



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2014
<b>Local</b>	Porto Alegre
<b>Título</b>	A técnica da Reação da Cadeia da Polimerase (PCR) para detecção de genes de virulência que codificam a adesina (cadF) e a flagelina (flaA) em Campylobacter jejuni isolados de frango de corte
<b>Autor</b>	ISADORA MONTEIRO MIRANDA
<b>Orientador</b>	VLADIMIR PINHEIRO DO NASCIMENTO

A campilobacteriose é uma zoonose de distribuição mundial. Nos últimos anos tem-se reconhecido *Campylobacter* como um microrganismo emergente de origem alimentar, sendo amplamente distribuído ambiente, como também assumindo o papel de agente patogênico ou comensal do trato gastrointestinal de animais domésticos e selvagens. As aves domésticas albergam *Campylobacter* spp. no intestino, geralmente são portadoras assintomáticas da infecção. Este patógeno passou a ser o agente etiológico mais frequentemente isolado em doenças gastrointestinais agudas em seres humanos. Outras apresentações clínicas da infecção por *Campylobacter* são meningite, septicemia, infecções extra-intestinais localizadas e complicações como a síndrome de Guillain-Barré (GBS) e síndrome de Miller Fisher (MFS).

A patogenicidade de infecções por *Campylobacter* não está claramente compreendida. No entanto, é reconhecido que a motilidade mediada por flagelos, adesão bacteriana, capacidade invasiva e habilidade para produzir toxinas são determinantes de virulência. Neste contexto, adesão e invasão de células epiteliais são os mecanismos patogênicos mais importantes no quadro de diarreia inflamatória por *Campylobacter*. O gene *flaA* foi identificado por ser responsável pela expressão na colonização. O produto do gene *cadF* é uma proteína de aderência que permite a ligação à fibronectina, envolvida no processo de invasão e organização dos microfilamentos em células hospedeiras.

**Objetivo:** Detectar a frequência dos genes *flaA* e *cadF* em *Campylobacter jejuni* de lotes de frango de corte abatidos em matadouros-frigoríficos com inspeção federal.

### **Materiais e métodos:**

Cepas de *Campylobacter jejuni* foram isoladas de carcaças, fezes de frangos e amostras de água do *chiller* foram coletadas em abatedouro frigorífico de aves e enviadas ao laboratório em recipientes estéreis. As carcaças foram rinsadas com 400mL de água peptonada tamponada 1% (APT 1%). A partir das amostras coletadas, foi retirado uma alíquota de 1mL de cada amostra e acrescentado em 9mL de caldo Bolton(1:9), e incubado em microaerofilia por 48h à 41.5°C. O isolamento foi em meio seletivo no agarmCCDA, incubado por 48 h em microaerofilia(5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> e 85% N<sub>2</sub>), na temperatura de 41.5 °C. Colônias suspeitas foram repicadas em agarsangue de ovino 5% e avaliadas em microscopia em contraste de fase, seguidas da coloração de Gram, testes de oxidase, catalase e motilidade e confirmadas com ensaio multiplex-PCR.

Trinta amostras de *Campylobacter jejuni* foram isoladas e identificadas mediante a técnica de PCR. Como controle positivo será utilizada a cepa de *C. jejuni*- ATCC 29428 e como *primers* as sequências de *flaA*(F- GGATTTCGTATTAACACAAATGGTGC e R- CTGTAGTAATCTTAAACATTTTG ) e *cadF*(F- TTGAAGGTAATTTAGATATG e R- CTAATACCTAAAGTTGAAAC). Para todas as amplificações será utilizado uma mistura de 25 µL contendo 2.5 µL de buffer (10x), 0.4 (5U) de Taq DNA polimerase, 1.2 µl de MgCl<sub>2</sub>, 2.5 µL de dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP, 2.5mM), 0.5 µL de DNA e 1 µL de cada *primers* (20pM). Usando o termociclador as condições dos ciclos serão: 5 min a 94 °C, 30 ciclos de 1 min a 94 °C, anelamento por 1min, 1min a 72°C seguido por uma extensão final por 1min a 72°C. A eletroforese dos produtos amplificados será feita em gel de agarose a 2%, corado em brometo de etídio. Para visualização será utilizado o sistema de foto documentação através de transluminador ultravioleta.

Resultados e discussão serão elucidados posteriormente.

