



Detecção de *Salmonella* e caracterização genética molecular de surtos de pulorose e tifo aviário no Brasil

Nathalie de Souza Zanetti, Silvia De Carli, Diéssy Kipper, Fernanda Kieling
Moreira Lehmann, Nilo Ikuta, Vagner Ricardo Lunge
Curso de Graduação em Medicina Veterinária - Ulbra

Introdução e Objetivo

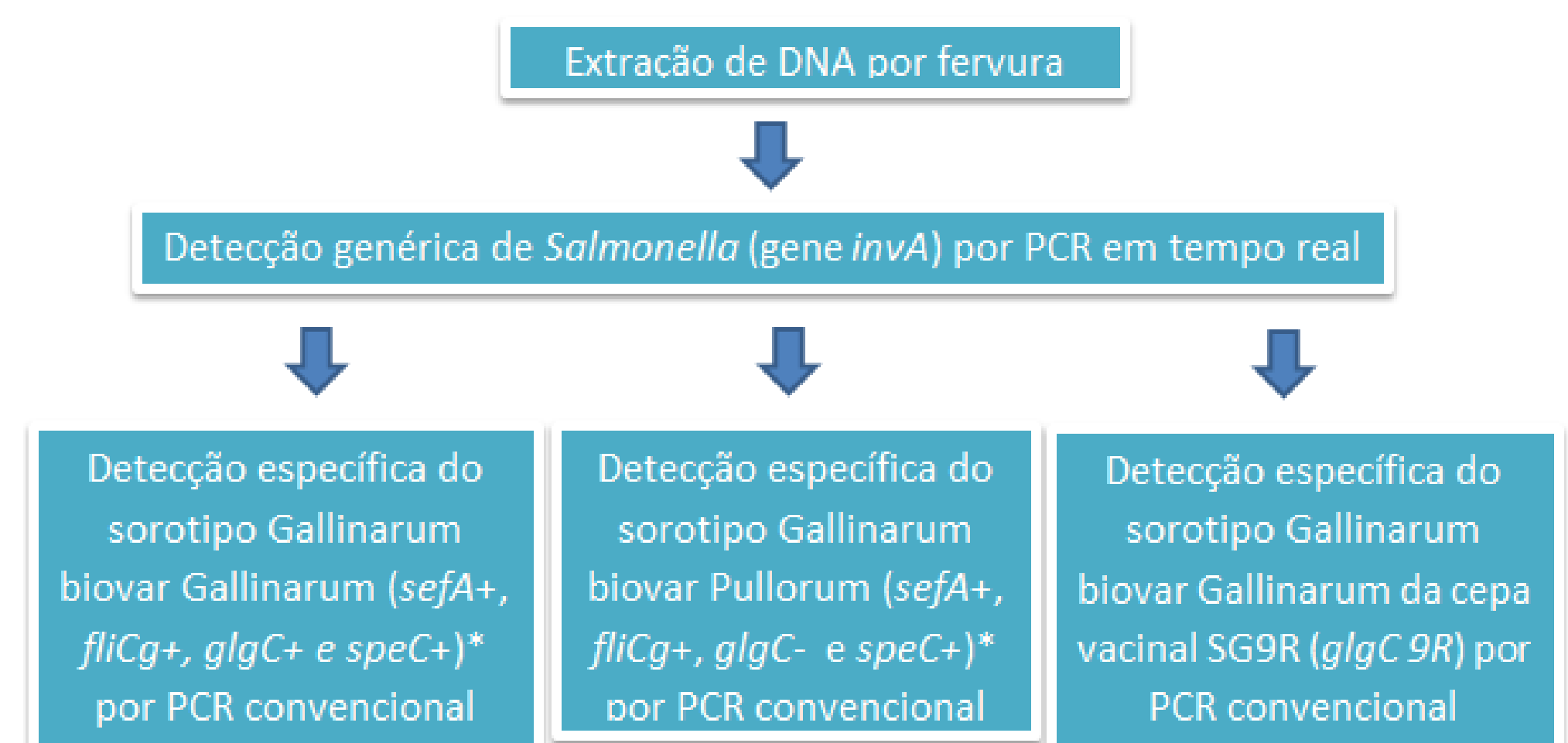
A *Salmonella* é uma bactéria da família *Enterobacteriaceae*, classificada em mais de 2.500 sorotipos. As salmonelas do sorotipo Gallinarum, que inclui os biovars Gallinarum e Pullorum, infectam as aves causando tifo aviário e pulorose, respectivamente. Surtos destas doenças têm ocorrido em lotes de produção industrial de aves no Brasil nos últimos anos, causando grandes perdas econômicas. O avanço destas infecções tem sido controlado com programas de biossegurança e imunização com vacina viva específica (cepa SG9R) nos lotes em produção. Os objetivos deste trabalho foram (1) detectar genes associados às biovars do sorotipo Gallinarum em isolados de *Salmonella* de aves e (2) identificar a cepa SG9R em amostras de lotes de produção comercial (vacinados ou não).

