



Análise genética molecular de salmonelas de surtos de Tifo Aviário e Pulorose no Brasil

Nathalie S. Zanetti¹, Sílvia D. Carli¹, Diéssy Kipper¹, Nilo Ikuta², Vagner R. Lunge²

¹Alunas do curso de graduação de Medicina Veterinária-ULBRA

²Professores-pesquisadores ULBRA

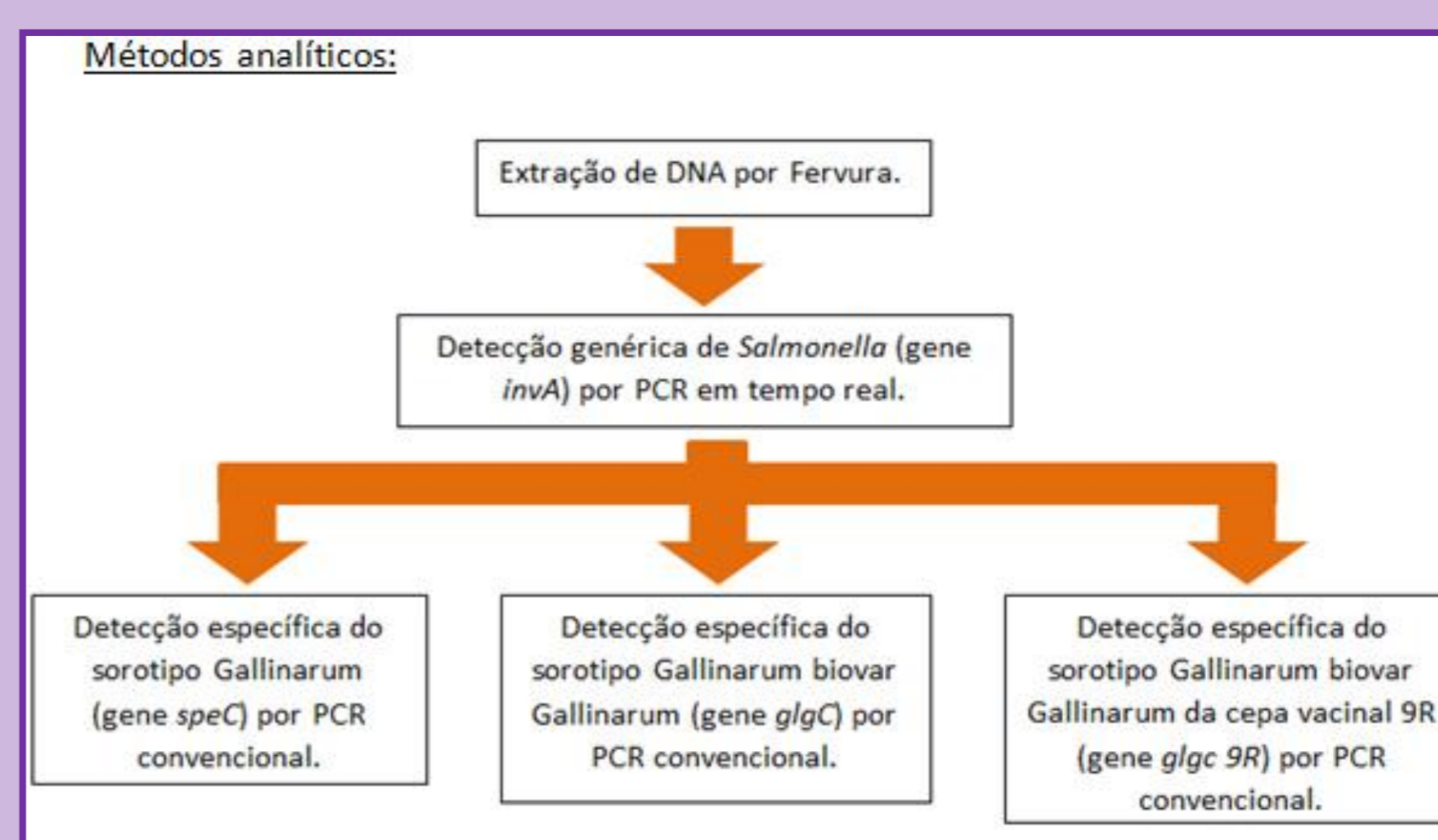
Introdução e Objetivo

A *Salmonella* é uma bactéria da família *Enterobacteriaceae* normalmente encontrada no trato entérico de diferentes animais. Este microrganismo é classificado em mais de 2.500 sorotipos. As salmonelas do sorotipo Gallinarum, que inclui os biovars Gallinarum e Pullorum, infectam as aves causando tifo aviário e pulorose, respectivamente. Surtos destas doenças têm ocorrido em lotes de produção industrial de aves no Brasil nos últimos anos, causando grandes perdas econômicas. O objetivo deste estudo foi aplicar métodos baseados na técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para detecção molecular específica dos biovars Gallinarum, Pullorum e da cepa vacinal 9R a partir de isolados bacterianos de recentes surtos e lotes vacinados.

