



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

TESTE DE SUSCETIBILIDADE DE DIFERENTES SOROVARES DE *SALMONELLA* FRENTE AO BACTERIÓFAGO P22

AUTOR PRINCIPAL: Roger Pascoeti

CO-AUTORES: Pottker, E.S.; Rizzo, N.N.; Webber, B; Andreatti Filho R. L.; Santos, L.R.; Mainieri, I.

ORIENTADOR: Laura Beatriz Rodrigues

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO

Salmonelose é uma das zoonoses de maior relevância devido às suas características endêmicas, alta morbidade, e dificuldade de adoção de medidas para seu controle devido aos mais de 2500 sorovares e múltiplos hospedeiros. A maior causa das doenças transmitidas por alimentos (DTA) no Brasil e no mundo deve-se à infecção por *Salmonella* spp. (ANDREATTI FILHO, 2007; SILVA, 2014). O número de microrganismos resistentes vem aumentando, muitas vezes associados ao uso indiscriminado dos antimicrobianos. Com intuito de obter alternativas ao uso de princípios ativos antibacterianos para controle químico, realizou-se esta avaliação como a primeira etapa para utilização de fagoterapia como controle biológico da *Salmonella* spp. O estudo avaliou a eficácia da utilização do fago P22 para realização de fagotipagem frente a cepas de *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium*, *S. Rissen*, *S. Lexington*, *S. Panama*, *S. Brandenburg*, *S. Anatum*, *S. Tennessee* e *S. Bredney*, todas oriundas de abatedouro de aves.

DESENVOLVIMENTO:

Foi realizado o teste de suscetibilidade dos sorovares *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium*, *S. Rissen*, *S. Lexington*, *S. Panama*, *S. Brandenburg*, *S. Anatum*, *S. Tennessee* e *S. Bredney* frente ao bacteriófago P22, que pertence à família Podoviridae e tem genoma constituído de DNA. Para o teste, realizamos a amplificação do P22, segundo Andreatti Filho (2007), onde cultivou-se a bactéria hospedeira em BHI, incubado por 24h, transferido para o caldo TSB concentração dupla e incubado novamente por 24h a 37°C. Adicionou-se 2mL do cultivo de *Salmonella* a 1mL do fago em tubos com 5mL de TSB, incubado por 24h. Após, centrifugou-se por 10 minutos a 8.000 rpm, filtrou-se todo o conteúdo e transferiu-se para tubo estéril. Antes de realizar o teste os sorovares de *Salmonella* foram testados a fim de verificar se possuíam profago (forma lisogênica do fago) no DNA bacteriano, o que poderia acusar um falso positivo. Após confirmar que este teste era negativo prosseguiu-se com a fagotipagem (AZEREDO *et al* 2014). Foram utilizadas

placas com agar triptona de soja (TSA), onde foi produzida uma sobrecamada bacteriana com cada um dos sorovares testados, utilizando cultivo bacteriano previamente preparado e top agar TSA semi-sólido. Aguardou-se 10 minutos e pipetou-se 6 gotas de 10µL do fago, incubado 24h a 37°C, para verificar a suscetibilidade das bactérias ao fago P22.

Ao analisarmos os resultados, observamos um bom desempenho do fago P22 frente aos diferentes sorovares de *Salmonella*, tendo capacidade de infectar 57,14% das amostras a que foi exposto, conforme observado na Figura 1 e na Tabela 1. Na Figura 2 podemos visualizar o controle negativo do teste. Ressaltamos sua ação de lise na *S. Enteritidis*, determinada como multirresistente em trabalho anteriormente realizado (SILVA, 2014). Quando analisamos que o P22 é específico e sua eficácia é maior quando aplicado na sua bactéria hospedeira de origem, a *S. Typhimurium*, podemos pressupor que, se conseguirmos isolar fagos hospedeiro-específicos para determinadas bactérias, poderemos utilizá-los nas mais diversas formas. Ressaltamos o uso de fagos para tratamentos alternativos, como o controle biológico de bactérias, para prevenir ou tratar de doenças bacterianas como um complemento ou alternativa à terapia com antibióticos ou, ainda, podem vir a ser utilizados diretamente em alimentos e embalagens, entre outras aplicações. Ainda são necessários maiores estudos e testes, com este bacteriófago, por ser nosso primeiro estudo com o bacteriófago P22.

