

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

SALMONELLA PHAGE UPF_BP2: UM NOVO BACTERÍOFAGO LÍTICO PARA O BIOCONTROLE DE *SALMONELLA ENTERICA*

AUTOR PRINCIPAL: Rafael Levandowski

COAUTORES: Pottker, E.S; Webber, B.; Rizzo, N.N.; Santos, S.P.; Manto, L.; Cibulski, S.; Maboni, F.; Nascimento, V.P.; Zanella, R.; Rodrigues, L.B.

ORIENTADOR: Laura Beatriz Rodrigues

UNIVERSIDADE: Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

Salmonella spp. é um dos principais patógenos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos. A utilização de antimicrobianos para tratamento e controle das salmoneloses das aves, e como promotores de crescimento, é comum, mas pode resultar na seleção de bactérias resistentes. Esta resistência representa um risco para a saúde humana e animal devido à dificuldade terapêutica e à possibilidade de transmissão horizontal dos genes de resistência entre diferentes espécies bacterianas. Com base na relevância do tema, nosso estudo teve como objetivo buscar alternativas ao controle químico destes patógenos através do controle biológico com a utilização de bacteriófagos.

DESENVOLVIMENTO:

Bacteriófagos, também chamados de fagos, são vírus bacterianos intracelulares obrigatórios, hospedeiro-específicos, que infectam somente procariontes. Foi isolado, caracterizado e sequenciado o genoma de um novo bacteriófago lítico, com potencial para controle biológico contra sorovares de *Salmonella enterica*. Uma vez confirmada a ausência de profago, utilizamos *Salmonella* Bredeney como bactéria hospedeira para o fago. Como fonte de isolamento, utilizou-se água residual proveniente de abatedouro de frangos de corte. A amostra foi incubada com a bactéria hospedeira e meio de cultura para enriquecimento ($36 \pm 1^\circ\text{C}$, 24 h.). Após centrifugação e filtração, foi pipetada em TSA com sobrecamada semi-sólida inoculada com a *S. Bredeney*

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



hospedeira, incubada ($36 \pm 1^\circ\text{C}$, 24 h.) e verificada presença de halo de lise e características fenotípicas. Avaliou-se a ação lítica contra 12 sorovares de *Salmonella enterica* (Brandenburg, Anatum, Tennessee, Agona, Bredeney, Schwarzengrund, Infantis, Rissen, Lexington, Panama, Enteritidis e Typhimurium), descritos na Tabela 1. O fago lisou 7 dos 12 sorovares testados (Brandenburg, Bredeney, Infantis, Rissen, Panama, Enteritidis e Typhimurium), mesmo estes possuindo genes de virulência, multirresistência a antimicrobianos e/ou formando biofilmes. O sequenciamento partiu de alíquotas purificadas de DNA, as bibliotecas reunidas foram sequenciadas e emparelhadas (2x150nt) no equipamento MiSeq (Illumina®). Na montagem do genoma, foram utilizados os softwares Newbler e Velvet e as análises subsequentes nos softwares BLAST, PFAST, Virfam e Geneious. O sequenciamento identificou um novo bacteriófago, genoma circular DNA fita dupla, 54.894 pb e 446 ORFs identificadas (>100 pb), com somente 41 dessas ORFs gerando resultados no BLASTP, pertencente à ordem Caudovirales e à família Myoviridae Tipo 1 Grupo 7, até então não descrito. Foi denominado como *Salmonella Phage UPF_BP2*, com registro no GenBank sob o número KX826077, cuja nomenclatura refere-se à: Universidade de Passo Fundo (UPF), instituição de ensino onde realizou-se o isolamento; BP, abreviatura de *Bacteriophage* e o número 2, por tratar-se do segundo fago isolado e sequenciado por nosso grupo de pesquisa.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

O isolamento deste novo bacteriófago, denominado *Salmonella Phage UPF_BP2*, com alta infectividade frente à sorovares de *Salmonella enterica*, pode ser uma alternativa ao uso de antimicrobianos, estabelecendo uma inovação para o controle de *Salmonella enterica* em alimentos, animais e meio ambiente.

