

ANÁLISE GENÉTICA E GENÔMICA DE ISOLADOS DE *SALMONELLA* SOROTIPO GALLINARUM DE CASOS DE TIFO AVIÁRIO NO BRASIL

Silvia De Carli¹, Fernanda Kieling Moreira Lehmann², Nilo Ikuta³ e Vagner Ricardo Lunge³

¹ Aluna do curso de Medicina Veterinária - Bolsista PIBIC – FAPERGS – silvia.decarli@hotmail.com

² Laboratório de Diagnóstico Molecular – ULBRA – fernandakieling@gmail.com

³ Professor do PPGBiosáude e curso de Medicina Veterinária– ikuta.ulbra@gmail.com e Vagner.lunge@gmail.com

⁴ Orientador

Introdução

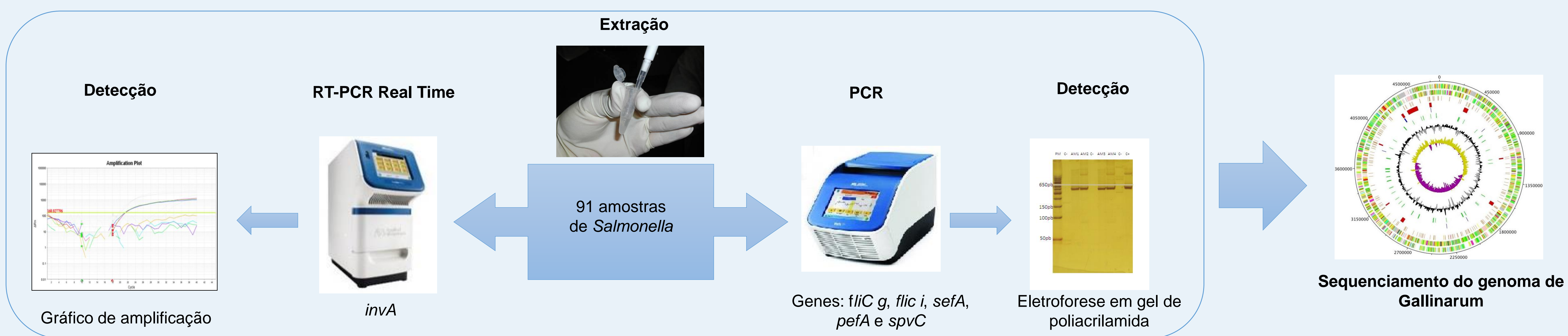
As doenças infecciosas aviárias são de grande importância em toda a cadeia de produção, pois causam perdas econômicas significativas. Entre estas, o tifo aviário e a pulorose são infecções causadas pelo sorotipo Gallinarum e Pullorum que apresentam altos índices de mortalidade em criações de aves. Surtos deste sorotipo têm aparecido com frequência no Brasil e outros países da América do Sul nos últimos anos. O motivo desta “reemergência” ainda é muito estudado, sendo levantadas as seguintes possibilidades: latência desta bactéria em aves de “fundo de quintal” (criações de subsistência com menor rigor de biossegurança), não erradicação de animais sintrópicos e do cascudinho (potenciais reservatórios de *Salmonella*) nas dependências industriais e conversão da cepa vacinal atenuada 9R em virulenta. A detecção convencional de *Salmonella* é realizada por isolamento bacteriano seguido de avaliações bioquímicas e sorológicas, ferramentas moleculares como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento genômico fornecem informações poderosas para comparação de isolados.

Objetivo

O objetivo do presente estudo foi realizar análise genética e genômica de isolados de *Salmonella* Gallinarum de surtos de tifo aviário/pulorose que ocorreram no Brasil nos últimos três anos.

Materiais e Métodos

Um banco de dados foi elaborado a partir de 91 isolados de *Salmonella*, entre os anos de 2011 e 2014. Destes isolados, selecionou-se os sorotipos Gallinarum e Pullorum para o estudo. O processamento das amostras está ilustrado abaixo.