Materiais e Métodos

Amostras:

(a) 91 isolados de *Salmonella* previamente sorotipados e provenientes de aviários não vacinados do Brasil entre 2011 e 2014 e (b) 50 isolados de lotes com suspeita de tifo aviário/pulorose submetidos ou não à vacinação com a cepa vacinal SG9R entre 2013 e 2015. Também foram obtidas culturas de referência dos biovars Gallinarum e Pullorum e uma cepa vacinal SG9R para uso como controles na reações.

Método Analítico:



*Padrão esperado para os biovars Gallinarum e Pullorum, o + indica a presença do gene e o - a ausência do mesmo.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que todos isolados apresentaram amplificação do gene *invA*, confirmando que as culturas eram *Salmonella*. Na análise dos 91 isolados, dez isolados do biovar Gallinarum apresentaram resultado positivo nos quatro PCRs (*sefA*, *fliCg*, *glgC* e *speC*) enquanto oito isolados do biovar Pullorum apresentaram resultado positivo em três PCRs (*sefA*, *fliCg* e *speC*), como o esperado. Os isolados de outros sorotipos (Enteritidis, Typhimurium, etc.) apresentaram outros perfis de detecção, possibilitando a diferenciação das biovars Gallinarum e Pullorum (Tabela 1). A análise das 50 amostras, de lotes vacinados ou não, demonstrou a ocorrência de 31 isolados do biovar Gallinarum (sendo 20 de SG9R) e 19 de outras salmonelas (Tabela 2). Os isolados também foram analisados para a ocorrência dos genes *pefA* e *fliCg*, usualmente presentes no genoma das salmonelas dos sorotipos Enteritidis/Typhimurium e Typhimurim, respectivamente.

Os genes *speC*, *glgC* e *glgC 9R*, permitem a diferenciação dos biovars Gallinarum e Pullorum, foram testados neste trabalho a partir de estudos realizados na Coreia e apresentaram-se altamente sensíveis e específicos para as amostras do Brasil, sendo úteis para o diagnóstico diferencial e rápido de aves com pulorose ou tifo aviário em laboratórios avícolas (Kang et al., 2011; Kang et al., 2012).

Tabela 1: Perfil genético molecular dos 91 isolados de *Salmonella*.

Sorotipo	Padrão	n	<i>invA</i>	<i>fliCi</i>	<i>fliCg</i>	<i>sefA</i>	<i>pefA</i>	<i>glgC</i>	<i>speC</i>
Gallinarum biovar Gallinarum		10	•	○	•	•	○	•	•
Gallinarum biovar Pullorum		8	•	○	•	•	○	○	•
Typhimurium		10	•	•	○	○	•	○	○
Enteritidis	I	4	•	○	•	•	○	○	○
	II	3	•	○	•	•	•	○	○
Outro sorotipo (indeterminado)	I	37	•	○	○	○	○	○	○
	II	6	•	○	•	○	○	○	○
	III	5	•	○	○	•	○	○	○
	IV	2	•	•	○	○	○	○	○
	V	2	•	○	○	○	•	○	○
	VI	1	•	•	○	○	•	○	○
	VII	1	•	○	○	•	•	○	○
	VIII	1	•	○	•	○	•	○	○
IV	1	•	○	•	•	○	○	○	
Total		91	91	13	33	32	18		

*O círculo preto indica que o gene foi detectado na amostra de *Salmonella* testada, enquanto o círculo branco indica que o gene estava ausente.

Tabela 2: Detecção dos 50 isolados de *Salmonella* e caracterização dos genes *glgC*, *speC* e *glgC 9R*.

Sorotipo	n	<i>invA</i>	<i>glgC</i>	<i>speC</i>	<i>glgC 9R</i>
Gallinarum biovar Gallinarum	11	+	+	+	-
<i>Salmonella</i> Gallinarum vacinal SG9R	20	+	+	+	+
Outro (indeterminado)	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 SG9R 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.