

COMPORTAMENTO BIOQUÍMICO E COMPOSIÇÃO ANTIGÊNICA DE CULTURAS DE *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* ISOLADAS NO BRASIL¹

CHARLOTTE H. LANGENEGGER², JEROME LANGENEGGER² E LÍVIA M.G. ARAÚJO²

ABSTRACT.- Langenegger C.H., Langenegger J. & Araújo L.M.G. 1982. [Biochemical behavior and antigenic composition of *Salmonella gallinarum* and *S. pullorum* cultures isolated in Brazil.] Comportamento bioquímico e composição antigênica de culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* isoladas no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(4):149-154. Embrapa - Patologia Animal, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460, Brazil.

The biochemical behavior of 39 cultures of *Salmonella gallinarum* and *S. pullorum*, isolated from natural outbreaks in birds, revealed that 14 (35.9%) possessed characteristics of *S. gallinarum*, and 25 (64.1%) of *S. pullorum*. Screening by the ammonium sulfate precipitation test did not reveal the presence of "variant" cultures. The antigenic structure of the 39 cultures was characterized by a high concentration of specific factor 9, absence or only traces of partial factor 12₂ and moderate quantities of partial factor 12₃, indicating that all 39 cultures were of the standard type. The uniformity of the antigenic composition and small quantitative variation of the antigenic factors of each of the cultures, indicate that the outbreaks of pullorum disease and fowl typhoid, occurring in the last three years, most likely originated from native strains existing in Brazil for several years.

INDEX TERMS: *Salmonella gallinarum*, *S. pullorum*, antigenic composition, biochemical behavior, occurrence in Brazil.

SINOPSE.- O comportamento bioquímico de 39 culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*, isoladas de focos naturais em aves, revelou que 14 (35,9%) apresentaram as características de *S. gallinarum* e 25 (64,1%) de *S. pullorum*. A triagem pelo teste de precipitação pelo sulfato de amônia não acusou a presença de culturas "variantes" entre elas. A estrutura antigênica das 39 culturas caracterizou-se pela alta concentração do fator específico 9, ausência ou apenas traços do fator parcial 12₂ e moderada quantidade do fator parcial 12₃, mostrando tratar-se tão somente de culturas "padrões". A uniformidade da fórmula antigênica e a pouca variação quantitativa dos fatores antigênicos de cada uma das culturas permitem supor que os focos de pulorose e de tifo aviário, ocorridos nos últimos três anos, procedem de culturas autóctones já existentes no país há muitos anos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*, composição antigênica, comportamento bioquímico, ocorrência no Brasil.

INTRODUÇÃO

O controle da pulorose e do tifo aviário, em galinhas e perus, vem sendo feito, satisfatoriamente, através da soro-aglutinação rápida em placa com sangue total e antígeno corado, em muitos países, inclusive no Brasil. Este método de diagnóstico das infecções por *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*, bem como a clássica soro-aglutinação lenta em tubos ou os mais modernos testes de microaglutinação e de microantiglobulina (Williams & Whittemore 1973, 1979, Silva et al. 1978) não exclui, no entanto, a interferência de reações paraespecíficas desenvolvidas por infecções como as de *S. typhimurium* e outras salmonelas que têm, em comum, um ou mais fatores antigênicos de *S. gallinarum* e *S. pullorum* (Sanders et al. 1943, Hinshaw & McNeil 1944, Monteverde & Simeone 1944, Wilson 1947, July et al. 1969, Izzi et al. 1974, Silva & Hipólito 1977, 1978) nem de reações cruzadas inespecíficas causadas por várias outras bactérias (Garrard et al. 1946, 1947, Carpenter et al. 1947, Burton & Garrard 1948, July & Hipólito 1970, Monteverde et al. 1971, Terzolo et al. 1977).

A existência, embora em pequeno número, das chamadas formas "variantes" de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, nas quais a variação quantitativa da composição antigênica (Kauffmann 1941, Edwards & Bruner 1946, Wright & Edwards 1948, Roots 1952, Kusters 1965a) pode ser tão acentuada a ponto de perder a especificidade para os soros das salmonelas

¹ Aceito para publicação em 31 de maio de 1982.

² Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460.

“padrões” (Younie 1941, 1942, Byrne 1943, Gwatkin 1945a, Edwards et al. 1948, Snoeyenbos et al. 1950, Roots 1952), forçou a inclusão de culturas “variantes” como componentes do antígeno, que passou a ser designado como polivalente e é assim usado na rotina de diagnóstico da pulorose e do tifo aviário em vários países (Gwatkin 1945b, Papageorgiou et al. 1968).

Se, por um lado, este antígeno polivalente assegura a detecção de infecções por possíveis formas “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, por outro lado revela maiores índices de reações cruzadas inespecíficas do que o antígeno elaborado com culturas providas da composição antigênica padrão (Geissler & Kusters 1964, Papageorgiou et al. 1968, July & Hipólito 1970, Silva et al. 1978).

O uso do antígeno polivalente deveria ser recomendado apenas nos países em que, comprovadamente, ocorre a infecção por formas “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum*. No Brasil, há mais de 25 anos passados, Reis e Nobrega (1956) não conseguiram demonstrar a existência de formas “variantes”.

Diante desta problemática e na ausência de outros dados bibliográficos que mostrem a ocorrência de formas “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* no Brasil, procurou-se examinar o comportamento bioquímico e a composição antigênica de culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* isolados de focos de pulorose e de tifo aviário, ocorridos em vários Estados, nos últimos anos, com o intuito de comprovar ou excluir a ocorrência destas formas “variantes”.

MATERIAL E MÉTODOS

Culturas de Salmonella gallinarum e *S. pullorum*. Foram examinadas 39 culturas isoladas de focos de pulorose e de tifo aviário de mortandades de pintos, de galinhas portadoras e de codornas jovens, procedentes de granjas de reprodução e de criações comerciais dos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Pernambuco. Cada cultura procedia de um foco, o que não exclui a possibilidade de que vários focos tenham tido origem em um mesmo incubatório. As culturas foram isoladas nos últimos três anos e mantidas em meio à base de ovo até a presente data. Quinze das 39 culturas foram isoladas e identificadas por outros laboratórios.³ Foram utilizadas como controles a cultura padrão TI-184/64 e a “variante” Hen 296.⁴

Diferenciação bioquímica. A variação no comportamento bioquímico entre as amostras de *S. gallinarum* e as de *S. pullorum* foi determinada pelos testes de fermentação da glucose, da ramnose, da maltose e do dulcitol, e de utilização do D-tartarato e do mucato, bem como pelos testes da ornitina descarboxilase e da cisteína-gelatina preconizados por Trabulsi e Edwards (Cit. Edwards & Ewing 1962).

³ Cedidas pelo Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro e pelo Laboratório de Biologia Animal, PESAGRO, Niterói, Rio de Janeiro.

⁴ Procedentes do Institut fuer Veterinaermedizin des Bundesgesundheitsamtes, Tielallee 88-92, D-1000 Berlin 33.

Teste de precipitação pelo sulfato de amônia. A diferenciação entre culturas “padrões” e “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* pela floculação relativa e sedimentação em solução aquosa de sulfato de amônia (Williams 1953a,b, Williams & Harris 1955), consistiu em: a) suspender duas alças (diâmetro 4 mm) cheias de cultura recente da salmonela a testar em 0,5 ml de salina formolada a 1%, contida num tubo de centrifugação 15 x 100 mm; b) após aquecimento da suspensão durante 3 minutos em vapor fluente, adicionar 8 ml da solução de sulfato de amônia (330 g em água destilada até completar um litro) e misturar; c) incubar a suspensão em banho-maria a 55°C durante 5 minutos e depois fazer a leitura contra fundo escuro, para avaliar a floculação; d) em seguida, centrifugar a 2.400 rpm durante 15 minutos e proceder à interpretação, que é a seguinte:

- culturas “padrões” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* apresentam nítida floculação e, após centrifugação, acentuado sedimento e sobrenadante claro;
- culturas “variantes” mostram constante e homogênea turvação e apenas traços de sedimentos;
- culturas “intermediárias” se caracterizam por moderada turvação e pequeno depósito.

