

## DETECÇÃO DE ISOLADOS DE SALMONELLA DOS SOROTIPOS ENTERITIDIS E HEIDELBERG POR MÉTODO ISOTÉRMICO DE AMPLIFICAÇÃO DE DNA

Lucas Michel Wolf<sup>1,2</sup>, Vagner Ricardo Lunge<sup>2,3,4</sup>

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

<sup>2</sup> Laboratório de Diagnóstico Molecular – ULBRA –

<sup>3</sup> Professor do PPGBioSaúde – vagner.lunge@gmail.com

<sup>4</sup> Orientador

### INTRODUÇÃO:

*Salmonella* é um dos principais agentes bacterianos e causa doenças pela ingestão de produtos de origem animal. Os alimentos são contaminados devido a ocorrência da bactéria no ambiente de criação e nas indústrias de processamento. Os isolados de *Salmonella* nestes alimentos podem ser de diferentes sorotipos, pois existem mais de 2.600 em todo mundo. Especificamente o sorotipo Enteritidis tem sido frequentemente isolado de infecções entéricas em alimentos de origem avícola (como carnes e ovos). Mais recentemente, o sorotipo Heidelberg também tem sido encontrado com frequência em produtos desta mesma origem devido à ampla disseminação em granjas de produção de aves. A caracterização sorológica de *Salmonella* é necessária e requer o uso de centenas de antissoros que possibilitam a determinação da fórmula antigênica de cada isolado pelo esquema KWL (de Kauffmann-White-Le Minor). Métodos de diagnóstico molecular para detecção específica de sorotipos objetivam simplificar este processo, sendo utilizadas variações da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, *Polymerase Chain Reaction*). Mais recentemente, novas técnicas foram desenvolvidas para detecção de sorotipos específicos, entre as quais LAMP (*Loop Mediated Isothermal Amplification*), que possui a grande vantagem de ser isotérmica, ou seja, não necessita de equipamentos de amplificação como os termocicladores.

### OBJETIVO:

Estabelecer a detecção dos sorotipos Enteritidis e Heidelberg pela técnica de LAMP a partir de amostras clínicas humanas e de alimentos.

### MATERIAIS E MÉTODOS:

As amostras para análise foram obtidas no Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul - LACEN-RS (Tabela 1). Os métodos consistiram em extração e DNA dos isolados e realização de testes de PCR e LAMP para detecção específica dos sorotipos Enteritidis e Heidelberg (Figura 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%
Schwarzenrund	1	3%
Indeterminado	3	10%
<b>Total</b>	<b>29</b>	<b>100%</b>

#### Métodos:

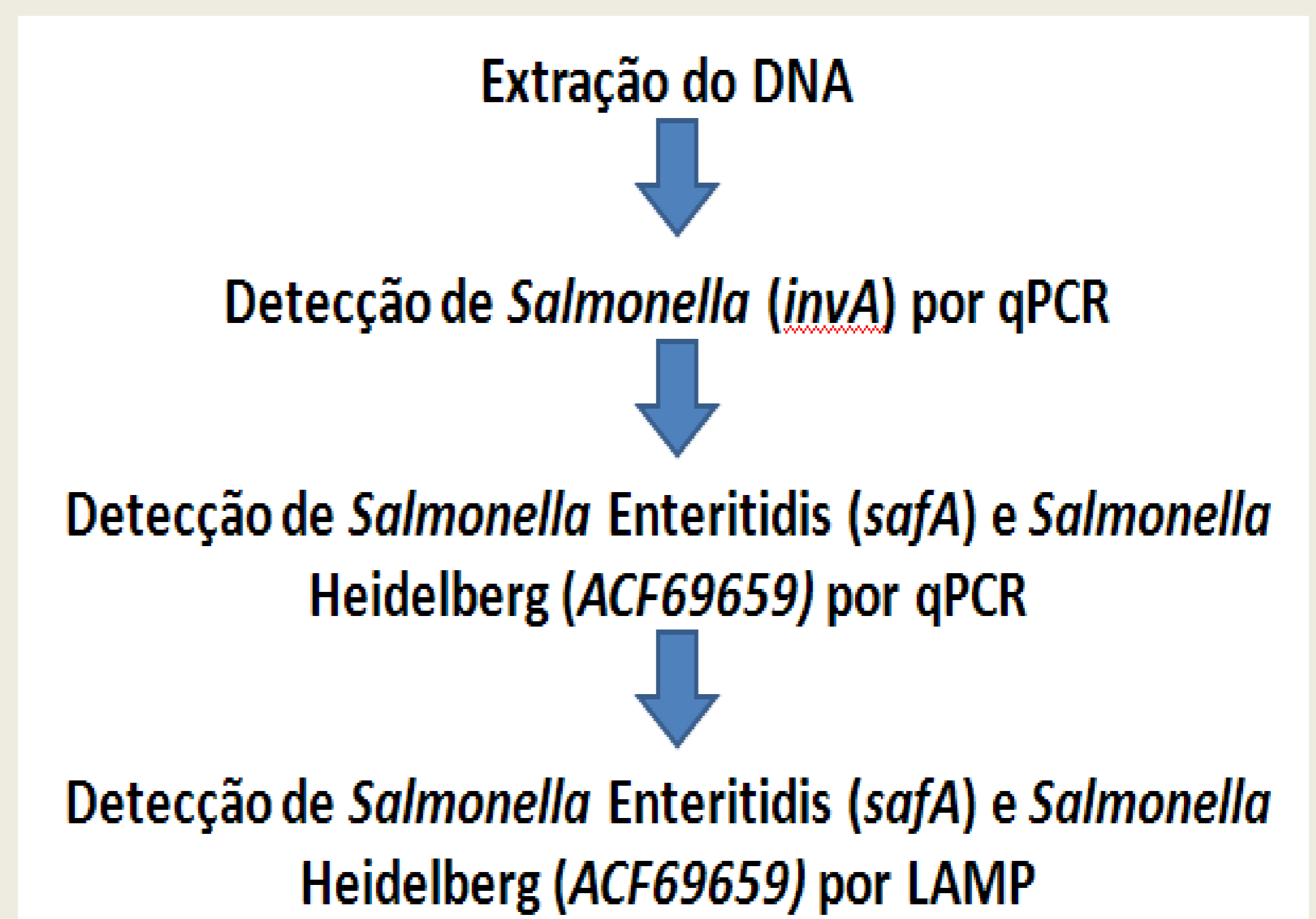


Figura 1. Fluxograma com as etapas realizadas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Nos ensaios de PCR e LAMP, tendo como alvo específico Enteritidis (*safA*), 10 amostras (37%) resultaram em positivo para Enteritidis e 17 amostras (58,6%) 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.

### 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.