



MALDI-TOF COMO MÉTODO DE IDENTIFICAÇÃO PARA *WEISSELLA TRUCTAE*

XVII Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 1ª edição, de 04/10/2023 a 06/10/2023
ISBN dos Anais: 978-65-5465-040-3

REIS; Francisco Yan Tavares ¹, ASSIS; Gabriela Borba Neto ², DORELLA; Fernanda Alves ³, ORTEGA; César ⁴, AVENDAÑO-HERRERA; Ruben ⁵, FIGUEIREDO; Henrique César Pereira ⁶

RESUMO

Recentemente *Weissella ceti*, bactéria causadora de doença septicêmica em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) foi reclassificada taxonomicamente como uma nova espécie, *Weissella tructae* (<https://doi.org/10.1007/s42770-022-00856-5>). Com esta reclassificação faz-se necessária a avaliação de métodos de diagnóstico capazes de identificar *W. tructae*, bem como diferenciá-la de *W. ceti* de forma eficiente, rápida e com baixo custo. Sendo assim, o objetivo do estudo foi avaliar o uso de MALDI-TOF (*matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight*) como técnica de identificação de *W. tructae*. Para tanto, 59 isolados de *Weissella sp.* recuperados de truta arco-íris e uma cepa referência de *W. ceti* (CECT 7719^T) recuperada de baleia-bicuda-de-sowerby (*Mesoplodon bidens*) foram identificados por sequenciamento do gene 16S rRNA e MALDI-TOF. Os 59 isolados e a cepa referência foram descongelados e plaqueados em ágar Man, Rogosa & Sharpe. Após crescimento, o DNA dos isolados foi extraído termicamente. A amplificação do gene 16S rRNA foi feita por PCR utilizando os primers C70 e B37, verificada por eletroforese e os produtos foram purificados. A PCR do sequenciamento foi conduzida utilizando o kit *BigDye^{T M} terminator cycle sequencing* e o produto foi sequenciado no ABI 3500. As sequências obtidas foram buscadas no banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* utilizando o *Basic Local Alignment Search Tool*. Similaridades $\geq 97\%$ indicam identificação ao nível de espécie. Para a identificação de espécies de *Weissella* por MALDI-TOF, *main spectra profiles* de quatro cepas de *W. tructae* (WS08=CBMAI 2730^T, WS74, WS105 e W-1) e uma cepa de *W. ceti* (CECT 7719^T) foram incluídas no banco de dados local do equipamento. Posteriormente, uma colônia de cada isolado foi colocada em uma placa alvo e sobreposta por ácido fórmico 70% e em seguida, por matriz de ácido α -ciano-4 hidroxicinâmico. A aquisição dos espectros de massa foi realizada pelo MicroFlex LT utilizando o software FlexControl. O resultado da identificação é expresso por um score, que quando <1700 indica identificação não confiável, ≥ 1700 e <2000 indica identificação a nível de gênero e ≥ 2000 indica identificação a nível de espécie. As similaridades dos 59 isolados de *Weissella sp.* com *W. tructae* variaram de 97,18% a 100%, enquanto suas similaridades com *W. ceti* variaram de 96,12% a 99,83%. A cepa referência de *W. ceti* quando comparada com *W. tructae* indicou uma similaridade de 99,93%. Esses dados corroboram com as similaridades genômicas entre as duas espécies observadas em estudo prévio do nosso grupo e indicam que o sequenciamento de 16S rRNA não é um método adequado para diferenciar as duas espécies. Já o MALDI-TOF identificou os

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, yan_reis@hotmail.com

² Universidade Federal de Minas Gerais, gabriellaborba.vet@gmail.com

³ Universidade Federal de Minas Gerais, fernandadorella@gmail.com

⁴ Universidad Autónoma del Estado de México, México, cos_mx@hotmail.com

⁵ Universidad Andrés Bello e Centro FONDAP INCAR, Chile, reavendano@yahoo.com

⁶ Universidade Federal de Minas Gerais, figueiredoh@yahoo.com

59 isolados de *Weissella sp.* como *W. tructae*, com scores variando de 2005 a 2580. Ao contrário, as mesmas cepas apresentaram scores baixos para *W. ceti*, indicando uma identificação não confiável. A cepa referência de *W. ceti* foi corretamente identificada (score=2223). Conclui-se que o MALDI-TOF é um método eficaz para identificação de *W. tructae* e que possui um poder discriminatório entre *W. ceti* e *W. tructae* maior que o sequenciamento do gene 16S rRNA. Agências financiadoras: CAPES, CNPq e FAPEMIG

PALAVRAS-CHAVE: classificação, espectrometria de massas, padrão-ouro, validação

¹ Universidade Federal de Minas Gerais, yan_reis@hotmail.com

² Universidade Federal de Minas Gerais, gabriellaborba.vet@gmail.com

³ Universidade Federal de Minas Gerais, fernandadorella@gmail.com

⁴ Universidad Autónoma del Estado de México, México, cos_mx@hotmail.com

⁵ Universidad Andrés Bello e Centro FONDAP INCAR, Chile, reavendano@yahoo.com

⁶ Universidade Federal de Minas Gerais, figueiredoh@yahoo.com