Materiais e Métodos

Amostras:

(a) 91 isolados de *Salmonella* previamente sorotipados e provenientes de aviários não vacinados de sete estados do Brasil (SC, RS, PR, DF, SP, BA e GO) entre 2011 e 2014 e (b) 50 isolados de lotes de aves vacinados com a cepa vacinal Gallinarum 9R entre 2013 e 2015. Também foram obtidas culturas de referência dos biovars Gallinarum e Pullorum e uma cepa vacinal 9R para uso como controles na reações.



Resultados

Na análise das 91 amostras de aviários não vacinados, dez isolados foram identificados como biovar Gallinarum e oito como Pullorum pelos testes de PCR de detecção específica. Os demais isolados apresentaram resultado negativo nos testes de detecção específica, exceto uma amostra que apresentou resultado positivo para o alvo *glgC*. Os isolados também foram analisados para a ocorrência dos genes *sefA* e *fliCg*, codificantes para uma fímbria e uma flagelina, respectivamente, e usualmente presentes no genoma das salmonelas dos sorotipos Gallinarum e Enteritidis. Todos isolados destes dois sorotipos apresentaram amplificação para estes dois alvos. **(Tabela 1)**. A análise das 50 amostras de lotes vacinados demonstrou a ocorrência de 31 isolados do biovar Gallinarum, sendo 20 da cepa 9R. Os outros 19 isolados apresentaram resultado negativo para sorotipo Gallinarum, mas positivo para *Salmonella*, indicando a ocorrência de outros sorotipos **(Tabela 2)**. Os isolados também foram analisados para a ocorrência dos genes *sefA* e *fliCg*, codificantes para uma fímbria e uma flagelina, respectivamente, e usualmente presentes no genoma das salmonelas dos sorotipos Gallinarum e Enteritidis. Todos isolados destes dois sorotipos apresentaram amplificação para estes dois alvos.

Tabela 1: perfil genético molecular de isolados de *Salmonella*.

Sorotipo	N	<i>invA</i>	<i>fliCg</i>	<i>sefA</i>	<i>glgC</i>	<i>speC</i>
Gallinarum	10	+	+	+	+	+
Pullorum	8	+	+	+	-	+
Enteritidis	7	+	+	+	-	-
Typhimurium	10	+	-	-	-	-
Outro (indeterminado)	49	+	-	-	-	-
Outro (indeterminado)	3	+	-	+	-	-
Outro (indeterminado)	3	+	+	-	-	-
Outro (indeterminado)	1	+	+	-	+	-
Total	91					

Tabela 2: Detecção de amostras de *Salmonella*, de aviários vacinados, por PCR em tempo real para o gene *invA* e caracterização das mesmas por PCR convencional através dos genes *glgC*, *speC* e *glgC 9R*

Sorotipo	n	<i>invA</i>	<i>glgC</i>	<i>speC</i>	<i>glgC 9R</i>
Gallinarum	11	+	+	+	-
Vacina Gallinarum 9R	20	+	+	+	+
Outro	19	+	-	-	-
Total	50				

Conclusão

O presente estudo demonstra a efetividade dos testes de PCR na detecção específica de isolados de *Salmonella* de sorotipos associados a surtos de tifo aviário e pulorose em aves, bem como da principal cepa vacinal (9R) utilizada no controle destas doenças. Estes procedimentos são uma alternativa eficiente para a identificação das principais biovars associadas ao tifo aviário e à pulorose, podendo substituir os métodos bioquímicos e sorológicos atualmente utilizados.

Referências

- BERCHIERI JUNIOR A. et al. Doenças das aves. In: BERCHIERI JUNIOR A.; MACARI, M. Salmoneloses Aviárias. Campinas: Facta, 2000. Cap.4.1, p.185-194.
- BERCHIERI JUNIOR A. et al. Doenças das aves. 2.ed. Campinas: Facta, 2009. Cap.4.1, p.435-454.
- KANG, M. et al. Differential identification of *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Gallinarum biovars Gallinarum and Pullorum based on polymorphic regions of *glgC* and *speC* genes. *Veterinary Microbiology Journal*, Korea, jan. 2011. v.147, p.181-185.
- KANG, M. et al. Differential identification of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum biovars Gallinarum and Pullorum and the biovar Gallinarum live vaccine strain 9R. *Veterinary Microbiology Journal*. Korea, may. 2012. v.160, p. 491-495.