

GENES ADESINAS EM CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* CLASSIFICADAS COMO FORTEMENTE FORMADORAS DE BIOFILME ISOLADAS DE CARNES DE FRANGO

Angélica Frigo¹, Luana Rampazzo¹, Dinael Simão Bitner², Pedro Teles³, Maiara Cristiane Brisola⁴,
Regiane Boaretto Crecencio⁴, Lenita Moura Stefani⁵

¹Acadêmica (o) do Curso de Zootecnia – UDESC Oeste. Bolsista PIBIC/CNPq

²Acadêmico do Curso de Zootecnia – UDESC Oeste. Bolsista PIBIC/CNPq

³Mestrando do Programa de Pós-graduação em Zootecnia - UDESC-Oeste.

⁴Mestrando do Programa de Pós-graduação em Zootecnia - UDESC-Oeste. Bolsista FAPESC

⁵Orientadora. Departamento de Zootecnia – UDESC Oeste. E-mail: borrucia@hotmail.com. Bolsista PQ/CNPq

Palavras-chave: Biofilme. Carne de frango. *Escherichia coli*. Genes de adesinas.

O objetivo deste trabalho foi pesquisar a presença de genes de adesinas relacionado à patogenicidade e formação de biofilme em cepas de *Escherichia coli* isoladas de carnes de frango *in natura*. As análises foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular, Imunologia e Microbiologia (LABMIM) localizado no campus da UDESC-Oeste, no município de Chapecó (SC). Inicialmente, a bactéria *Escherichia coli* foi isolada de amostras de carne de frango (n=150) provenientes dos supermercados da região oeste do estado de Santa Catarina. Após, as cepas isoladas foram submetidas ao teste para verificar a capacidade de formação de biofilmes e aquelas classificadas como “fortemente formadoras de biofilmes” foram sujeitas a extração de DNA pelo método de fervura. Para isso foi utilizada uma alíquota de 50µL de cada uma das amostras isoladas e que estavam armazenadas em meio TSA com glicerol, reativadas em caldo BHI e incubadas em estufa bacteriológica a 37±1°C por 24 horas. Após esse período, o caldo cultivado foi semeado por esgotamento em ágar EMB e incubado a 37±1 °C por 24 horas. Posteriormente, foram coletadas com uma alça de platina estéril, 3 a 5 colônias isoladas no ágar EMB, que foram solubilizadas em 200µL de água ultrapura. Essa solução foi resfriada a -20°C por 10 minutos e em seguida aquecida a 100°C em banho maria com agitação pelo mesmo período. Por último, a solução foi centrifugada (14000 x g por 10 min) e o sobrenadante contendo o DNA foi repassado para um novo microtubo. O material foi armazenado a -20°C até o momento da análise. A reação de PCR convencional foi preparada (0,4 µL de Taq polimerase, 2,5µL tampão 10x, dNTP a 10Mm, *primers* na concentração de 100pmol, MgCl₂ a 4Mm, 5µL do DNA extraído e água ultrapura na quantidade suficiente para completar o volume da reação) e os genes avaliados foram: *sha/foc*, *afa/draB*, *Iha*, *Hrla*, *fimC*, *Tsh*, *papC*, *Mat*, *Crl*, *felA*, *fimH* e *papG*. Os produtos da PCR foram analisados através de eletroforese em gel de agarose (1%), corado com brometo de etídeo, com marcador de peso molecular de 1pb a 110 V, 150 mA, 110 W por 60 min. Após, realizou-se a leitura em fotodocumentador com luz UV. Os resultados foram avaliados por meio de teste Qui Quadrado (x²) e teste exato de Fisher e para análise dos dados utilizou-se o programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008) e o Software Excel. Como resultados obtivemos, 88 (88/150) amostras positivas para *E. coli*, e destas 35% (31/88) foram classificadas como fortemente formadoras de biofilme (FTFB) e somente 4,54% (3/88) das cepas não demonstraram capacidade de formar biofilme. As 31 cepas classificadas como FTFB foram submetidas à pesquisa de genes relacionados às adesinas bacterianas. Os genes com maior prevalência encontrados foram: *fimC* (83,87%), *crl* (64,51%) e o *papG* (77,41%). Os genes *sha/foc*, *Iha*, *felA* e o *fimH* não foram detectados. Um isolado de *E. coli* apresentou o gene *afa/dra*, e esta é a primeira vez que este gene foi detectado em carne de frango no Brasil. Este gene é

comumente encontrado em isolados de *E.coli* em humanos, sendo responsável por ocasionar alterações nas microvilosidades da bexiga, representando assim um caráter zoonótico das cepas isoladas. Estes resultados confirmam que a carne de frango pode ser um veículo de transmissão de microrganismos patogênicos que podem ocasionar grandes problemas para a indústria alimentícia bem como à saúde pública.