Resultados e Discussão

Todas as amostras apresentaram resultado positivo para o gene *invA*, confirmando serem isolados de *Salmonella*, e foram utilizadas para amplificação dos demais genes (Tabela 1).

Uma amostra de biovar Gallinarum foi escolhida para sequenciamento genômico. Os resultados demonstraram que o genoma completo possui 4.718.352 bp. Na comparação com a cepa de referência Brasileira 287/91 verificou-se um alto grau de concordância (99,8%). A análise de SNPs foi realizada através de uma ferramenta do programa Geneious e constatou-se a presença de 795 variações ao longo do genoma, quando comparado à sequência de referência.

Verificou-se uma grande deleção de 6.526bp ao comparar a sequência do presente estudo com a cepa de referência 287/91, esta região corresponde ao operon flagelar *srfABC*. Novas análises estão sendo realizadas para completa elucidação do genoma de *Salmonella* Gallinarum, bem como o sequenciamento de outras amostras para ampliação do estudo.

Tabela 1. Amostras de *Salmonella* Gallinarum e Pullorum utilizadas no estudo e detecção de genes específicos.

Biovar	Estado	Categoria	<i>InvA</i>	<i>fliC i</i>	<i>fliC g</i>	<i>sefA</i>	<i>pefA</i>	<i>glgC</i>	<i>speC</i>	<i>spvC</i>
Gallinarum	RS	Matriz	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos
Gallinarum	RS	Matriz	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos
Gallinarum	RS	Matriz	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg
Gallinarum	RS	Matriz	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos
Gallinarum	SC	Frangos	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos
Gallinarum	RS	Matriz	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg
Gallinarum	RS	Matriz	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg
Gallinarum	RS	Matriz	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos
Gallinarum	RS	Matriz	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	NR
Gallinarum	RS	Matriz	Pos	Neg	Neg	Pos	Neg	Pos	Pos	NR
Pullorum	SC	Frangos	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	Neg
Pullorum	SC	Frangos	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	Neg
Pullorum	SC	Frangos	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	Neg
Pullorum	RS	Frangos	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	Pos
Pullorum	SP	Genética	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	NR
Pullorum	SP	Genética	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	NR
Pullorum	DF	Matriz	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	NR
Pullorum	DF	Matriz	Pos	Neg	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	NR

NR= Não realizado.

Conclusão

Até o momento verificou-se que o sequenciamento de próxima geração possibilita uma gama de análises, assim, aumentando a possibilidade de investigação da origem de surtos através do rastreamento de SNPs para caracterizar a evolução genética. A amostra estudada até o presente momento apresentou alto grau de similaridade a cepa de referência, isto indica que não ocorreu muita divergência entre de um surto de tifo aviário de 1991 para 2014.

Referências Bibliográficas

Kang, M. S., Kwon, Y. K., Jung, B. Y., Kim, A., Lee, K. M., An, B. K., Song, E. A., Kwon, J. H., Chung, G. S. Differential identification of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum biovars Gallinarum and Pullorum based on polymorphic regions of *glgC* and *speC* genes. *Vet Microbiol*, n. 141, p. 181-185. 2011.

Faison, W. J., Rostovtsev, A., Castro-Nallar, E., Crandall, K. A., Chumakov, K., Simonyan, V., Mazumder, R. Whole genome single-nucleotide variation profile-based phylogenetic tree building methods for analysis of viral, bacterial and human genomes. *Genomics*, v. 104, n.1, p. 1-7, jul. 2014.

Batista, D. F., Freitas Neto, O. C., Barrow, P. A., Oliveira, M. T.; Almeida, A. M., Ferraudo, A. S.; Berchieri, A. Jr. Identification and characterization of regions of difference between the *Salmonella* Gallinarum biovar Gallinarum and the *Salmonella* Gallinarum biovar Pullorum genomes. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 30, p. 74-81, mar. 2015.