

## IDENTIFICAÇÃO DE ISOLADOS DE SALMONELLA DOS SOROTIPOS ENTERITIDIS E HEIDELBERG PELA TÉCNICA DE LAMP

Lucas Michel Wolf<sup>1,2</sup>, Margarida Neves<sup>2</sup>, Rafael Reis<sup>2</sup>, Jonas Michel Wolf<sup>2</sup>, Nilo Ikuta<sup>2,3</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 isolados de *Salmonella* nestes alimentos podem ser de diferentes sorotipos, pois existem mais de 2.600 em todo mundo. O sorotipo Enteritidis tem sido frequentemente isolado de infecções entéricas em alimentos de origem avícola. 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*). Atualmente, 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.

### MATERIAIS E MÉTODOS:

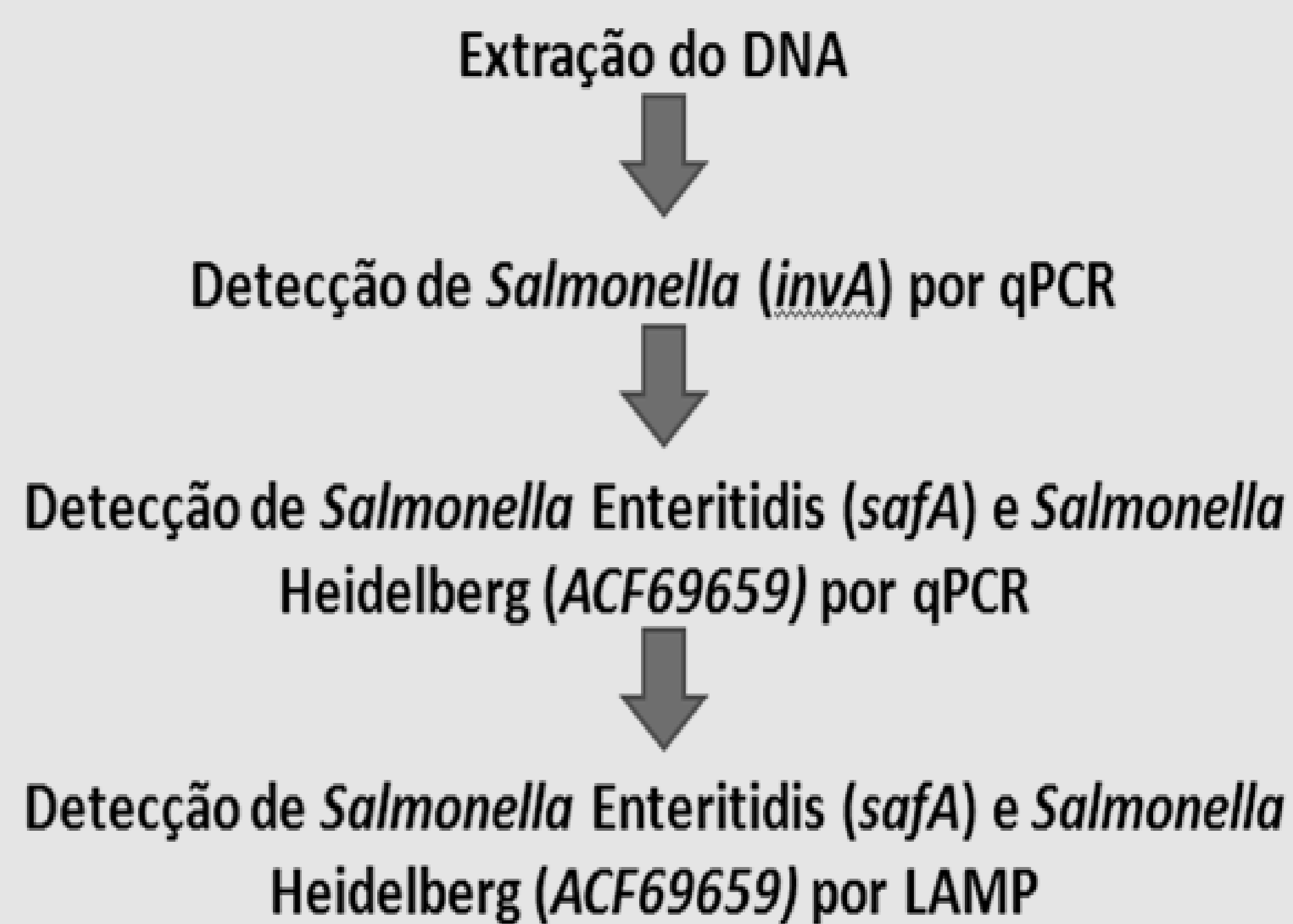
As amostras para análise foram obtidas no Laboratório Central do Estado do Rio Grande do Sul - LACEN-RS (Tabela 1). Os métodos consistiram em extração de DNA dos isolados e realização de testes de PCR e LAMP para detecção específica dos sorotipos Enteritidis e Heidelberg.

