

IDENTIFICAÇÃO DE SOROTIPOS DE *SALMONELLA* ATRAVÉS DA ANÁLISE MOLECULAR DAS REGIÕES INTERGÊNICAS DO *OPERON rrnB*

Rafaella Martins Hellfeldt¹, Diéssy Kipper², Fernanda Kieling Moreira², Silvia De Carli³,
Vagner Ricardo Lunge^{4,5}, Nilo Ikuta^{4,5}

- 1 Aluna do Curso de Medicina Veterinária – ULBRA/Canoas – Bolsista PIBIT/CNPq – rafinhamartinsh@hotmail.com
- 2 Laboratório de Diagnóstico Molecular – ULBRA
- 3 PPG em Ciências Veterinárias – UFRGS
- 4 Professor do PPGBioSaúde – vagner.lunge@gmail.com
- 5 Orientador

INTRODUÇÃO

Salmonella é um dos principais patógenos bacterianos e causa doenças entéricas e sistêmicas no homem e em animais. O gênero *Salmonella* é classificado em espécies, subespécies e principalmente em sorotipos. A identificação dos sorotipos é essencial para a compreensão da epidemiologia desta bactéria e das doenças que ocorrem no homem e em animais. Como todas as bactérias, o genoma das salmonelas é constituído de DNA cromossomal circular, com eventual ocorrência de plasmídios. A maioria dos genes está organizada em operons, entre os quais sete são responsáveis pela produção dos RNAs ribossomais (rRNAs) e transportadores (tRNAs): *rrnA*, *rrnB*, *rrnC*, *rrnD*, *rrnE*, *rrnG* e *rrnH*. As regiões intergênicas dos *rrns* apresentam elevado grau de variação genética, possibilitando a identificação de gêneros, espécies e até sorotipos de bactérias. Especificamente a região espaçadora do *rrnH* foi previamente demonstrada possui variações ainda mais sutis que permitem identificar sorotipos de *Salmonella*, tendo sido publicados trabalhos com procedimentos de PCR e sequenciamento para esta finalidade.

