

AVALIAÇÃO DE *Salmonella* spp., *Clostridium difficile* E *Ancylostoma* spp. EM FEZES DE CÃES DE MUNICÍPIO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

RESUMO

Os animais domésticos são colonizados por uma extensa diversidade de microrganismos e inúmeros fatores contribuem para a mudança no perfil desses microrganismos, possibilitando a ocorrência de distúrbios gastrointestinais. Alguns desses patógenos são potencialmente zoonóticos, podendo ser encontrados em animais hígidos ou diarreicos e possuindo importante apelo para a saúde única. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de *Salmonella* spp., *Clostridium difficile* e *Ancylostoma* spp. em cães no município de Barra (BA). Para tal, foram coletadas fezes de 40 cães diarreicos ou não diarreicos. Para a detecção de *Salmonella* spp., foi realizado isolamento em caldo tetrato e ágar Hektoen, seguido de identificação de gênero por reação em cadeia da polimerase (PCR). Para o isolamento de *C. difficile*, foi realizada a diluição da amostra em álcool 70 °GL e plaqueamento em ágar Müller-Hinton suplementado com taurocolato e identificação por PCR. Para a detecção de ovos de *Ancylostoma*, as fezes foram submetidas ao método de Faust e à técnica de centrifugação simples, seguida de observação morfológica em microscópio. Foi realizado um questionário epidemiológico com os tutores dos animais, a fim de identificar fatores de risco para a ocorrência de diarreia e/ou presença dos patógenos. Entre os animais avaliados, foi detectada a presença de *Salmonella* sp. em 12,5% e *Ancylostoma* em outros 12,5%. Todas as amostras foram negativas para *C. difficile*. A infecção por *Ancylostoma* spp. em cães foi associada a ausência de vermifugação por mais de 12 meses e ao maior ressecamento das fezes. Em relação a *Salmonella*, a chance de detectá-la em animais com idade inferior a 2 anos foi 2,3 maior que em animais mais velhos, e a chance de um animal carreador de *Salmonella* apresentar diarreia foi mais de 5 vezes maior do que animais sem o patógeno. Ainda foi demonstrado que animais com uma dieta a base de alimentos crus e que possuíam contato com outros animais tinham maiores chances de terem episódios progressivos de diarreia. Os tutores devem ter atenção especial em relação à alimentação e manejo sanitário dos animais, principalmente no que se refere à ocorrência de microrganismos zoonóticos, que oferecem risco à saúde única.

Palavras-chave: zoonoses, microbiota, diarreia, saúde única, epidemiologia.

ABSTRACT

Domestic animals are colonized by an extensive diversity of microorganisms and many factors contribute to the change in the profile of these microorganisms, allowing the occurrence of gastrointestinal disorders. Some of these pathogens are potentially zoonotic, can be found in healthy or diarrheal animals and have an important in the perspective of One Health. The objective of this work was to evaluate the presence of *Salmonella* spp., *Clostridium difficile* and *Ancylostoma* spp. in dogs in the city of Barra (BA). So, feces of 40 diarrheal or non-diarrheic dogs were collected. For the detection of *Salmonella* spp., isolation was performed in tetrathionate broth and Hektoen agar, followed by identification of the genus by polymerase chain reaction (PCR). For the isolation of *C. difficile*, the sample was diluted in 70 °GL alcohol and plated on Müller-Hinton agar supplemented with taurocholate and identification by PCR.

For the detection of *Ancylostoma* eggs, the feces were submitted to the Faust method and the simple centrifugation technique, followed by morphological observation under a microscope. An epidemiological questionnaire was carried out with the animal tutors in order to identify risk factors for the occurrence of diarrhea and/or the presence of pathogens. Among the animals evaluated, the presence of *Salmonella* sp. in 12.5% and *Ancylostoma* in another 12.5% was detected. All samples were negative for *C. difficile*. Infection by *Ancylostoma* spp. in dogs was associated with the absence of deworming for more than 12 months and with greater dryness of the feces. Regarding *Salmonella*, the chance of detecting it in animals under 2 years of age was 2.3 times greater than in older animals, and the chance of an animal carrying *Salmonella* to show diarrhea was more than 5 times greater than animals without the pathogen. It was also shown that animals with a diet based on raw foods and that had contact with other animals were more likely to have previous episodes of diarrhea. Guardians must pay special attention to feeding and sanitary management of animals, especially with regard to the occurrence of zoonotic microorganisms, which pose an important risk for One Health.