REFERÊNCIAS:

Sillankorva et al. *Salmonella* Enteritidis bacteriophage candidates for phage therapy of poultry. *Journal of Applied Microbiology* ISSN, 2010. p 1175-1186.

Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, v 1, 2001

Hendrix RW. Bacteriophages: evolution of the majority. *Theor. Popul. Biol.* Jun 2002.

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



Klumpp J, Fouts DE, Sozhamannan S. Bacteriophage functional genomics and its role in bacterial pathogen detection. Briefings in functional genomics. vol 12, no 4, p 354-365, 2013.

Bardina C, Colom J, Spricigo DA, Otero J, Osuna MS, Cortes P, Llagostera M. Genomics of three new bacteriophage useful in the biocontrol of *Salmonella*. Frontiers in Microbiology, Abril 2016. Vol,7.

NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa): Não foram utilizados animais ou seres humanos na pesquisa realizada.

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



ANEXOS:

Tabela 1: Características das amostras de *Salmonella enterica* utilizadas para avaliar a ação lítica do bacteriófago *Salmonella* Phage UPF_BP2.

Sorovar	Capacidade de formação de biofilme a 36°C ^{3,4}	Genes de virulência ^{1,3}										Resistência a Antimicrobianos ^{3,4}	Local de isolamento	Ano de isolamento	
		Invasão celular		Fimbrias			Proteínas efetoras			Plasmídeo	Biofilme				
		invA	hilA	sefA	ipfA	agfA	avrA	sopE	sivH	spvC	spiA				
Enteritidis ATCC	Moderada	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	-	-
Typhimurium ATCC	Moderada	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	-	-
Lexington ¹	Não produtora	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	SUL	Esponjas antes da lavagem	2013	
Rissen ¹	Não produtora	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	SUL	Suabe de cloaca	2013	
Panama ¹	Fraca	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	SUL, ATM, AMC, CTX	Suabe de cloaca	2013	
Brandenburg ²	Não produtora	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	S	Carcaça após higienização	2012	
Anatum ²	Fortemente	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	SOX, SUL	Suabe de cloaca	2012	
Tennessee ²	Fraca	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	SPT,SOX,TET, SUT, GEN,CAZ, ATM,AMC,CTX	Carcaça congelada 24h	2012	
Bredney ²	Moderada	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	SPT,SOX, SUT, CHL, SUL	Suabe de cloaca	2012	
Agona ²	fraca	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	SOX, SUL, ENRO	Gaiola	2012	
Schwarzengrund ²	Fraca	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	SPT,SOX,SUT,CHL, SUL	Suabe de cloaca	2012	
Infantis ²	Fraca	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	SPT, SOX, SUT,CHL,SUL,GEN, ENRO, CAZ, ATM,AMC,CTX	Gaiola	2012	

Legendas dos dados obtidos: ¹ Santos, 2015; ² Mion, 2016; ³ Borges, 2016; ⁴ Mandelli, 2016. Princípios ativos testados: Sulfonamida (SUL), Cloranfenicol(CHL), Gentamicina(GEN), Tetraciclina(TET), Ampicilina(AMP), Enrofloxacina(ENRO), Cefotaxima(CAZ), Aztreonam(ATM), Amoxicilina+ác.clavulônico(AMC), Cefotaxima(CTX), Amoxicilina(AMX), Cefiofur(CIF), Ciprofloxacina(CIP), Espectinomicina(EST), Sulfafurazole(SOX), Sulfá + trimetopim(SUT), Estreptomicina(SPT), + possui o gene de virulência; - não possui o gene de virulência; NR: não realizado; S: Sensível a todos os princípios ativos.

Gráfico 1: Resultados dos melhores hits no Blastp do fago UPF_BP2.

