

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS FACULDADE DE BIOTECNOLOGIA CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

DAVI JOSUÉ MARCON

PREDIÇÃO FUNCIONAL DE GENES DE RESISTÊNCIA EM
CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS BIOVAR EQUI APÓS
INDUÇÃO DA RESISTÊNCIA A RIFAMPICINA E ENROFLOXACINA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS FACULDADE DE BIOTECNOLOGIA CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

DAVI JOSUÉ MARCON

PREDIÇÃO FUNCIONAL DE GENES DE RESISTÊNCIA EM CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS BIOVAR EQUI APÓS INDUÇÃO DA RESISTÊNCIA A RIFAMPICINA E ENROFLOXACINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Azevedo Baaúna

Belém 2022

Marcon, Davi

Predição funcional de genes de resistência em Corynebacterium pseudotuberculosis biovar equi após indução da resistência a rifampicina e enrofloxacina/ DAVI JOSUÉ MARCON. – Belém, 2022.

32 p. : il. (algumas color.) ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Azevedo Baaúna

Monografia – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA, 2022.

1. Bioinformática.2. Curadoria de genomas. 3. Fechamento de gaps. I. Título.

ERRATA

Elemento opcional da ABNT (2011, 4.2.1.2). Exemplo:

FERRIGNO, C. R. A. **Tratamento de neoplasias ósseas apendiculares com reimplantação de enxerto ósseo autólogo autoclavado associado ao plasma rico em plaquetas**: estudo crítico na cirurgia de preservação de membro em cães. 2011. 128 f. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Folha	Linha	Onde se lê	Leia-se
1	10	auto-conclavo	autoconclavo

DAVI JOSUÉ MARCON

PREDIÇÃO FUNCIONAL DE GENES DE RESISTÊNCIA EM CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS BIOVAR EQUI APÓS INDUÇÃO DA RESISTÊNCIA A RIFAMPICINA E ENROFLOXACINA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia.

Data da Defesa: Conceito:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Rafael Azevedo BaaúnaFaculdade de Biotecnologia - UFPA
Orientador

Prof. Dr. Nome SobrenomeFaculdade de Computação - UFPA
Membro da Banca

Prof. Dra. Nome SobrenomeFaculdade de Biotecnologia - UFPA
Membro da Banca

Belém 2022

Este trabalho é dedicado às crianças adultas que, quando pequenas, sonharam em se tornar cientistas.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos principais são direcionados à Gerald Weber, Miguel Frasson, Leslie H. Watter, Bruno Parente Lima, Flávio de Vasconcellos Corrêa, Otavio Real Salvador, Renato Machnievscz¹ e todos aqueles que contribuíram para que a produção de trabalhos acadêmicos conforme as normas ABNT com LATEX fosse possível.

Agradecimentos especiais são direcionados ao Centro de Pesquisa em Arquitetura da Informação² da Universidade de Brasília (CPAI), ao grupo de usuários *latex-br*³ e aos novos voluntários do grupo *abnT_EX2*⁴ que contribuíram e que ainda contribuirão para a evolução do abnT_EX2.

Os nomes dos integrantes do primeiro projeto abnTEX foram extraídos de http://codigolivre.org.br/projects/abntex/

^{2 &}lt;http://www.cpai.unb.br/>

^{3 &}lt;http://groups.google.com/group/latex-br>

^{4 &}lt;http://groups.google.com/group/abntex2> e <http://www.abntex.net.br/>

RESUMO

Segundo a ABNT (2003, 3.1-3.2), o resumo deve ressaltar o objetivo, o método, os resultados e as conclusões do documento. A ordem e a extensão destes itens dependem do tipo de resumo (informativo ou indicativo) e do tratamento que cada item recebe no documento original. O resumo deve ser precedido da referência do documento, com exceção do resumo inserido no próprio documento. (...) As palavras-chave devem figurar logo abaixo do resumo, antecedidas da expressão Palavras-chave:, separadas entre si por ponto e finalizadas também por ponto.

Palavras-chave: latex. abntex. editoração de texto.

ABSTRACT

This is the english abstract.

 $\textbf{Keywords:} \ latex. \ abntex. \ text \ editoration.$

RÉSUMÉ

Il s'agit d'un résumé en français.

 $\textbf{Mots-cl\'es}: latex.\ abntex.\ publication\ de\ textes.$

RESUMEN

Este es el resumen en español.

