



# ANÁLISE DE GENOMA COMPLETO REVELA A ORIGEM DE *SALMONELLA GALLINARUM* DE CASOS RECENTES DE TIFO AVIÁRIO NO SUL DO BRASIL

Silvia De Carli<sup>1,2</sup>, Tiago Gräff<sup>2</sup>, Nathalie Zanetti<sup>2</sup>, Diéssy Kipper<sup>2</sup>, Fernanda Kieling Moreira Lehmann<sup>2</sup>, André K. Salvador<sup>2,3</sup>, Nilo Ikuta<sup>2,3</sup> e Vagner Ricardo Lunge<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Graduanda do curso de Medicina Veterinária – ULBRA – Canoas

<sup>2</sup>Laboratório de Diagnóstico Molecular – ULBRA – Canoas

<sup>3</sup>Simbios Biotecnologia – Cachoeirinha

\*Orientador: vagner.lunge@gmail.com

## INTRODUÇÃO

O tifo aviário (TF) é uma infecção que ocorre em aves e é causada pela bactéria *Salmonella* do sorotipo Gallinarum biovar Gallinarum (*S. Gallinarum*). A doença causa altos índices de mortalidade em lotes de produção comercial, portanto o controle da bactéria é estabelecido no Plano Nacional de Sanidade Avícola (PNSA). Este plano determina a eliminação dos lotes contaminados para evitar a disseminação em regiões de produção avícola. No entanto, surtos de tifo aviário têm ocorrido com frequência no Brasil nos últimos anos, resultando em grandes perdas econômicas. Esta alta incidência ainda não tem explicação definitiva, mas dois fatores são especulados: (i) ausência de medidas mais rígidas de biossegurança nas granjas e (ii) utilização intensiva da cepa vacinal SG9R com possível ocorrência de reversão de virulência.

## OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo detectar e caracterizar isolados de *S. Gallinarum* obtidos de casos recentes de TF no Sul do Brasil.

## MATERIAIS E MÉTODOS

10 isolados coletados de lotes com surtos de tifo aviário coletadas em 2014 nos Estados RS e SC

Extração do DNA pelo método de fervura

Deteção genes específicos (*glgC* e *speC*) para *S. Gallinarum* por Reação em cadeia da polimerase (1)

Ribotipagem das regiões intergênicas (ITR) do operon *rrnH* pelo método de sequenciamento de Sanger (2)

Sequenciamento do genoma BR\_RS12 Plataforma MiSeq Illumina® (3)

Análise filogenética (snpTree) com genoma de referência 287/91 e vacinais SG9, SG9R e MB4523

Análise de SNPs em genes específicos descritos por Van Immerseel et al. (2013) como responsáveis pela reversão da virulência da cepa vacinal

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 10 isolados foram confirmados como *S. Gallinarum* pelos testes de PCR específicos (*glgC* e *speC*). A análise das ITRs revelou que todos isolados descritos nesse estudo agruparam-se em um mesmo ramo da árvore filogenética com 100% de similaridade.

O sequenciamento do genoma e posterior análise de SNPs entre os isolados brasileiros (287/91 e BR\_RS12) apresentou o mesmo perfil de alterações, diferente das outras cepas relacionadas com a vacina SG9R (Tabela 1). A análise filogenética confirmou que os isolados brasileiros são mais relacionados entre si (Figura 1). Segundo de Souza et al. (2015) utilizando a técnica de ERIC-PCR também encontrou padrões de cepas de campo diferentes da vacinal. Estes achados sugerem o não envolvimento da vacinação em surtos recentes de tifo aviário.

