



## DETECÇÃO DE *SALMONELLA* DOS SOROTIPOS ENTERITIDIS, HEIDELBERG E TYPHIMURIUM PELO SEQUENCIAMENTO DO OPERON *rrnH*.

Walesca Borcati<sup>1</sup>, Diéssy Kipper<sup>1</sup>, Fernanda Kieling Moreira Lehman<sup>1</sup>, Silvia De Carli<sup>2</sup>, Vagner Lunge<sup>1</sup> e Nilo Ikuta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Diagnóstico Molecular – ULBRA

<sup>2</sup>Mestranda em Medicina Veterinária da UFRGS

### INTRODUÇÃO

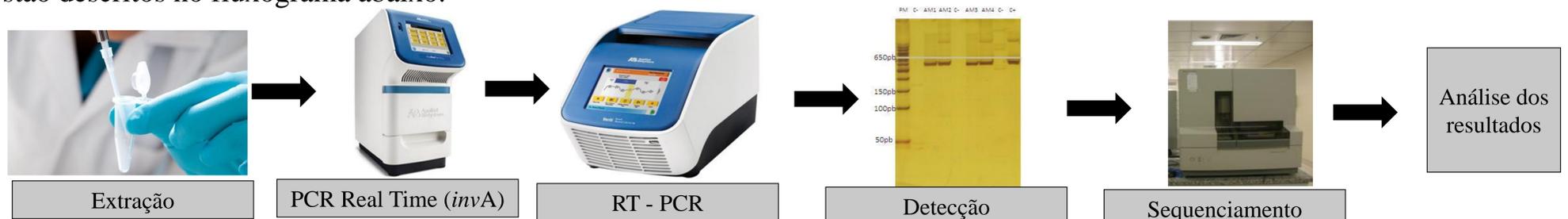
A *Salmonella* é um dos mais importantes agentes bacterianos que tem a capacidade de ocasionar doenças entéricas no homem e em animais domésticos (SCHROEDER et al., 2006). O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*. Duas espécies são conhecidas: *S. enterica*, que é composta de seis subespécies (*enterica*, *salame*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*) e *S. bongori* (MURRAY et al, 1999). O gênero também é classificado em vários sorotipos, sendo que alguns têm maior frequência nas salmoneloses animais, como Typhimurium, Hadar, Heidelberg, Infantis e Enteritidis (AUGUSTO et al, 2011). Os diagnósticos por métodos bioquímicos ou por isolamento bacteriano torna-se um pouco limitado a determinação da ausência ou presença de *Salmonella* spp. A ribotipagem das regiões espaçadoras intergênicas (ISRs – *intergenic space regions*), dos operons dos genes RNAs ribossomas e de transferência trata-se de um método rápido para a identificação das espécies, bem como sua diferenciação. Foram analisadas as regiões intergênicas (genes de r RNAs 23S e 5S) bem como realizado o sequenciamento das mesmas que tem sido utilizado para a identificação de bactérias a nível de espécie (PULIDO-LANDÍNEZ et al., 2014).

### OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo implementar o sequenciamento das ISRs do operon *rrnH*, a fim de caracterizar os isolados de *Salmonella* dos sorotipos Enteritidis, Typhimurium e Heidelberg.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Foram obtidas 60 amostras de *Salmonella* provenientes de culturas bacterianas de alimentos, humanos e aves, coletadas em um período de 2010 – 2016. Tais amostras foram fornecidas e previamente sorotipadas pelo Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Sul (LACEN) (humanos e alimentos) e por laboratórios vinculados as granjas (aves). Os procedimentos realizados estão descritos no fluxograma abaixo.



### RESULTADOS E DISCUSSÃO

57 amostras foram positivas para a presença do gene *invA* foram submetidas a detecção da região do operon *rrnH* pelo método de eletroforese em gel de poliacrilamida. Na detecção ficam evidentes tamanhos diferentes de *amplicons* para cada sorotipo, variando entre 550 -800bp. O resultado do sequenciamento do operon *rrnH* possibilitou confirmar o tamanho exato dos fragmentos de cada amostra, analisar a sequência nucleotídica de cada isolado e comparar com sequências depositadas no GENBANK através da ferramenta BLASTn. Isolados dos sorotipos Typhimurium (9), Heidelberg (4) e Enteritidis (10) apresentaram resultados com 100% de identidade com dados de cepas de referência de Typhimurium, 99-100% de identidade com dados Heidelberg e 100% de identidade com dados de Enteritidis. A pouca disponibilidade de testes de diagnóstico que caracterizem de maneira rápida e eficiente os isolados de *Salmonella* diminuem a probabilidade de um tratamento e controle eficazes, sobre a mudança de padrões de distribuição, características e fontes potenciais de infecção (PULIDO- LANDÍNEZ et al., 2014). Os métodos utilizados neste trabalho, como a amplificação e sequenciamento do operon *rrnH* tornaram possível realizar a distinção entre sorotipos Typhimurium, Heidelberg e Enteritidis.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A identificação dos sorotipos de *Salmonella* são extremamente importantes com o intuito de se estabelecer a caracterização de cada isolado, se realizado de forma padrão, ou seja, por métodos bioquímicos ou por isolamento bacteriano, torna-se um pouco limitado a determinação da ausência ou presença de *Salmonella* spp, além de demorarem um tempo significativo para sua realização, o que faz com que o tratamento e controle das doenças sejam dificultoso. Os métodos moleculares são mais rápidos para a identificação da bactéria em questão, sendo aplicáveis e importantes para uma caracterização eficiente dos diversos isolados de *Salmonella*.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUGUSTO, M.; MEDEIROS, N.; CARMEM, D.; et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* in chicken carcasses at retail in 15 Brazilian cities. , v. 30, n. 6, p. 555–560, 2011.  
PULIDO-LANDÍNEZ, A. M.; WASHINGTON, P.; THORNTON, J. K.; et al. Serotype and Antimicrobial Resistance Patterns of *Salmonella* Isolates from Commercial Birds and Poultry Environment in Mississippi Serotype and Antimicrobial Resistance Patterns of *Salmonella* Isolates from Commercial Birds and Poultry Environment in Mississippi. , v. 58, n. 1, p. 64–70.  
SCHROEDSCHROEDER, C.M; LATIMER, H.K; SCHLOSSER W.D, et al Overview and summary of the Food Safety and Inspection Service risk assessment for *Salmonella* enteritidis in shell eggs, October 2005. Foodborne Pathog Dis. v.3, n.4, p.403–12, 2006.