



DETECÇÃO DE ISOLADOS DE *SALMONELLA* DOS SOROTIPOS ENTERITIDIS E HEIDELBERG POR TÉCNICA DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR ISOTÉRMICA

Lucas Michel Wolf¹, Iago Italo Dantas², Rafael Reis², Jonas Michel Wolf², Vagner Ricardo Lunge^{3,4}, Nilo Ikuta^{3,4}

¹ Aluno do curso de Medicina Veterinária - Bolsista PIBITI – FAPERGS – lucaswolf503@gmail.com

² Laboratório de Diagnóstico Molecular – ULBRA –

³ Professor do PPGBioSaúde – vagner.lunge@gmail.com

⁴ Orientador

INTRODUÇÃO:

Salmonella é um dos principais agentes bacterianos com capacidade de ocasionar doenças a partir da ingestão de produtos de origem animal. Os alimentos são contaminados pela presença da bactéria no ambiente de criação e durante o processamento de abate, caso não sejam tomados cuidados higiênico-sanitários adequados. Os isolados de *Salmonella* são também classificados em sorotipos, sendo que já foram demonstrados mais de 2.500 variantes antigênicas. Entre estes sorotipos, Enteritidis é tradicionalmente associado com infecções entéricas em alimentos de origem avícola (como carnes e ovos). Mais recentemente, Heidelberg tem sido demonstrado com elevada ocorrência em produtos desta mesma origem devido à ampla disseminação em granjas de produção de aves. Os sorotipos e as respectivas fórmulas antigênicas estão listados em um documento chamado Kauffmann-White-Le Minor (KWL). Métodos de diagnóstico molecular para a detecção específica de sorotipos e caracterização de *Salmonella* objetivam complementar a sorotipagem, sendo utilizadas variações da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, Polymerase Chain Reaction). Atualmente, novas técnicas foram desenvolvidas para detecção de sorotipos específicos, entre as quais a técnica de LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification), a qual oferece a possibilidade de amplificação isotérmica.

OBJETIVO:

O presente estudo objetivou estabelecer a detecção dos sorotipos Enteritidis e Heidelberg pela técnica de LAMP a partir de amostras clínicas humanas e de alimentos.

MATERIAIS E MÉTODOS:

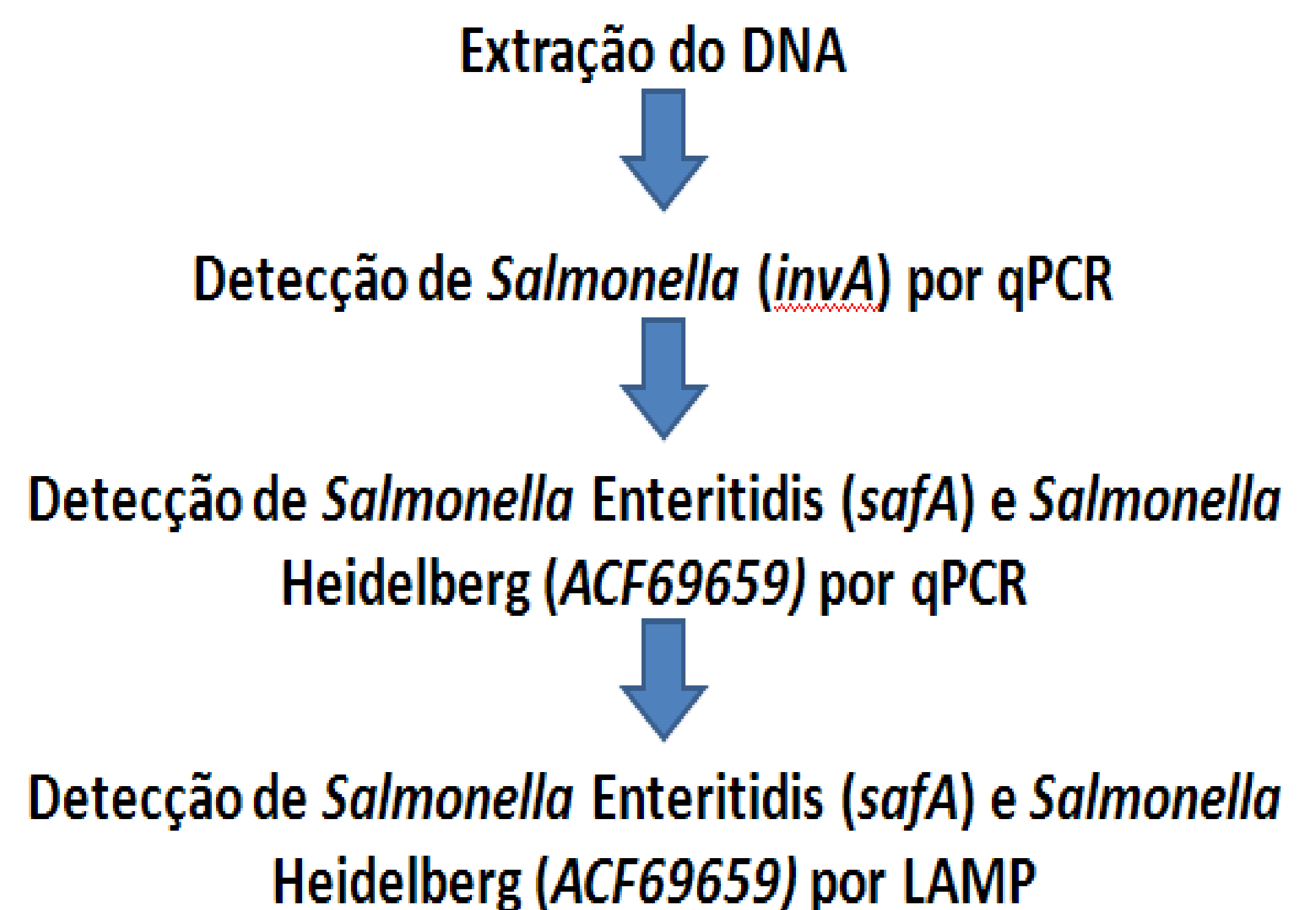
Foram obtidos 29 isolados de *Salmonella* no Laboratório Central do Estado do RS (LACEN-RS), onde 10 são provenientes de amostras clínicas humanas e 17 de alimentos. Análises sorológicas definiram os sorotipos dos 29 isolados (Tabela 1.).