Preparo do antígeno e execução da soro-aglutinação rápida em lâmina. O antígeno consistia na suspensão densa, numa gota de salina, das culturas de 24 horas em ágar simples de cada salmonela a ser testada.

A soro-aglutinação rápida era feita misturando-se um alça carregada dessa suspensão com uma gota de anti-soro conhecido sobre a lâmina. Após 10 segundos de movimentos imprimidos à mistura, fazia-se a leitura, cuja interpretação obedecia ao seguinte critério:

- +++ aglutinação espontânea com grandes grumos;
- ++ aglutinação espontânea com finos grumos;
- + reação retardada com finos grumos;
- sem aglutinação.

Preparo do antígeno para prova lenta. Segundo o método de White, cada uma das amostras de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, cultivadas em ágar simples, era suspensa em álcool absoluto e aquecido a 60°C em BM durante uma hora. Após a centrifugação (2.400 rpm durante 30 minutos), o álcool sobrenadante era decantado e as bactérias ressuspensas em salina fenicada a 0,5%. A densidade final do antígeno era ajustada ao tubo 3 da escala de McFarland.

Preparo de soro “0” anti-fator 1. O soro “0” anti-fator 1 foi obtido em coelho, pela inoculação intravenosa, seriada, da cultura de 24 horas, em caldo simples, de *S. senftenberg* (1, 3, 19), após o aquecimento a 100°C durante 2,5 horas, e formolada a 0,3%. O título do soro obtido foi de 1:2560 que, diluído a 1:5, era usado para a aglutinação rápida em lâmina.

Preparo do soro “0” anti-fator 9. Foi obtido, por inoculação intravenosa, seriada, em coelho, de uma cultura padrão de *S. gallinarum* (1, 9, 12), de 24 horas, em caldo simples, e

formolada a 0,3%. A absorção dos anti-fatores 1 e 12 deste soro foi feita com as culturas de *S. senftenberg* (1, 3, 19) e *S. paratyphi* A var. durazzo (2, 12₁, 12₃) e *S. typhimurium* var. copenhagen (1, 4, 12₁, 12₂), o que permitiu obter o soro monovalente "0" com título final de 1:2560. Para o uso na aglutinação rápida em lâmina foi diluído a 1:5.

Preparo do soro "0" anti-fator 12₂. Foi preparado, pela inoculação intravenosa, seriada, em coelho, de cultura de *S. reading* (4, 5, 12₁, 12₂) de 24 horas, em caldo simples, aquecida a 100°C durante 2,5 horas e formolada a 0,3%. A absorção do anti-fator 12₁ foi feita com a cultura de *S. paratyphi* A var. durazzo (2, 12₁, 12₃). Os anti-fatores 4 e 5 não necessitam ser absorvidos porque não interferem no objetivo do presente trabalho. A presença e a titulação do anti-fator 12₂ foram determinadas através aglutinação rápida em lâmina e lenta em tubos com antígeno preparado com a amostra "variante" Hen 296. O soro revelou título de 1:640.

Preparo do soro "O" anti-fator 12₃. Este soro foi preparado pela inoculação intravenosa, seriada, da cultura de *S. typhi* T2 (9, 12₁, 12₃) em coelho. O inóculo consistiu na cultura de 24 horas em caldo simples aquecida a 100°C durante 2,5 horas, e formolada a 0,3%. A absorção do anti-fator 9 foi feita com *S. strasbourg* (9, 46) e do anti-fator parcial 12₁ com a *S. reading* (4, 5, 12₁, 12₂). O título do soro permaneceu com título final de 1:320.

RESULTADOS

As 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, submetidas ao exame bacteriológico, revelaram comportamento bioquímico compatível com os perfis preconizados por Trabulsi e Edwards (Cit. Edwards & Ewing 1962), sendo caracterizadas 14 (35,9%) culturas de *S. gallinarum* e 25 (64,1%) de *S. pullorum*, conforme mostra o Quadro 1.

