

Prevalência dos clones epidêmicos de *Salmonella* spp. isolados da cadeia alimentar em todo território nacional.

Aluna: Julia Silva José
Colégio Pedro II
Orientador: Bruno Rocha Pribul
Unidade: Instituto Oswaldo Cruz – IOC
Laboratório de Enterobactérias/LAENBT

Introdução

Pertencentes à Família Enterobacteriaceae, as bactérias do gênero *Salmonella*, especialmente a *Salmonella enterica*, são conhecidas por serem responsáveis por quadros de intoxicação alimentar. Elas residem majoritariamente na microbiota intestinal de animais, tanto nos de sangue frio quanto nos de sangue quente, e podem também contaminar o solo, a vegetação, a água e os alimentos.

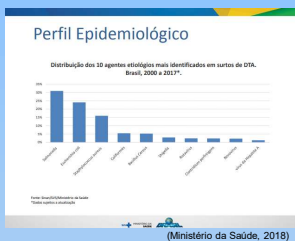


(Adaptado de Making Food Safer to Eat – CDC)

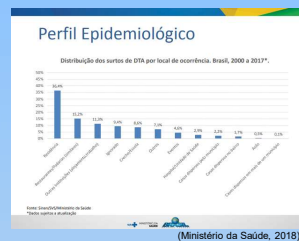


(Crescimento de colônias de Salmonella na placa Agar Heikoer)

A infecção por *Salmonella* spp. faz parte do grupo das DTA ou Doenças Transmitidas por Alimentos, que são causadas pela ingestão de comidas contaminadas, principalmente as de origem animal. De 2000 até 2017, a *Salmonella* spp. foi o primeiro agente etiológico mais identificado no surto de DTA, sendo responsável por mais de 30% dos casos. Os surtos ocorrem, majoritariamente, dentro de residências e em restaurantes.



(Ministério da Saúde, 2018)



(Ministério da Saúde, 2018)

A infecção por *Salmonella enterica* é dividida em:

• Salmonelose não tifóide:

É um quadro de infecção gastrointestinal. A contaminação acontece através da ingestão de água ou alimentos (principalmente de origem animal) crus ou malcozidos. Os produtos geralmente relacionados a surtos de salmonelose são os ovos, carnes, leites e derivados. Os sorovares mais comuns que infectam mundialmente humanos é a *Salmonella* sor. Typhimurium e *Salmonella* sor. Enteritidis. Os sintomas mais comuns são dores abdominais, mal-estar, diarreia, vômito, perda de apetite, febre baixa.

• Febre tifóide:

A febre tifóide é uma doença infectocontagiosa transmitida pela bactéria *Salmonella enterica* sorotipo Typhi por meio do consumo de água e alimentos contaminados ou pelo contato direto com as fezes dos doentes. Os sintomas incluem febre alta, mal-estar, falta de apetite, dores de cabeça, dor na região abdominal, diarreia ou prisão de ventre, alterações no ritmo cardíaco, manchas no corpo e aumento do volume do baço. Se não tratada, os sintomas podem evoluir para quadros de septicemia, hemorragia intestinal, coma e morte. A doença está diretamente associada a baixos níveis socioeconômicos, principalmente em regiões com precárias condições de saneamento básico, higiene pessoal e ambiental.

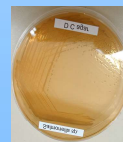
• Febre entérica:

A febre entérica é ocasionada pela *Salmonella enterica* sorotipo Paratyphi. Tal qual as outras infecções causadas pela *Salmonella*, a contaminação advém da ingestão de água ou alimentos contaminados. Os sintomas são bastante semelhantes ao da febre tifóide, entretanto, geralmente, são mais brandos;

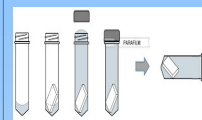
Metodologia

O objetivo do projeto é identificar os principais sorovares de *Salmonella* spp. circulantes na cadeia alimentar em todo território nacional, bem como avaliar os clones de maior impacto a nível epidemiológico. Para atingir este propósito, é necessário descobrir a proximidade genética das cepas investigadas a partir da técnica do PFGE ("pulsed field gel electrophoresis" ou eletroforese em campo pulsante).

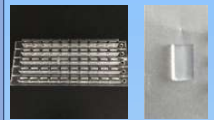
Técnica do PFGE



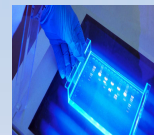
- Obtenção dos cultivos;
- Realização das suspensões bacterianas;
- Ajuste da densidade das suspensões bacterianas (0,5 na escala de MacFarland).



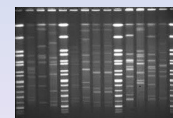
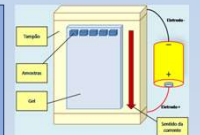
- Preparar os blocos (plugs) em agarose de baixo ponto de fusão.
- Adicionar os plugs a uma solução de lise bacteriana (Proteinase K + Tampão de lise).



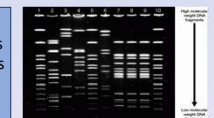
- Levar para Banho Maria por 3 horas;
- Lavagem com água tipo 1 duas vezes;
- Lavagem com Tris-EDTA pH 8.0 quatro vezes.



- Uso da enzima de restrição para gerar os fragmentos de DNA;
- Realização da implantação do plug no campo elétrico;
- Realizar a eletroforese.



- Obter o padrão das bandas e analisar os perfis de restrição obtidos para avaliar os clones.



Conclusão

A técnica do PFGE é usada para avaliar o percentual de similaridade gênica entre as amostras investigadas e isoladas de *Salmonella* de um mesmo sorovar e para traçar os pulsotipos de maior prevalência circulantes no Brasil.