Amostras:

Tabela 1. Sorotipos encontrados nas análises sorológicas.

Sorotipos	N	%
Enteritidis	10	34%
Typhimurium	8	28%
Heidelberg	2	7%
Braenderup	1	3%
Bredeney	1	3%
Infantis	1	3%
Newport	1	3%
Panama	1	3%
Schwarzengrund	1	3%
Indeterminado	3	10%
Total	29	100%

Métodos:



RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Nos ensaios de PCR e LAMP, tendo como alvo específico Enteritidis (*safA*), 10 amostras (37%) resultaram em positivo para Enteritidis e 15 amostras (55,5%) em negativo. Além disso, duas amostras (7,5%) que foram sorotipadas como Typhimurium nos ensaios das análises sorológicas, resultaram em positivo para o sorotipo Enteritidis nos ensaios moleculares.

Nos experimentos que tiveram Heidelberg (ACF69659) como sorotipo alvo, todas as amostras (n=2) que foram sorotipadas como Heidelberg nas análises sorológicas também apresentaram resultados positivos nos ensaios de LAMP.

A técnica de LAMP mostrou-se bastante acessível e de rápida capacidade de análise dos resultados (por coloração), de acordo com estudos anteriores (Draz & Lu, 2016).

Além disso, os ensaios da técnica LAMP quando comparados com os ensaios de PCR demonstraram a mesma eficiência e grande concordância nos resultados. (Yang et al., 2013).

Em termos de otimização da técnica, as condições ótimas para as reações de LAMP foram definidas como um ciclo de 65 C° durante 40 min, condições que também foram definidas como ideais em estudos prévios, Yang et al., (2010) e Ueda et al., (2009).

A realização de análises com um maior número amostral e a elucidação da ocorrência de divergência com os resultados sorológicos são as próximas etapas do trabalho de investigação.

CONCLUSÃO:

As técnicas de LAMP para os sorotipos Enteritidis e Heidelberg apresentaram uma performance analítica muito boa. Esta técnica pode ser utilizada para detecção de alvos específicos e constitui uma ótima alternativa para testes de detecção molecular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Draz, Mohamed Shehata; Lu, Xiaonan. Development of a Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP)-Surface Enhanced Raman spectroscopy (SERS) Assay for the Detection of *Salmonella* Enterica Serotype Enteritidis. *Theranostics*, v. 6, n. 4, p. 522, 2016.
- Ueda, Shigeko, and Yoshihiro Kuwabara. "The rapid detection of *Salmonella* from food samples by loop-mediated isothermal amplification (LAMP)." *Biocontrol science* 14.2 (2009): 73-76.
- Yang, J-L., et al. "Simple and rapid detection of *Salmonella* serovar Enteritidis under field conditions by loop-mediated isothermal amplification." *Journal of applied microbiology* 109.5 (2010): 1715-1723
- Yang, Qianru; Chen, Siyi; GE, Beilei. Detecting *Salmonella* serovars in shell eggs by loop-mediated isothermal amplification. *Journal of food protection*, v. 76, n. 10, p. 1790-1796, 2013.