A diferenciação entre as culturas "padrões" e das formas "variantes" de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, em cuja estrutura antigênica somática sobressai a alta concentração do fator parcial 122, foi efetuada através do teste de precipitação pelo sulfato de amônia (Williams 1953a,b, Williams & Harris 1955) e pela determinação qualitativa e quantitativa da estrutura antigênica através da soro-aglutinação rápida e lenta (Wright & Edwards 1948, Kusters 1965a,b).

No teste de precipitação pelo sulfato de amônia, as 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, isoladas de focos de tifo aviário e de pulorose de galinhas, pintos e codornas de várias partes do Brasil, bem como a testemunha padrão TI 184/64, apresentaram nítida floculação e, após centrifugação, mostraram grande quantidade de sedimento com sobrenadante transparente. Em contraposição, a cultura "variante" Hen 296, servindo de testemunha, permaneceu turva e praticamente sem sinal de sedimento, após a centrifugação. Este resultado mostra que nenhuma das 39 culturas apresentou

as características da forma "variante" ou "intermediária" (Quadro 2).

Os testes sorológicos para determinar, qualitativa e quantitativamente, a estrutura antigênica das 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, visaram os seguintes fatores antigênicos:

a) fator 1: a presença do fator 1, determinada através do soro "0" anti-*S. senftenberg* (1, 3, 19) frente ao antígeno das 39 culturas, em testes de aglutinação rápida e lenta, não foi assinalada, a não ser na cultura "variante" Hen 296 testemunha, cujos resultados estão resumidos no Quadro 3;

b) fator 9: a presença e concentração do fator 9 foram avaliados pela aglutinação rápida e lenta com soro "0"

Quadro 1. Diferenciação bioquímica das 14 culturas de *Salmonella gallinarum* e das 25 de *S. pullorum*

Provas	Nº de amostras	Resultados das provas ^(a)		
		<i>S. gallinarum</i>	<i>S. pullorum</i>	
Glicose (gas)	39	-14	+ 6	-19
Ramnose	39	+14	+23 ^{1d} + 2 ^{2d}	
Maltose	39	+13 ^{1d} + 1 ^{2d}	+ 7 ^{4-6d}	-18
Dulcitol	39	+14		-25
D-tartarato	39	+14		-25
Mucato	39	+14		-25
Ornitina descarboxilase	39	-14	+25	
Cisteína-gelatina	39	+14		-25

(a)

Os índices significam dias até completar a reação.

Quadro 2. Resultado do teste de precipitação com sulfato de amônia das 39 culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*

Culturas	Floculação, grande sedimento, coluna clara (padrão)	Traços de floculação, moderada turvação, pequeno sedimento (intermediário)	Turvação persistente homogênea, traços de sedimento (variante)
39	39	-	-
TI 184 ^(a)	1	-	-
Hen 296 ^(b)	-	-	1

(a)

Testemunha padrão.

(b) Testemunha "variante".

anti-fator 9; os resultados das 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, bem como das duas culturas testemunhas, acusaram alta concentração do fator 9, como mostra o Quadro 4;

c) fator parcial 12₂: a avaliação sobre presença e concentração do fator parcial 12₂ nas culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, revelou que todas as 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* apresentavam ausência ou apenas traços do fator parcial 12₂, da mesma forma como a testemunha TI 184/64; no entanto, a amostra testemunha “variante” Hen 296 revelou alta concentração, com título de 1:640, de acordo com os dados apresentados no Quadro 5;

d) fator parcial 12₃: a presença e concentração do fator parcial 12₃, determinadas nas 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* como nas duas testemunhas “padrão” e “variante” revelaram variações de títulos entre 1:80 e 1:320, na soroprecipitação lenta. A testemunha padrão TI 184/64 acusou título na diluição de 1:160 e a testemunha “variante” Hen 296 na diluição de 1:80 (Quadro 6).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A análise do comportamento bioquímico das culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* sempre é recomendada, não só como contribuição para a identificação, mas também para estabelecer a diferenciação entre agentes etiológicos da pulrose e do tifo aviário, porque estas duas formas de doença

Quadro 3. Resultado da soro-aglutinação rápida e lenta das 39 culturas e duas testemunhas com soro “0” anti-fator 1

Culturas	Provas e títulos						
	Reação da prova rápida				Título da prova lenta		
	Neg.	+	++	+++	Neg.	1:10	1:20
39	39	—	—	—	39	—	—
TI 184/64	1	—	—	—	1	—	—
Hen 296	—	1	—	—	—	1	1 ^(a)
(a)	Aglutinação parcial.						