Key Words: zoonoses, microbiota, diarrhea, unique health, epidemiology.

1 INTRODUÇÃO

Os animais são colonizados por uma extensa diversidade de microrganismos, que possuem funções benéficas ou potencial patogênico (MACEDO, 2017). Diversos fatores contribuem para a mudança no perfil desses microrganismos, como mudança de manejo (estresse e alterações nutricionais), acometimento por enfermidades (alergias, intoxicações e possíveis tratamentos) ou mesmo a presença de agentes infecciosos no ambiente, o que pode levar à ocorrência de desordens gastrointestinais (DANTAS, 2004; MACEDO, 2017; RODRIGUES et al., 2018).

Dentre os patógenos bacterianos, *Salmonella* spp. se destaca por ter sido frequentemente identificada em humanos e animais (MACIEL et al., 2004). Outra bactéria de importância é *Clostridium difficile*, um patógeno emergente em animais e responsável por infecção nosocomial em humanos (DINIZ, 2016). Já entre os parasitos, *Ancylostoma* é um gênero importante por causar infestação em cães e *larva migrans* cutânea em humanos (ROBERTSON e THOMPSON, 2002). Dessa forma, o levantamento de enteropatógenos é de suma importância, não só para a medicina veterinária, mas para todo o contexto de saúde única, e os trabalhos identificando enteropatógenos em cães são escassos, sobretudo na região semiárida do país (DINIZ, 2016). Com isso, objetivo desse trabalho foi avaliar a presença de *Salmonella* sp., *Clostridium difficile* e *Ancylostoma* sp. em cães no município de Barra-BA e identificar os principais fatores de risco relacionados a presença dos mesmos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do estudo foram coletadas fezes de 40 cães diarreicos e não diarreicos entre setembro e outubro de 2020, no município de Barra - BA. As amostras foram classificadas de acordo com a consistência, sendo classificadas de acordo com os seguintes escores: -1 (ressecada), 0 (normal), 1 (amolecida) e 2 (pastosa) e 3 (líquida) (OLIVEIRA JÚNIOR et al. 2019). O material foi acondicionado em tubos coletores estéreis e refrigerado (de 4 a 8 °C) até o processamento microbiológico ou parasitológico. Para a detecção de *Salmonella* spp., foi realizado o pré-enriquecimento em caldo tetracionato, seguido de isolamento em ágar Hektoen e identificação de gênero por reação em cadeia da polimerase (PCR). Para o isolamento de *C. difficile*, foi realizada a diluição da amostra em álcool 70 °GL e plaqueamento em ágar Müller-Hinton suplementado com taurocolate, seguido da identificação por PCR. Para a detecção de ovos de *Ancylostoma*, as fezes foram submetidas ao método de Faust e à técnica de centrifugação simples, seguida de observação morfológica em microscópio. Foi realizado um questionário epidemiológico com os tutores dos animais, contendo informações gerais sobre alimentação (tipo, frequência de fornecimento) e sanidade (frequência de visitas ao veterinário, vacinação, vermifugação, doenças recentes, uso de medicamentos, acesso à rua) do animal. Os dados obtidos no questionário foram tratados por estatísticas descritivas. Foram realizadas associações entre as variáveis pelo teste de Fisher e cálculo de Odds-Ratio pelo programa GraphPad Prism 8 (GraphPad, EUA).

2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Amostras fecais de 40 cães foram coletadas. Destas amostras, 29 apresentaram consistência normal, e 11 apresentaram alteração na consistência, sendo consideradas diarreicas. Destas, 5 apresentaram consistência ressecada e 6 apresentaram consistência entre amolecida e líquida e/ou com presença de muco.

