, L. G. S.; BOABALD, F. M.; LORENZETT, M. P.; ROLIM, V.; SANTOS, H. F.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. E. F. Outbreaks of Mycoplasmosis and Histomoniasis in a Southern Brazilian Flock of Ornamental Birds. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.45, Suppl 1, p.200, 2017.

OZHAK-BAYSAN, B.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; SABA, R.; OGUNC, D.; ONGUT, G.; TIMURAGA OGLU, A.; ARSLAN, G.; CUENCA-ESTRELLA, M.; RODRIGUEZ-TUDELA, J. L. *Aspergillus alliaceus* and *Aspergillus flavus* co-infection in an acute myeloid leukemia patient. **Medical Mycology**, v.48, n.7, p.995–999, 2010.

PANDINI, J. A.; PINTO, F. G. S.; MULLER, J. M.; WEBER, L. D.; MOURA, A. C. Ocorrência e perfil de resistência antimicrobiana de sorotipos de *Salmonella* spp. isolados de aviários do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.20, n.10, p.1-6, 2014.

PERDONCINI, G.; FERREIRA, J. I.; LIMA, L. M.; ROCHA, D. T.; TEJKOWSKI, T. M.; PINTO, A. T.; NASCIMENTO, V. P. *Salmonella* spp. em ovos produzidos em sistema agroecológico. **Revista Agrocientífica**, v.1, n.1, p.33-42, 2014.

POWELL, F. L.; ROTHWELL, L.; CLARKSON, M. J.; KAISER, P. The turkey, compared to the chicken, fails to mount an effective early immune response to *Histomonas meleagridis* in the gut. **Parasite Immunology**, v.31, p.312–327, 2009.

QUADROS, R. M.; WIGGERS, S. B.; PAES, M. P. V.; MARQUES, S. M. T. Prevalência de endo e ectoparasitos de galinhas caipiras em pequenas propriedades da região serrana de Santa Catarina. **PUBVET - Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.9, n.1, p.1-5, 2015.

QUINN, P. J.; CARTIER, M. E.; MARKEY, B. *Salmonellas* species. In: \_\_\_\_\_. **Clinical veterinary microbiology**. London: Wolfe, 1994. p.237-242.

RADFAR, M. H.; KHEDRI, J.; ADINEHBEIGI, K.; NABAVI, R.; RAHMANI, K. Prevalence of parasites and associated risk factors in domestic pigeons (*Columba livia domestica*) and free-range backyard chickens of Sistan region, east of Iran. **Journal of Parasitic Diseases**, v.36, n.2, p.220–225, 2012.

ROCHA, J. R.; ANTONIO, N. S.; PEREIRA, R. E. P.; LOT, R. F. E. Leucose aviária: relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.7, n.13, p.1-5, 2009.

SENTÍES-CUÉ, G.; CHIN, R. P.; SHIVAPRASAD, H. L. Systemic histomoniasis associated with high mortality and unusual lesions in the bursa of fabricius, kidneys, and lungs in commercial turkeys. **Avian Diseases**, v.53, n.2, p.231-238, 2009.

SHINOHARA, N. K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; LIMA FILHO, J. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência Saúde Coletiva**, v.13, n.5, p.1675-1683, 2008.

SHIVAPRASAD, H.L. Fowl typhoid and pullorum disease. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 19, p. 405–424, 2000.

SINGH, A.; WEISSENBOCK, H.; HESS, M. *Histomonas meleagridis*: immunohistochemical localization of parasitic cells in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections of experimentally infected turkeys demonstrates the wide spread of the parasite in its host. **Experimental Parasitology**, v.118, p.505–513, 2008.

THRONE STEINLAGE, S. J.; SANDER, J. E.; BROWN, T. P.; LOBSINGER, C. M.; THAYER, S. G.; MARTINEZ, A. Disseminated mycosis in layer cockerels and pullets. **Avian Diseases**, v.47, n.1, p.229–233, 2003.

TRINDADE, M. M.; SCHENEIDERS, G.; CORREA, I. M. O.; FLORES, M.; KOMMERS, G. D. Histomoníase em pavão (*Pavo cristatus*). **A Hora Veterinária**, v.31, n.184, p.56-58, 2011.

UBA - UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. Relatório Anual 2014. São Paulo: **Brazilian Poultry Association**; 2015, 106p.

VAN DER HEIJDEN, H. M. J. F.; LANDMAN, W. J. M. High Seroprevalence of *Histomonas meleagridis* in dutch layer chickens. **Avian Diseases**, v.55, n.2, p.324-327, 2011.

VIEITES; F. M.; SOUZA, C. S.; SALINAS, J. A. P. Bien estar animal em los procesos de producción avícola –experiencias brasileiras. **Revista Colombiana de Zootecnia**, v.2, n.3, p.17-22, 2016a.

VIEITES, F. M.; SOUZA, C. S.; LIMA, C. A. R. Produccion diferenciada de pollos y huevos en Brasil. **Revista Colombiana de Zootecnia**, v.2, n.3, p.17-22, 2016b.

VIELITZ, Egon. Evolution of avian pathology in Europe during the past 50 years. **Lohmann Information**, v.50, p.4–10, 2016.

WIGLEY, P. *Salmonella enterica* serovar Gallinarum: addressing fundamental questions in bacteriology sixty years on from the 9R vaccine. **Avian Pathology**, v.46, n.2, p.119-124, 2017.

**Anexo**

# Anexo I - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal

06/02/2020

SEI/UFPEL - 0392397 - Parecer



**PARECER N°**  
**PROCESSO N°**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**140/2018/CEEA/REITORIA**  
23110.057627/2018-28

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Deteção de *Salmonella* spp. e outros patógenos em galinhas de criação colonial na região sul do Rio Grande do Sul**” processo número 23110.057627/2018-28, de responsabilidade de Eliza Simone Viégas Sallis- que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua complementação pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 10/12/2018.

Finalidade	( X ) Pesquisa ( ) Ensino
Vigência da autorização	02/01/2019 a 15/02/2020
Espécie/linhagem/raça	Galinha doméstica
N° de animais	384
Idade	Adultas
Sexo	Fêmeas
Origem	Criações coloniais dos Municípios da Região Sul do Rio Grande do Sul (Pelotas, São Lourenço, Morro Redondo, Cerrito, Pedro Osório, Canguçu, Pinheiro Machado, Piratini e Arroio do Padre)

**Salientamos que, para fins de relatório, o TCLE fornecido aos proprietário seja no modelo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Animais mantidos fora de Instituições de Ensino/Pesquisa (disponível em <https://wp.ufpel.edu.br/ceea/downloads/>)**

Código para cadastro **CEEA 57627-2018**

---

**M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix**

*Presidente da CEEA*



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX, Médico Veterinário**, em 17/12/2018, às 15:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufpel.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0392397** e o código CRC **6394DB31**.