Quadro 4. Resultado da soro-aglutinação rápida e lenta das 39 culturas e duas testemunhas com soro “0” anti-fator 9

Culturas	Provas e títulos					
	Reação da prova rápida				Título da prova lenta	
	Neg.	+	++	+++	1:1280	1:2560
39	—	—	—	39	9	30
TI 184/64	—	—	—	1	—	1
Hen 296	—	—	—	1	1	—

têm características epizootológicas próprias e o controle dos surtos requer medidas diferentes.

A prevalência destas duas salmoneloses parece manter-se, em nosso meio, na proporção de 1:3, aproximadamente. Reis e Nobrega (1956), analisando 1.769 achados de necropsia de aves até 1936, encontraram 1,5% de casos de tifo aviário e 3,2% de pulrose; em 1956, avaliando 17.753 exames, verificaram que 1,8 eram tifo aviário e 4,3% de pulrose. Em 1977, Rodrigues e Hofer (1977), diferenciando bioquimicamente 77 culturas, demonstraram que 33,7% eram *S. gallinarum* e 66,2% *S. pullorum*. Também no presente trabalho os 39 focos estudados revelaram que 35,9% eram causados por tifo aviário e 64,1% por pulrose, guardando quase a mesma proporção.

A determinação da fórmula antigênica das culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* é indicada, periodicamente, como medida de vigilância sanitária, pois permite adotar os procedimentos adequados ao diagnóstico e às medidas de controle da doença. Embora ainda sejam desconhecidas as causas que provocam as alterações da estrutura antigênica, a ponto de interferir na especificidade do diagnóstico sorológico (Younie 1941, Sroeyenbos et al. 1950, Roots 1952), estas variações poderiam surgir nas culturas autóctones, ou então, poderiam ser introduzidas “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* de outros países.

A diferenciação entre culturas “padrões”, “intermediárias” ou “variantes” de *S. gallinarum* e *S. pullorum* pode ser feita facilmente, como meio de triagem, através do teste de precipitação pelo sulfato de amônia preconizado por Williams (1953a,b), em qualquer laboratório de diagnóstico. O resul-

Quadro 5. Resultado da pesquisa do fator parcial 12₂ nas culturas de Salmonella gallinarum e S. pullorum e duas testemunhas

Culturas	Provas e títulos						
	Reação da prova rápida				Título da prova lenta		
	Neg.	+	++	+++	Neg.	1:10	1:20 1:640
39	16	23	—	—	35	4	— —
TI 184/64	—	1	—	—	—	1	— —
Hen 296	—	—	—	1	—	—	— 1

Quadro 6. Resultado da determinação da presença e concentração do fator parcial 12₃ nas 39 culturas de Salmonella gallinarum e S. pullorum e duas testemunhas

Culturas	Provas e títulos					
	Reação da prova rápida				Título da prova lenta	
	Neg.	+	++	+++	1:80	1:160 1:320
39	—	12	27	—	17	18 4
TI 184/64	—	—	1	—	—	1 —
Hen 296	—	—	1	—	1	— —

tado do teste das 39 culturas e das duas testemunhas coincidiu com o dos exames sorológicos quanto à variação da estrutura antigênica.

A determinação sorológica qualitativa e quantitativa dos fatores antigênicos, tarefa de laboratório especializado em salmonelas, requer a elaboração dos soros somáticos anti-fatores 1 e 9 e dos subfatores 12₂ e 12₃, estes últimos não disponíveis comercialmente.

A importância do fator 1 está relacionada com reações cruzadas inespecíficas heterólogas e veio à tona na década de 1960 com as pesquisas de Geissler e Kusters (1964) e Kusters (1965a,b,c). Kusters (1965a), examinando 31 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* isoladas na Alemanha Ocidental, verificou que 28 continham o fator 1 com títulos variando de 1:40 a 1:1280 e apenas 3 culturas não acusaram a presença deste fator. Na presente pesquisa, nenhuma das 39 culturas revelou a presença do fator 1 em quantidades detectáveis, o mesmo acontecendo com a testemunha TI 184/64. A testemunha "variante" Hen 296 acusou título de 1:10.