A fagoterapia apresenta muitas vantagens sobre a antibioticoterapia, por ser eficiente contra bactérias patogênicas resistentes a antimicrobianos, devido à indução da bacteriólise, ser hospedeiro-específico não infecta outras bactérias e apresenta capacidade de responder rapidamente à formação de fago-resistência do hospedeiro, e ainda como os fagos não afetam células eucarióticas, os efeitos colaterais do seu uso são incomuns (MATSUZAKI *et al.*, 2005).

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

O teste realizado mostrou-se eficaz, mesmo quando utilizado em cepa multirresistente de *Salmonella* Enteritidis. Estes resultados nos fazem conjecturar a possibilidade de controle biológico das salmoneloses com fagoterapia, realizando isolamentos de fagos específicos e os utilizando diretamente em alimentos, embalagens, controle de biofilmes e outras aplicações.

REFERÊNCIAS

ANDREATTI FILHO, R.L. et al. Ability of bacteriophages isolated from different sources to reduce *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis in vitro and in vivo. **Poultry Science**, 2007

AZEREDO, J.; PIRES, D.P.; SILLANKORVA, S. *Pseudomonas* bacteriophage isolation and production. **Pseudomonas Methods and Protocols**. 2014.

MATSUZAKI, S.; RASHEL, M.; UCHIYAMA, J.; SAKURAI, S.; UJIHARA, T.; KURODA, M.; IKEUCHI, M.; TANI, T.; FUJIEDA, M.; WAKIGUCHI, H.; IMAI, S. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious diseases. **Journal of Infection and Chemotherapy**, 2005.

SILVA, C. F. Padrão de resistência a antimicrobianos e genes de virulência em *Salmonella* Enteritidis formadoras de biofilme. 2014. Dissertação de Mestrado - UPF

ANEXOS

Tabela 1 – Diferentes sorovares de *Salmonella* e resultado da fagotipagem com P22.

Identificação da <i>Salmonella</i>	Sorovar	Ponto de coleta	Particularidade	Leitura
SE ATCC	Enteritidis	Não se aplica	Não se aplica	Suscetível
ST ATCC	Typhimurium	Não se aplica	Não se aplica	Suscetível
P82	Enteritidis	Asa de frango	Não envolvida em surto de DTA	Suscetível
P170	Enteritidis	Suabe de arrasto	Ambiente	Suscetível
P24	Enteritidis	Fezes	Multirresistente	Suscetível
P69	Enteritidis	Maionese	Envolvida em surto de DTA	Não suscetível
P106	Enteritidis	Suabe de arrasto	Ambiente	Não suscetível
P84	Enteritidis	Peito de frango	Não envolvida em surto de DTA	Suscetível
L001	Rissen	Suabe de cloaca	Abatedouro de aves	Não suscetível
L002	Lexington	Esponjas	Antes da lavagem de carcaça	Suscetível
L003	Lexington	Esponjas	Antes da lavagem de carcaça	Não suscetível
L004	Rissen	Suabe de cloaca	Abatedouro de aves	Não suscetível
L005	spp	Esponjas	Antes da lavagem de carcaça	Suscetível
L006	Panamá	Suabe de cloaca	Abatedouro de aves	Suscetível
L007	Lexington	Esponjas	Antes da lavagem de carcaça	Não suscetível
L008	spp	Esponjas	Depois da lavagem de carcaça	Não suscetível
CM2	Brandenburg	-	Abatedouro de aves	Suscetível
CM4	Anatum	-	Abatedouro de aves	Suscetível
CM5	Anatum	-	Abatedouro de aves	Não suscetível
CM6	Tennessee	-	Abatedouro de aves	Não suscetível
CM12	Bredney	-	Abatedouro de aves	Suscetível

Figura 1 - *S. Enteritidis* suscetível ao P22.

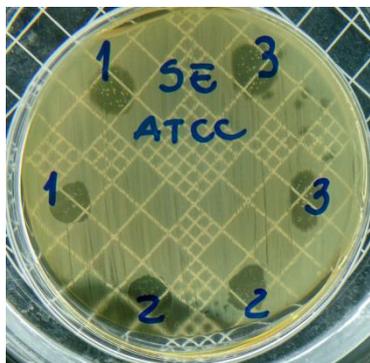


Figura 2 – *S. Anatum* não suscetível ao P22.