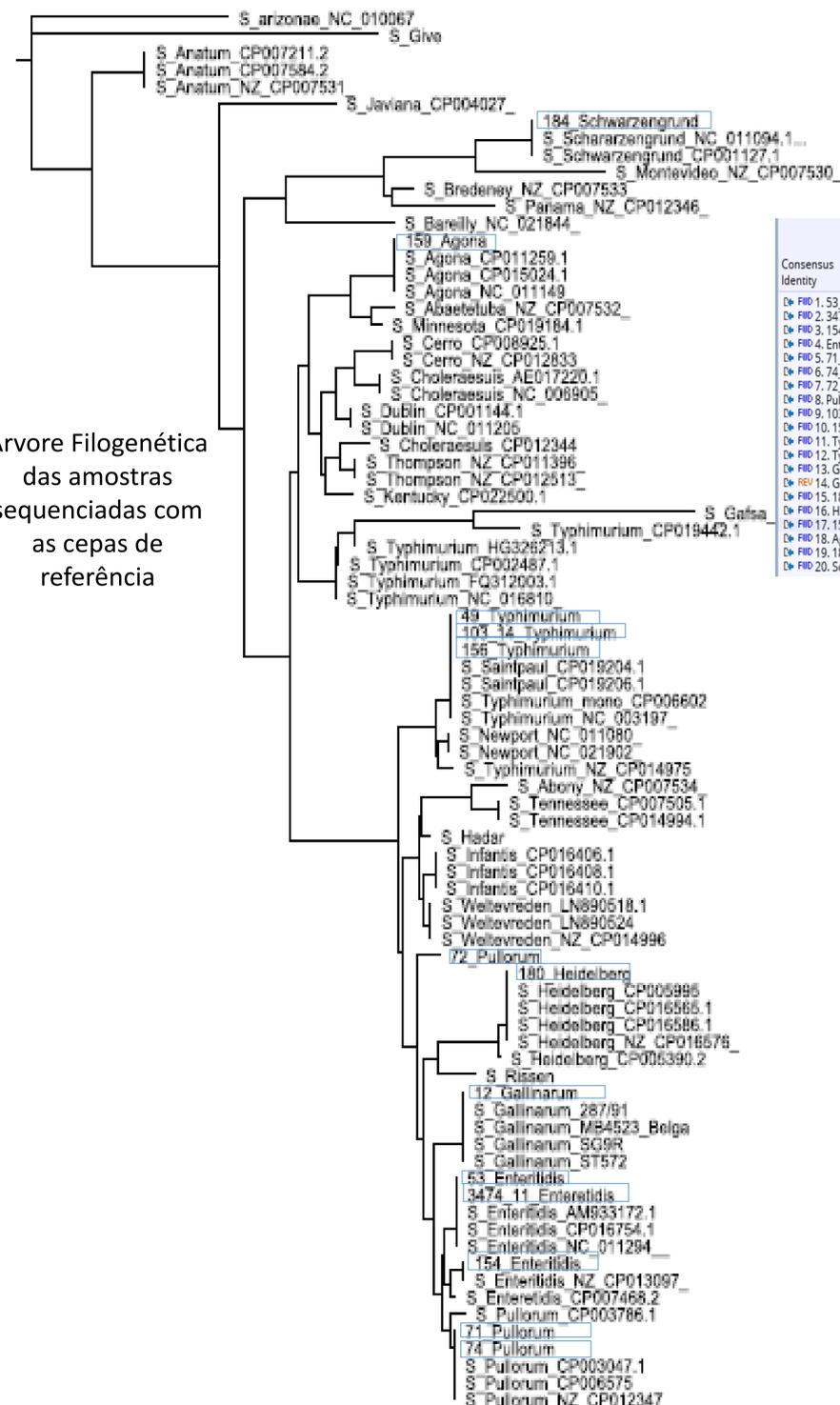
OBJETIVOS

O presente estudo tem como objetivo verificar a capacidade de diferenciação de sorotipos de *Salmonella* através da análise das duas regiões espaçadoras intergênicas presentes no *operon rrnB*.

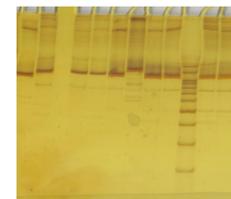
MATERIAIS E MÉTODOS

Foram obtidas 70 amostras de isolados de sorotipos de *Salmonella*, destas 60 amplificaram as regiões espaçadoras intergênicas do *operon rrnB* e 13 amostras dos sorotipos Agona (n=1), Enteritidis (n=3), Biovar Gallinarum (n=1), Heidelberg (n=1), Biovar Pullorum (n=3), Schwarzengrund (n=1) e Typhimurium (n=3) foram sequenciadas pelo método de Sanger.

RESULTADOS

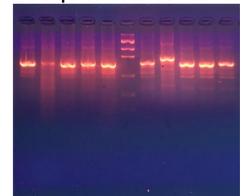


Amplificação das ISRs



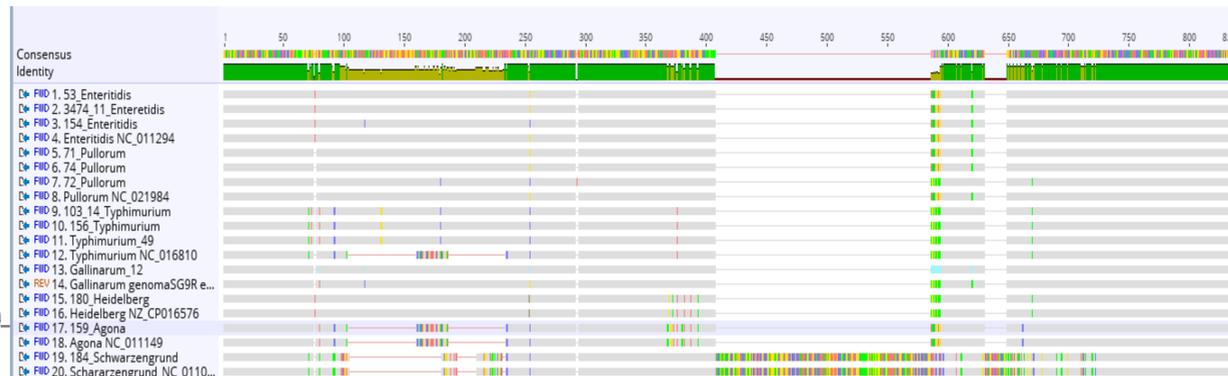
Eletroforese em gel de poliacrilamida corado com nitrato de prata

Purificação, quantificação e sequenciamento



Eletroforese em gel de agarose

Análise das seqüências com cepas de referência



CONCLUSÃO

A utilização da análise da região espaçadora intergênica (ISR) se mostrou eficiente na diferenciação de sorotipos de *Salmonella*, sendo esta uma técnica em ascensão na área da biologia molecular e que deve ser estudada mais a fundo e implementada em novos projetos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GUARD, J.; SANCHEZ-INGUNZA, R.; MORALES, C. et al. Comparison of *dkgB*-linked intergenic sequence ribotyping to DNA microarray hybridization for assigning serotype to *Salmonella* enterica. **FEMS microbiology letters**, v. 337, n. 1, p. 61-72, 2012.
- KIPPER, D. **Caracterização molecular de surtos de Salmonella isolados de aves de produção, alimento e humanos no Brasil**. 2016. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde) – Universidade Luterana do Brasil, Canoas, 2016.
- MORALES, C. A.; GAST, R.; GUARD-BOULDIN, J. Linkage of avian and reproductive tract tropism with sequence divergence adjacent to the 5S ribosomal subunit *rrfH* of *Salmonella* enterica. **FEMS microbiology letters**, v. 264, n. 1, p. 48-58, 2006.
- PULIDO-LANDÍNEZ, M.; WASHINGTON, P.; THOMTON, J.K. et al. Serotype and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolates from commercial birds and poultry environment in Mississippi. **Avian diseases**, v. 58, n. 1, p. 64-70, 2014.