



Detecção dos biovars Gallinarum, Pullorum e da cepa 9R de *Salmonella* pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em isolados bacterianos de granjas avícolas

ZANETTI, N.S.¹; LUNGE, V.R.¹

1- Universidade Luterana do Brasil- ULBRA- Canoas- RS- Brasil

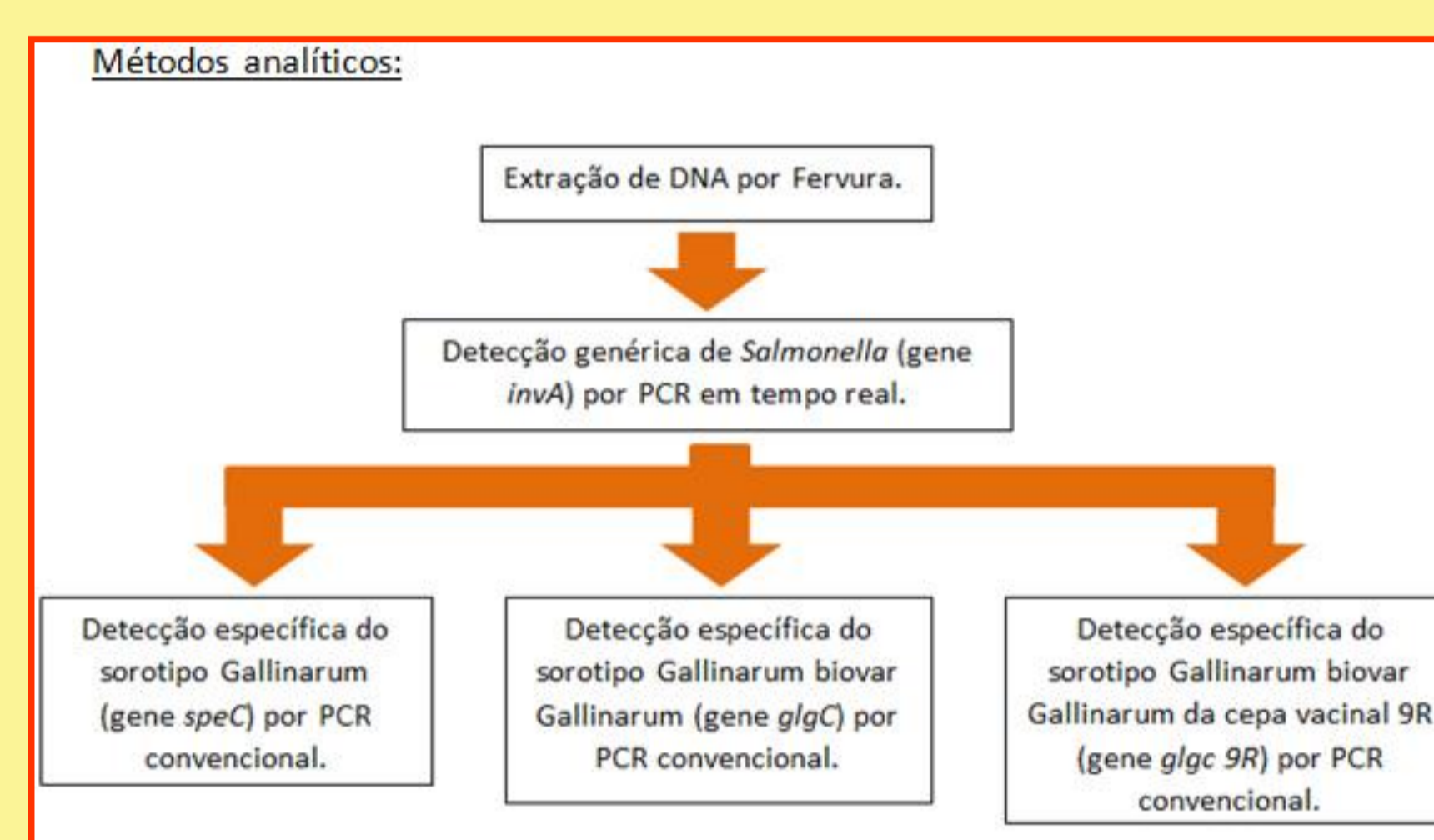
Introdução e Objetivo

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. As salmonelas do sorotipo Gallinarum, que inclui os biovars Gallinarum e Pullorum, infectam as 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, 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* (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, enquanto os demais isolados apresentaram resultados negativos (dados não mostrados).

Tabela 1: Detecção de amostras de *Salomonella*, de aviários não 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	10	+	+	+	-
Pullorum	8	+	-	+	-
Enteritidis	7	+	-	-	-
Typhimurium	10	+	-	-	-
Outro	55	+	-	-	-
Outro	1	+	+	-	-
Total	91				

Tabela 2: Detecção de amostras de *Salomonella*, 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.
- ❖ 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.