#### Amostras:

Tabela 1. Sorotipos encontrados nas análises sorológicas.

Sorotipos	N	%
Enteritidis	10	38,5
Typhimurium	8	30,8
Heidelberg	2	7,7
Braenderup	1	3,8
Bredeney	1	3,8
Infantis	1	3,8
Newport	1	3,8
Panama	1	3,8
Schwarzengrund	1	3,8
Total	26	100

#### Métodos:



### RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Nos ensaios de PCR e LAMP, tendo como alvo específico Enteritidis (*safA*), 10 amostras (38,5%) resultaram em positivo para Enteritidis e 14 amostras (53,8%) em negativo. Além disso, duas amostras (7,7%) 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.

Em resumo, a forma de análise dos resultados por padrões colorimétricos e de eletroforese estão apresentados na figura 1.

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

Além disso, os ensaios da técnica LAMP quando comparados com os de PCR demonstraram a mesma eficiência e grande concordância nos resultados (Yang et al., 2013). De acordo com estudos anteriores, os ensaios de LAMP demonstraram ser de fácil realização e podem ser implementados para análises de amostras de campo, por serem de simples experimentação (Mahittikorn et al., 2017). 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., (2013) 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.

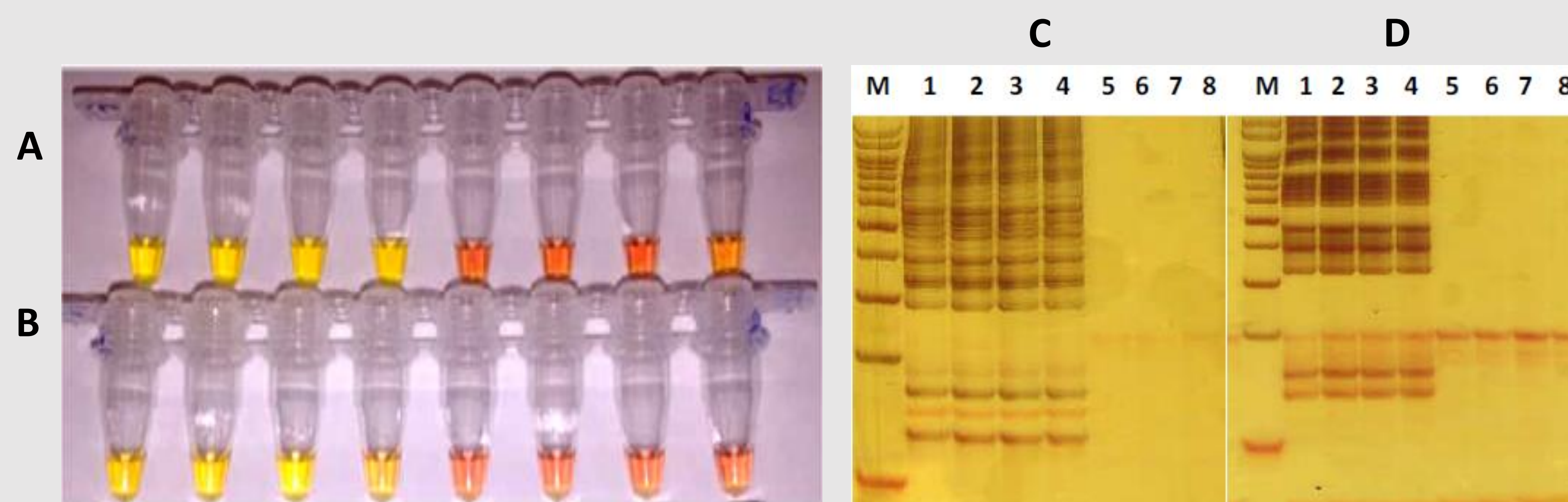


Figura 1. Fotografia dos tubos com sistema de reação depois da amplificação por LAMP de Enteritidis (A) e Heidelberg (B) e resultado da eletroforese em gel de poliácridamida para Enteritidis (C) e para Heidelberg (D).

### 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, M, et al. Theranostics, v. 6, n. 4, p. 522, 2016.  
 Mahittikorn, A et al. Parasites & Vectors, v. 10, n. 1, p. 394, 2017.  
 Ueda, S, et al. Biocontrol science, v. 14, n. 2, p. 73-76, 2009.  
 Yang, Q, et al. Journal of food protection, v. 76, n. 10, p. 1790-1796, 2013.