O fator específico 9, presente em alta concentração em todas as 39 culturas, revelou títulos finais de 1:1280 e 1:2560, muito uniformes, variando apenas de uma diluição. Kusters (1965a) observou maior variação nos títulos. O maior título encontrado foi na amostra TI 184/64, que figura neste trabalho com a testemunha "padrão". O menor título foi fornecido pela "variante Holl" com quatro diluições a menos.

O fator parcial 12₂ estava ausente, ou presente em quantidades bem reduzidas, enquanto a testemunha "variante" Hen 296 apresentou título de 1:640. Este resultado tornou evidente a não existência de formas "variantes", nem "intermediárias" entre as 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum* examinadas, concordando com o teste de precipitação pelo sulfato de amônia.

O fator parcial 12₃ marcou sua presença com títulos médios variando até 1:320, dentro das características esperadas.

O resultado desta pesquisa revelou que as 39 culturas de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, isoladas de focos naturais de pulrose e tifo aviário, se comportaram como amostras padrões, contendo alta concentração do fator antigênico específico 9, ausência do fator 1, ausência ou traços do fator parcial 12₂ e moderada quantidade do fator 12₃. Estas características mostram que as culturas recentemente isoladas são semelhantes às examinadas por Reis e Nobrega (1956) há mais de 25 anos. Por outro lado, a uniformidade da estrutura antigênica e a pequena variação dos títulos dos fatores antigênicos entre si, comparadas com os resultados descritos por Kusters (1965a), permitem supor que as 39 amostras são oriundas de culturas autóctones presentes no país já há muitos anos.

Nestas circunstâncias, recomenda-se utilizar, tão somente, antígeno elaborado com culturas "padrões" ricas no fator 9 e que tenham, em reduzida quantidade o fator 12, com ausência ou apenas traços do fator parcial 12₂.

Com esta medida não se pode evitar a ocorrência de reações paraespecíficas, mas é possível reduzir ao mínimo as reações inespecíficas heterólogas que ocorrem, mais freqüentemente, com o uso do antígeno polivalente de cuja composição parti-

cipam culturas "variantes" de *S. gallinarum* e *S. pullorum*, ricas no fator parcial 12₂.

Nos últimos anos, foi introduzido no Brasil o antígeno polivalente, cujo uso, sem o necessário esclarecimento, trouxe dificuldades na interpretação das reações sorológicas por causa do elevado número de reações inespecíficas. Esta situação agravou-se ainda mais porque não havia, em número suficiente, facilidades laboratoriais para confirmar ou excluir, bacteriológicamente, as infecções por *S. gallinarum* e *S. pullorum*, nem condições para reconhecer as formas "variantes".

Agradecimentos. Os autores agradecem ao Prof. Dr. Ernesto Hofer, Chefe do Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz, da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, e ao Dr. Geraldo Manhães, Chefe do Laboratório de Biologia Animal, PESAGRO, Niterói, pelo fornecimento de culturas de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum* isoladas e identificadas recentemente de focos de salmoneloses de aves.

Agradecem, igualmente, ao Prof. Dr. O. Pietzsch, Diretor do Institut fuer Veterinaermedizin des Bundesgesundheitsamtes Berlin, pela valiosa cessão de antígenos e culturas padrões de *Salmonella gallinarum* e *S. pullorum*.

