

Detecção molecular dos biovars Gallinarum e Pullorum em isolados de *Salmonella* de granjas de produção avícola

ZANETTI, N.S.¹; KIPPER, D.¹; CONCEIÇÃO, A.M.¹; IKUTA, N.^{1,2}; LUNGE, V.R.^{1,2}.

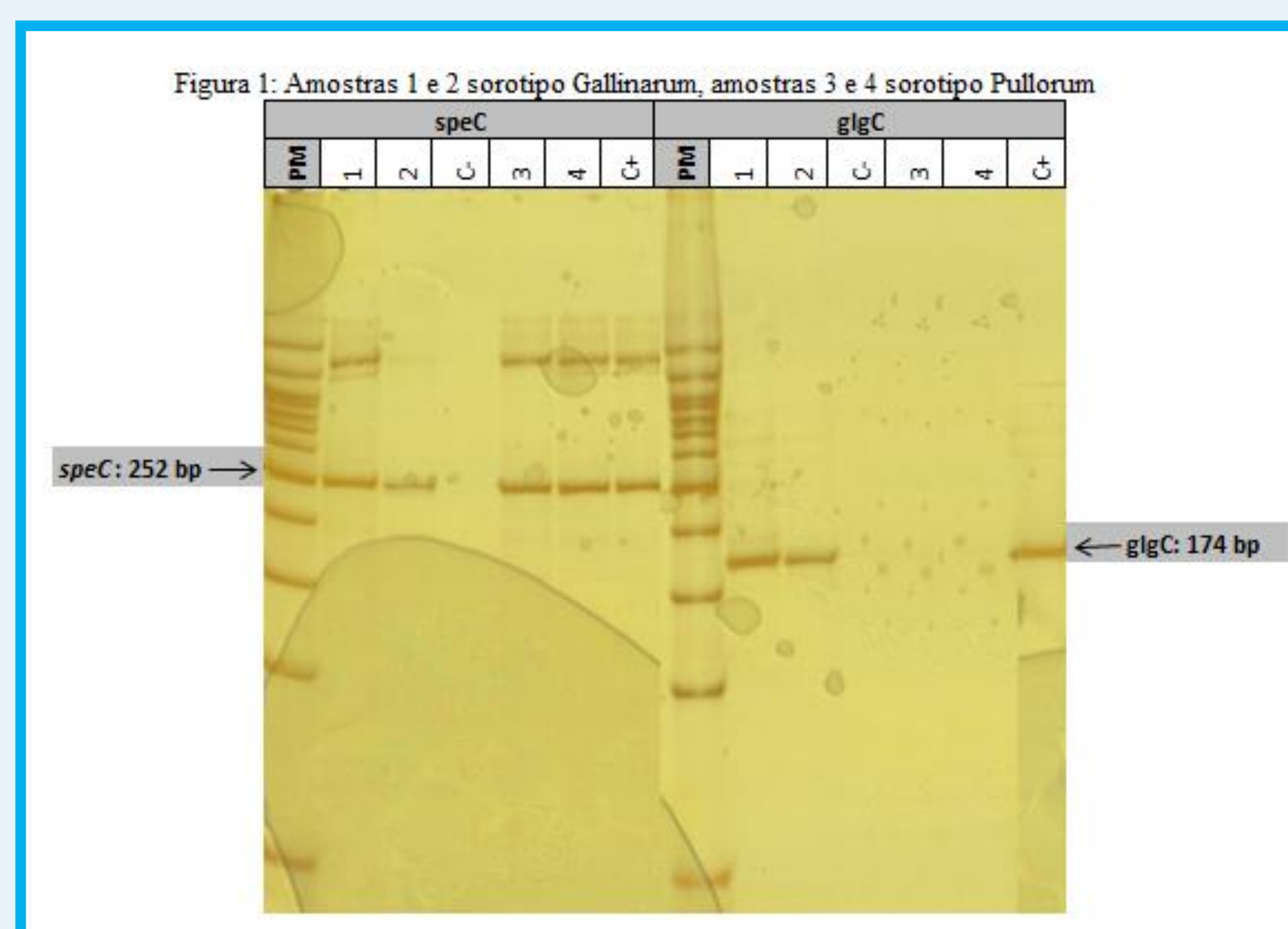
1- Universidade Luterana do Brasil- ULBRA- Canoas- RS- Brasil 2- Simbios Biotecnologia- Porto Alegre- RS- Brasil

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, muitos dos quais associados a manifestações clínicas específicas em determinadas espécies animais. As salmonelas do sorotipo Gallinarum, que inclui os biovars Gallinarum e Pullorum, infectam diferentes espécies de aves causando tifo aviário e pulorose, respectivamente. Surto 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 e Pullorum a partir de isolados bacterianos de recentes surtos.

Materiais e Métodos

As amostras utilizadas incluíram 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. Também foram obtidas culturas de referência dos biovars Gallinarum e Pullorum para uso como controles nas reações. A partir das amostras foi realizada a extração de DNA por fervura, detecção genérica de *Salmonella* pela PCR em tempo real (gene *invA*), e detecção específica dos biovars por dois PCRs independentes (genes *glgC* e *speC*). O gene *speC* (252 bp) amplifica para as bactérias dos sorotipos Gallinarum e Pullorum e o gene *glgC* (174 bp) para as bactérias do sorotipo Gallinarum (Figura 1). Os resultados dos testes de PCR foram visualizados por eletroforese em gel de poliácridamida e coloração com nitrato de prata.



Resultados

Na detecção genérica de *Salmonella* pela PCR em tempo real, pelo gene *invA*, todas as amostras apresentaram-se viáveis para tipificação (Tabela 1). 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 (todos estes isolados haviam sido previamente identificados como sorotipo Gallinarum e Pullorum, respectivamente). Dos demais 73 isolados (previamente identificados como sorotipos Enteritidis, Typhimurium e outros) apresentaram resultado negativo nos testes de detecção específica, exceto cinco amostras, uma sorotipada como Enteritidis, bem como três amostras sorotipadas como outro sorotipo de *Salmonella* apresentaram resultado positivo apenas para o gene *glgC*. Um isolado sorotipado como outro sorotipo de *Salmonella* apresentou resultado positivo para os genes *glgC* e *speC*.

Tabela 1: Detecção de amostras de *Salmonella* por PCR em tempo real para o gene *invA* e caracterização das mesmas por PCR convencional através dos genes *glgC* e *speC*

Sorotipo	n	<i>invA</i>	<i>glgC</i>	<i>speC</i>
Gallinarum	10	+	+	+
Pullorum	8	+	-	+
Enteritidis	6	+	-	-
Enteritidis	1	+	+	-
Typhimurium	10	+	-	-
Outro	52	+	-	-
Outro	3	+	+	-
Outro	1	+	+	+
Total	91			

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. Estes procedimentos são uma alternativa eficiente para a identificação dos principais biovars associados 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.
- BRAUNWALD, E. et al. Harrison Medicina Interna. In: PEGUES, D.A.; MILLER, S.I. **Salmoneloses**. 17.ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2008. Cap.146, p.956-962.
- 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.
- SOUMET, C. et al. Evaluation of different DNA extraction procedures for the detection of *Salmonella* from chicken products by polymerase chain reaction. **Letters in Applied Microbiology**, [s.l.], 1994. Cap.5, p.294-298.