Tabela 1. Padrões genéticos entre as cepas SG9, SG9R, MB4523, 287/91 e BR\_RS12 segundo posições descritas por Van Immerseel et al. (2013).

| Posição SNP | Gene        | Cepa SG9 <sup>a</sup> |    | Cepa SG9R <sup>b</sup> |      | Cepa MB4523 <sup>c</sup> |      | Cepa 287/91 <sup>d</sup> |    | Cepa BR_RS12 <sup>e</sup> |    |
|-------------|-------------|-----------------------|----|------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|----|---------------------------|----|
|             |             | Nt                    | AA | Nt                     | AA   | Nt                       | AA   | Nt                       | AA | Nt                        | AA |
| 179676      | <i>aceE</i> | aTc                   | I  | aAc                    | N    | aTc                      | I    | aTc                      | I  | aTc                       | I  |
| 3904242-3   | <i>rfaJ</i> | tCA                   | Y  | tAA                    | STOP | tAT                      | Y    | tCA                      | Y  | tCA                       | Y  |
| 817373      | <i>galT</i> | Gaa                   | E  | Aaa                    | K    | Aaa                      | K    | Aaa                      | K  | Aaa                       | K  |
| 3432990     | <i>btuB</i> | tCA                   | Y  | tAA                    | STOP | tAA                      | STOP | tCA                      | Y  | tCA                       | Y  |
| 1026921     | <i>dpaL</i> | aAt                   | N  | aAt                    | N    | aGt                      | S    | aAt                      | N  | aAt                       | N  |
| 1783872     | <i>sseC</i> | aAt                   | N  | aAt                    | B    | aGt                      | S    | aAt                      | N  | aAt                       | N  |
| 2240972     | <i>pegB</i> | atC                   | I  | atC                    | I    | atA                      | I    | atC                      | I  | atC                       | I  |
| 2398116     | <i>menC</i> | Gag                   | E  | Gag                    | E    | Tag                      | STOP | Gag                      | E  | Gag                       | E  |
| 3730062     | <i>yieO</i> | cGa                   | R  | cGa                    | R    | cTa                      | L    | cGa                      | R  | cGa                       | R  |
| 4021808     | <i>bcsC</i> | Cag                   | Q  | Cag                    | Q    | Tag                      | STOP | Cag                      | Q  | Cag                       | Q  |
| 4345332     | SG4114      | Gcg                   | A  | Gcg                    | A    | Acg                      | T    | Gcg                      | A  | Gcg                       | A  |
| 4620917     | intergenic  | A                     | -  | A                      | -    | G                        | -    | A                        | -  | A                         | -  |