REFERÊNCIAS

- Burton W.H. & Garrard E.H. 1948. Non-pullorum agglutination reactions. IV. Reactions with pullorum antigen from fowl inoculated with coliform types. Canadian J. Comp. Med. 12: 20-25.
- Byrne J.L. 1943. Variant or atypical strains of *Salmonella pullorum*. A serological study. Canadian J. Comp. Med. 7: 227-238.
- Carpenter J.A., Burton W.H. & Garrard E.H. 1947. Non-pullorum agglutination reactions. III. Reactions with pullorum antigen from fowl inoculated with *Enterococcus*. Canadian J. Comp. Med. 11: 163-168.
- Edwards P.R. & Bruner D.W. 1946. Form variation in *Salmonella pullorum* and its relation to X strains. Cornell Vet. 36: 318-324.
- Edwards P.R., Bruner D.W., Doll E.R. & Hermann G.J. 1948. Further notes on variation in *Salmonella pullorum*. Cornell Vet. 38: 257-262.
- Edwards P.R. & Ewing W.H. 1962. Identification of Enterobacteriaceae. Burgess, Minneapolis, Minnesota, p. 131.
- Garrard E.H., McDermott L.A., Burton W.H. & Carpenter J.A. 1946. Non-specific pullorum agglutination reactions. I. Preliminary observations on fowl exhibiting non-specific reactions over and extended period. Canadian J. Comp. Med. 10: 342-347.
- Garrard E.H., Burton W.H., Carpenter J.A. & McDermott L.A. 1947. Non-specific pullorum agglutination reactions. II. Post-mortem studies on fowl exhibiting non-specific reactions over a extended. Canadian J. Comp. Med. 11: 102-107.
- Geissler H. & Kösters J. 1964. Eine Methode zur Differenzierung unspezifischer Pullorum-Agglutinations-Reaktionen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 71: 234-236.
- Gwatkin R. 1945a. Studies in pullorum disease. VI. Comparison of whole blood and tube tests with regular and variant antigen and a combination of the two antigens. Canadian J. Comp. Med. 9: 216-223.
- Gwatkin R. 1945b. Studies in pullorum disease. V. Efficiency of homologous and heterologous antigens in detecting reacting bird in a variant infected flock. Canadian J. Comp. Med. 9: 183-191.
- Hinshaw W.R. & McNeil E. 1944. The importance of group agglutination in pullorum disease testing programs. Proc. 48th U. S. Livestock San. Ass., p. 165-170.