Foram considerados positivos para *Ancylostoma* spp. 5 animais (12,5%). Estudos anteriores mostraram prevalências deste patógeno acima de 30% em cães (BLAUZIUS et al., 2006; CAMPOS FILHO et al., 2008). Uma possível explicação para a baixa positividade é o clima seco da região que dificulta a sobrevivência da larva no ambiente e a reinfecção de novos cães. Foi encontrada associação positiva entre animais com *Ancylostoma* sp. e fezes firmes ($p = 0,008$), de forma que animais com o parasito possuem chance 26,25 vezes maior de possuírem fezes ressecadas que os não infectados. Entretanto, a consistência das fezes não pode ser usada como parâmetro para a ausência de infecções parasitárias, já que, em muitos casos, animais infectados apresentam excretas com consistência normal (FERREIRA et al., 2016). Em adição, foi encontrada associação entre o tempo de vermifugação e a presença de *Ancylostoma* sp., de modo que o patógeno foi encontrado com maior frequência em animais vermifugados com mais de 12 meses ($p = 0,0299$).

Em relação a *Salmonella* spp. 5 animais (12,5%) foram positivos, destes, 60% não apresentaram alteração na consistência das fezes. Os presentes resultados estão em consonância com o trabalho de Maciel e colaboradores (2004), mostrando que o patógeno pode ser eliminado pelos cães aparentemente saudáveis, causando riscos de infecção para humanos e outros animais. Em adição, chance de um animal detectado com *Salmonella* spp. ter diarreia no presente estudo foi 5,167 vezes maior que em animais negativos, mostrando o impacto do patógeno na saúde canina. Nenhum dos animais positivos para *Salmonella* spp. era alimentado com dieta caseira crua, considerado fator de risco para a infecção (VIEGAS et al., 2020). Entretanto *Salmonella* spp. pode ser um habitante natural do trato gastrintestinal de muitos animais e há relatos de rações comerciais contaminadas com bactérias do gênero *Salmonella* dado (SAAD, FRANÇA, 2010; GIRIO, 2007). Nenhuma amostra pesquisada foi positiva para *C. difficile*.

De acordo com as informações fornecidas pelos tutores dos animais através do questionário epidemiológico, 19 animais (47,5%) se alimentavam exclusivamente de ração comercial seca. O mesmo número de animais recebia, além da ração seca, comida caseira, e apenas 5% dos animais estudados ingeriam a dieta estritamente caseira. Foi demonstrado que os cães alimentados com dieta caseira crua possuíam risco 3,3 vezes maior de apresentarem quadros pregressos de diarreia que os demais. Segundo Viegas et al., (2020), cães alimentados com dieta contendo carne crua são mais propensos a eliminar enteropatógenos nas fezes, aumentando o risco de ocorrência de episódios de diarreia.

Deve-se ressaltar que, ¼ dos animais amostrados foi positivo para pelo menos um dos patógenos pesquisados, os quais possuem importância comprovada na saúde pública já que, além de causar danos à saúde dos animais infectados e oferecer risco a animais saudáveis, fazem parte do grupo de patógenos com importância zoonótica (FURQUIM et al., 2021).

4 CONCLUSÃO

Entre os animais avaliados, foi detectada a presença de *Salmonella* sp. em 12,5% e *Ancylostoma* sp. em outros 12,5%. Cães alimentados com dieta total ou parcialmente crua

apresentam maior risco de já terem tido quadro diarreicos do que os demais. A presença de *Salmonella* spp. foi relacionada ao aumento do risco de diarreia em cães, enquanto *Ancylostoma* foi associado à presença de fezes ressecadas e falta de vermifugação. A infecção por estes patógenos em cães deve ser monitorada e corretamente diagnosticada, já que algumas espécies podem causar sérios danos à saúde de seres humanos, além de proporcionarem baixa qualidade de vida aos animais.

