



Detecção molecular de *Salmonella Gallinarum* e diferenciação de isolados de campo da cepa vacinal SG9R

Karen Karine da Rosa Dias¹, Fernanda Kieling Moreira Lehmann³, Vagner Ricardo Lunge^{2,3}, Paula Richter¹, Nilo Ikuta^{2,3}
1-Graduação Medicina Veterinária/ULBRA, 2-Docente ULBRA, 3-Laboratório de Diagnóstico Molecular/ULBRA

INTRODUÇÃO

O tifo aviário é uma enfermidade causada pela *Salmonella enterica serovar Gallinarum* (SG). Apesar de historicamente ser de baixa ocorrência no Brasil, surtos desta doença têm sido recorrentes em alguns Estados. A cepa atenuada 9R (SG 9R) é utilizada com sucesso em programas de vacinação em vários países, porém a dificuldade de diferenciá-la de cepas de campo restringe o seu emprego de forma mais extensiva.

OBJETIVO

Recentemente foi desenvolvida uma técnica (duplex PCR) capaz de detectar a presença de SG e identificar no mesmo ensaio a cepa vacinal SG9R. Esta técnica mostrou-se eficiente na caracterização de SGs que circularam na Coreia, e assim, o presente estudo teve como objetivo verificar se esta metodologia é capaz também de detectar e diferenciar SGs que têm circulado no Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Etapa 1- Foram analisadas amostras isoladas de *Salmonella Gallinarum* provenientes de 19 lotes de uma região onde ocorreu um surto no Rio Grande do Sul em 2013. Seis lotes se caracterizaram pela presença de aves com sinais clínicos compatíveis com tifo aviário, enquanto 13 lotes foram provenientes de aves vacinadas sem manifestações clínicas da doença.

Etapa 2- Posteriormente foram analisadas 59 amostras, fornecidas gentilmente por um laboratório comercial. As amostras consistiram de inóculos em água peptonada que foram preparadas a partir de coletas em lotes de diferentes Estados do país. Estas foram caracterizadas como:

- cultivos SG positivas;
- cultivos *Salmonella* positivas com sorotipos não relacionados com SG; culturas mistas onde não foi possível identificar o sorotipo.

Para verificar a viabilidade das amostras, realizou-se inicialmente a detecção genérica de *Salmonella* pela PCR em tempo real.

Etapa 3- As amostras que foram positivas na PCR em tempo real foram amplificadas em um duplex de SG/9R em PCR convencional.



RESULTADOS

Etapa 1: A técnica de duplex PCR confirmou a cepa vacinal 9R nos 13 lotes vacinados, enquanto os demais lotes apresentaram o padrão não vacinal, indicando que a técnica é eficiente na diferenciação dos isolados.

Etapa 2 e 3: Estavam viáveis para tipificação 26 amostras de SG, 12 sorotipos não relacionados com SG e 6 amostras com infecção mista. No procedimento de tipificação com o duplex PCR todas as amostras identificadas previamente como SG foram confirmadas pelo teste, dos quais 4 compatíveis com a cepa SG9R. Por outro lado, não se observou conflito de resultados em nenhuma das amostras não relacionadas com SG (12), confirmando a especificidade do teste. Por fim, dentre as 6 amostras previamente identificadas como culturas mistas, constatou-se a presença de 2 casos de SG, demonstrando que a técnica possui capacidade de tipificação inclusive em cultivos mistos (Tabela 1).

		Resultados LDM				Total
		invA (+)	invA (-)	SG campo	Vacina 9R	
Dados Prévios	Gallinarum	0	6	24	2	32
	Outros sorotipos/mistos	16	6	0	2	24
	Não sorotipados	3	0	0	0	3
Total		19	12	24	4	59

Tabela 1 : Comparação dos dados prévios com o resultado obtido no LDM, através da amplificação pela PCR em tempo real para o gene invA e duplex de SG/9R.

CONCLUSÃO

Este estudo indica que a técnica de duplex PCR é eficiente em detectar e tipificar SG que circularam no país, e a mesma pode ser utilizada no monitoramento de programas de vacinação e também como ferramenta para o diagnóstico de tifo aviário.

BIBLIOGRAFIA

- Júnior A. B., Neto O. C. F. Salmoneloses Aviárias In Júnior AB, Silva EM, Fábio JD, Sesti L, Zuanaze MAF. *Doenças das Aves*, 2ª ed. P.:435-446, 2009.
- 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*. Veterinary Microbiology V.147 P.181-185, 2011
- Kang M.-S., Kwon Y.-K., Kim H.-R., Oh J.-Y., Kim M.-J., An B.-K., Shin E.-G., Kwon J.-H, Park C.-K. *Differential identification of Salmonella enterica serovar Gallinarum biovars Gallinarum and Pullorum and the biovar Gallinarum live vaccine strain 9R*, Veterinary Microbiology V.160 P.491-495, 2012