- Izzi R., Arino G. & Anseris P. 1974. Indagini microbiologiche e sierologiche nella pullorosi. *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.* 28: 777-781.
- Kaufmann F. 1941. A typhoid variant and a new serological variation in the *Salmonella* group. *J. Bact.* 41: 127-140.
- Kösters J. 1965a. Untersuchungen ueber Antigenstruktur und das serologische Verhalten von *Salmonella gallinarum*. 1. Untersuchungen ueber die Verteilung der einzelnen Antigene bei verschiedenen *Salmonella gallinarum* - Staemmen. *Berl. Muench. Tieraerztl. Wschr.* 78(11): 211-213.
- Kösters J. 1965b. Untersuchungen ueber Antigenstruktur und das serologische Verhalten von *Salmonella gallinarum*. 2. Die Antikörperbildung gegen verschiedene *Salmonella gallinarum* - Staemme. *Berl. Muench. Tieraerztl. Wschr.* 78(11): 211-213.
- Kösters J. 1965c. Untersuchungen ueber Antigenstruktur und das serologische Verhalten von *Salmonella gallinarum*. 3. Die Unterscheidung unspezifischer Agglutinations-Reaktionen. *Berl. Muench. Tieraerztl. Wschr.* 78(16): 314-316.
- July J.R., Nakono M. & Chiarelli V. 1969. *Salmonella typhimurium* em pintos importados dos Estados Unidos. *Biológico, S. Paulo*, 35(4): 92-94.
- July J.R. & Hipólito O. 1970. Bactérias dos gêneros *Escherichia* e *Staphylococcus* como principais causas de reações "não pullorum" na prova da soro-aglutinação rápida aplicada a pulorose. *Arqs Inst. Biol., S. Paulo*, 37(4): 261-268.
- Monteverde J.J. & Simeone D.H. 1944. *Salmonella* distintas de *Salmonella pullorum* e *Salmonella gallinarum* em aves "reaccionantes". *Revta Fac. Agron. Vet., B. Aires*, 11: 31-41.
- Monteverde J.J., Moreno J.D., Delamer M., Hermida C.A. & Chialvo E.J. 1971. Falsos portadores "reaccionantes" el antígeno pullorum. *Revta Med. Vet., B. Aires*, 52(1): 39-48.
- Papageorgiou C., Valente L., Beranger G. & Joubert L. 1968. Spécificité, fidélité et sensibilité des antigens pulloriques des déspistage. *Bull. Acad. Vet. France* 41(3): 107-117.
- Reis J. & Nobrega P. 1956. Tratado das doenças das aves. Vol. 2. Doenças produzidas por bactérias e fungos. 2a. ed. Edições Melhoramentos, São Paulo, p. 103.
- Rodrigues D.P. & Hofer E. 1977. Diferenciação bioquímica entre *Salmonella gallinarum* e *Salmonella pullorum*. VIII Congr. Bras. Microbiologia, Rio de Janeiro. (Resumo)
- Roots E. 1952. Serologische Variation bei *Salmonella gallinarum* (*S. pullorum*) und ihre Bedeutung fuer die Serodiagnostik der weissen Kuekenruhr. *Berl. Muench. Tieraerztl. Wschr.* 65: 108-111.
- Sanders R.G., Pomeroy B.S. & Fenstermacher R. 1943. Cross-agglutination studies between *Salmonella pullorum* and other microorganism isolated from turkeys positive to the pullorum test. *Am. J. Vet. Res.* 4: 194-198.
- Silva E.N. & Hipólito O. 1977. *Salmonella canada* - Um novo sorotipo patogênico para aves. *Revta Fac. Med. Vet. Zoot., S. Paulo*, 14(2): 279-284.
- Silva E.N. & Hipólito O. 1978. Ocorrência de sorotipos de salmonelas em galinhas. *Anais 16º Congr. Mundial Avicultura, Rio de Janeiro, Vol. 3*, p. 388-394.
- Silva E.N., Hipólito O. & Hwang M.H. 1978. Avaliação do teste de pulorose frente à prova de microaglutinação e exames bacteriológicos em galinhas reprodutoras reagentes. *Anais 16º Congr. Mundial Avicultura, Rio de Janeiro, Vol. 3*, p. 379-387.
- Snoeyenbos G.H., Gotty A.M. & Roekel H. 1950. Some antigenic characteristics of *Salmonella pullorum*. *Am. J. Vet. Res.* 11: 221-225.
- Terzolo H.R., Verona A.Z., D'Empaire M. & Furowics A.J.J. 1977. Hallazgo en aves de *Escherichia coli* con antígenos comunes con el genero *Salmonella*. *Revta Assoc. Argentina Microbiol.* 9(1): 4-10.
- Williams J.E. 1953a. Antigenic studies using ammonium sulfate. I. The relative sedimentation effect of ammonium sulfate on the various antigenic types of *Salmonella pullorum*. *Am. J. Vet. Res.* 14: 458-464.
- Williams J.E. 1953b. Antigenic studies using ammonium sulfate. II. The macroscopic ammonium sulfate sedimentation test for distinguishing the antigenic forms of *Salmonella pullorum*. *Am. J. Vet. Res.* 14: 465-470.
- Williams J.E., Harris M.E. 1955. A simplified method for typing *Salmonella pullorum* cultures. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 127(941): 133-136.
- Williams J.E. & Whittemore A.D. 1973. Microtesting for avian salmonellosis. *Proc. 77th. Ann. Meeting. U. S. Animal Health Ass.*, p. 607-613.
- Williams J.E. & Whittemore A.D. 1979. Serological response of chickens to *Salmonella thompson* and *Salmonella pullorum* infections. *J. Clin. Microbiol.* 9(1): 108-114.
- Wilson J.E. 1947. The isolation of *S. typhimurium* from fowls which gave a positive agglutination test with pullorum antigen. *Vet. J.* 103: 101-104.
- Wright M.L. & Edwards P.R. 1948. The serological differentiation of *Salmonella pullorum* forms. *Am. J. Vet. Res.* 9: 386-388.
- Younie A.R. 1941. Fowl infectin like pullorum disease. *Canadian J. Comp. Med.* 5: 164-167.
- Younie A.R. 1942. Pullorum like infection of fowl. *Canadian J. Comp. Med.* 6: 172-173.