REFERÊNCIAS (ABNT NBR 6023:2018)

- BLAZIUS, R. D.; RODRIGUES, D. F. P.; DE LIMA, M. C. Contaminação da areia do Balneário de Laguna, SC, por *Ancylostoma* spp., e *Toxocara* spp. em amostras fecais de cães e gatos. **Arquivos catarinenses de Medicina**, v. 35, n. 3, p. 55-58, 2006.
- CAMPOS FILHO, P. C.; BARROS, L. M.; CAMPOS, J. O.; BRAGA, V. B.; CAZORLA, I. M.; ALBUQUERQUE, G. R.; CARVALHO, S. M. S. Parasitas zoonóticos em fezes de cães em praças públicas do município de Itabuna, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 4, p. 206–209, 2008.
- DANTAS, R. O. Diarréia e constipação intestinal. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 37, n. 3/4, p. 262–266, 2004.
- DINIZ, A. N. *Clostridium perfringens* e *Clostridium difficile* em relação a outros enteropatógenos em cães diarreicos. **Dissertação (mestrado)** —Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.
- FERREIRA, J. I. G. S.; PENA, H. F. J.; AZEVEDO, S. S.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. Occurrences of gastrointestinal parasites in fecal samples from domestic dogs in São Paulo, SP, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 4, p. 435–440, 2016.
- FURQUIM, I. R. V.; CAMPOS, B. F.; SITTA, M. J. Z.; PLAZZA, M. A. S.; SPAZIANI, A. O. Óbitos por *Salmonella* no período compreendido entre 2013 e 2017 de acordo com dados disponíveis no Datasus. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 48323-48332, 2021.
- GIRIO, T. M. S. Qualidade microbiológica de rações para cães comercializadas no varejo em embalagem fechada e a granel. **Dissertação (mestrado)** — Jaboticabal: Universidade Federal Paulista, 2007.
- MACÊDO, M. M. S. Perfil de resistência a antimicrobianos e pesquisa de β -lactamase de espectro ampliado em bactérias Gram-negativas de isolados de animais domésticos. **Dissertação (mestrado)** —Patos: Universidade Federal de Campina Grande, 2015.
- MACIEL, B. M.; ARGÔLO FILHO, R. C.; FREITAS, E. S.; KRUSCHEWSKY, F. F.; SANTOS, B. F.; ROCHA, G. D.; WETLER, R. M. C.; MARTINS, L. A. F. Ocorrência de sorotipos exóticos de *Salmonella* encontrados em cães assintomáticos nos distritos do município de Ilhéus / BA - Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 4, 2004.
- OLIVEIRA JÚNIOR, C. A.; SILVA, R. O. S.; LAGE, A. P.; COURA, F. M.; RAMOS, C. P.; ALFIERI, A. A.; GUEDES, R. M. C.; LOBATO, F. C. F. Non-toxicogenic strain of

Clostridioides difficile Z31 reduces the occurrence of *C. difficile* infection (CDI) in one-day-old piglets on a commercial pig farm. **Veterinary Microbiology**, v. 231, p. 1–6, 2019.

ROBERTSON, I. D.; THOMPSON, R. C. Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 8, p. 867–873, 2002.

RODRIGUES, M. D.; ESCAPILATO, P. B.; OLIVEIRA, N. A.; MENOLLI, K. A. P. Gastroenterite canina: principais agentes etiológicos. **Ciência Veterinária UniFil**, v. 1, n. 2, p. 12, 2018.

SAAD, F. M. DE O. B.; FRANÇA, J. Alimentação natural para cães e gatos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. suppl spe, p. 52–59, 2010.

VIEGAS, F. M.; RAMOS C. P.; XAVIER, R. G. C.; LOPES, E. O.; JÚNIOR, C. A. O.; BAGNO, R. M.; DINIZ, A. N.; LOBATO, F. C. F.; SILVA, R. O. S. Fecal shedding of *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, and *Clostridioides difficile* in dogs fed raw meat-based diets in Brazil and their owners' motivation. **PLOS ONE**, v. 15, n. 4, p. 1-13, 2020.