<sup>Nt</sup> nucleotídeo

<sup>AA</sup> aminoácido

<sup>a</sup> cepa progenitora da vacinal

<sup>b</sup> cepa vacinal atenuada

<sup>c</sup> cepa revertente da virulência da vacina SG9R

<sup>d</sup> cepa brasileira isolada em 1991

<sup>e</sup> cepa descrita nesse estudo e isolada em 2014

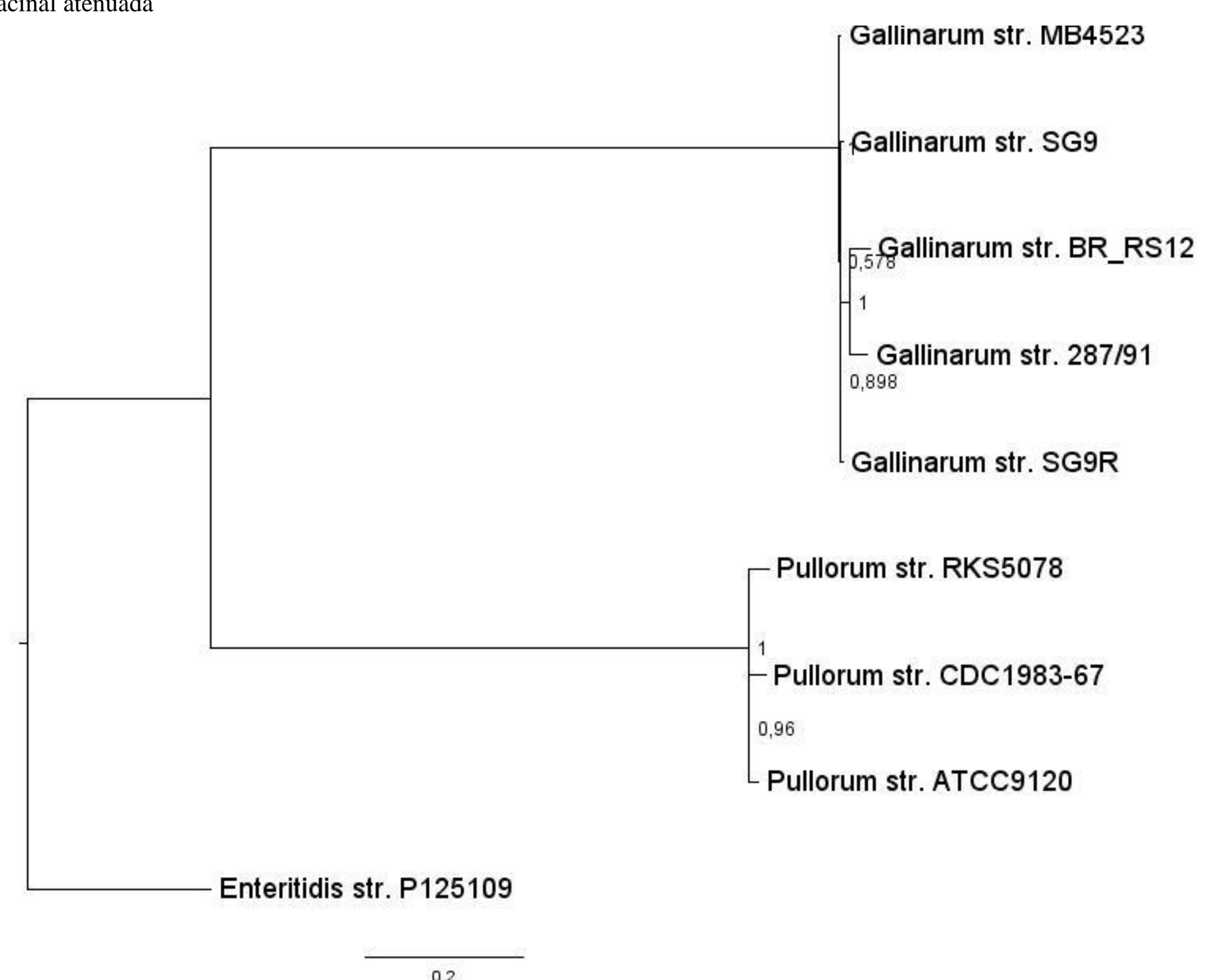


Figura 1. Análise filogenética de SNPs dos genomas de *Salmonella Gallinarum*, *Pullorum* e *Enteritidis*.

## CONCLUSÕES

Pode-se concluir que os eventos que estão ocorrendo no Brasil são devido a uma cepa ancestral brasileira. Esta provavelmente se manteve viável em aves ao longo dos anos e voltou a ser disseminada pela falta de biossegurança. Mais estudos são necessários para completa elucidação da origem dos surtos que ocorrem no Brasil.

## REFERÊNCIAS

- KANG, M. S.; KWON, Y. K.; JUNG, B. Y.; 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*, v. 147, n. 1-2, p. 181–185, abr. 2011.
- PULIDO-LANDÍNEZ, M.; SÁNCHEZ-INGUNZA, R.; GUARD, J.; NASCIMENTO, V. P. DO. Presence of *salmonella enteritidis* and *salmonella gallinarum* in commercial laying hens diagnosed with fowl typhoid disease in Colombia. *Avian Diseases*, v. 58, n. 1, p. 165–170, abr. 2014.
- CARLI, S. DE; GRÄF, T.; MAYER, F. Q.; et al. Draft Genome Sequence of a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Gallinarum bv. Gallinarum Isolate Associated with Fowl Typhoid Outbreaks in Brazil. *Genome announcements*, v. 4, n. 1, p. 1–2, mar. 2016.
- SECUNDO DE SOUZA, A. I.; FREITAS NETO, O. C. DE; BATISTA, D. F. A.; et al. ERIC-PCR genotyping of field isolates of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum biovars Gallinarum and Pullorum. *Avian Pathology*, v. 44, n. 6, p. 475–479, fev. 2015.