Palabras clave: latex. abntex. publicación de textos.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura da molécula de DNA	20
Gráfico 1 – Estado do sequenciamento de genomas bacterianos	20

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Compara	ção das f	funcionalion	dades do	GapBlaster	, <i>FGAP</i> e <i>Ga</i>	pFiller	23
------------	---------	-----------	--------------	----------	------------	---------------------------	---------	----

LISTA DE TABELAS

Tabela I –	Informações de	e montagem do	s genomas o	de referência						•	•	23
------------	----------------	---------------	-------------	---------------	--	--	--	--	--	---	---	----

LISTA DE ALGORITMOS

Algoritmo 1 –	ESPERANÇA.									 					22	,
-																

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

abnTeX ABsurdas Normas para TeX

LISTA DE SÍMBOLOS

- Γ Letra grega Gama
- Λ Lambda
- ζ Letra grega minúscula zeta
- ∈ Pertence

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	Contexto	19
1.2	Justificativa	19
1.3	Objetivos	19
1.3.1	Objetivo Geral	19
1.3.2	Objetivos Específicos	19
1.4	Metodologia	19
1.4.1	Obtenção das amostras	19
1.4.2	Determinação da sensibilidade a antibióticos	19
1.4.3	Indução de resistência	19
1.4.4	Sequênciamento das amostras	19
1.4.5	Chamada, predição e avaliação dos variantes	19
1.5	Estrutura do Trabalho	19
2	REFERENCIAIS TEÓRICOS	20
2.1	Aliquam vestibulum fringilla lorem	20
3	IMPLEMENTAÇÃO	22
3.1	Algoritmo	22
4	RESULTADOS	23
5	CONCLUSÃO	24
	REFERÊNCIAS	25
	APÊNDICES	26
	APÊNDICE A – QUISQUE LIBERO JUSTO	27
	APÊNDICE B – NULLAM ELEMENTUM URNA	28
	ANEXOS	29
	ANEXO A – MORBI ULTRICES RUTRUM LOREM	3 0
		31
	ANEXO C - FUSCE FACILISIS LACINIA DUI	32

1 INTRODUÇÃO

- 1.1 Contexto
- 1.2 Justificativa
- 1.3 Objetivos
- 1.3.1 Objetivo Geral
- 1.3.2 Objetivos Específicos

1.4 Metodologia

1.4.1 Obtenção das amostras

Cepas wild type de Coryneacterium pseudotuberculosis biovar equi foram gentilmente cedidas pelo Prof. Dr. Vasco Azevedo da Universidade Federal de Minas Gerais, estas cepas são identificadas pelas sigas MB122, MB154, MB302 e MB336, e seus genomas estão depositados no banco de dados NCBI sob os códigos de acesso: TODO. As amostras foram isoladas, genotipadas e sequenciadas em um estudo anterior (BARAúNA et al., 2017).

1.4.2 Determinação da sensibilidade a antibióticos

A sensibilidade aos antibióticos enroflaxacina e rifampicina foram determinadas utilizando teste de concentração inibitória mínima de acordo com o descrito nas normas M100 do CLSI de 2020 (CLINICAL; (CLSI), 2020) e MD45 de 2015 (CLINICAL; (CLSI), 2015).

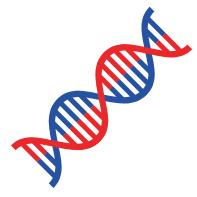
- 1.4.3 Indução de resistência
- 1.4.4 Sequênciamento das amostras
- 1.4.5 Chamada, predição e avaliação dos variantes

1.5 Estrutura do Trabalho

2 REFERENCIAIS TEÓRICOS

2.1 Aliquam vestibulum fringilla lorem

Figura 1 – Estrutura da molécula de DNA



Fonte: O Autor (2017)

Lorem ipsum dolor sit amet, consectetuer adipiscing elit. Ut purus elit, vestibulum ut, placerat ac, adipiscing vitae, felis. Curabitur dictum gravida mauris. Nam arcu libero, nonummy eget, consectetuer id, vulputate a, magna. Donec vehicula augue eu neque. Pellentesque habitant morbi tristique senectus et netus et malesuada fames ac turpis egestas. Mauris ut leo. Cras viverra metus rhoncus sem. Nulla et lectus vestibulum urna fringilla ultrices. Phasellus eu tellus sit amet tortor gravida placerat. Integer sapien est, iaculis in, pretium quis, viverra ac, nunc. Praesent eget sem vel leo ultrices bibendum. Aenean faucibus. Morbi dolor nulla, malesuada eu, pulvinar at, mollis ac, nulla. Curabitur auctor semper nulla. Donec varius orci eget risus. Duis nibh mi, congue eu, accumsan eleifend, sagittis quis, diam. Duis eget orci sit amet orci dignissim rutrum.

Aguardando
Amostras
Completos
Fragmentados
Em andamento
Em planejamento
Outros

Gráfico 1 – Estado do sequenciamento de genomas bacterianos

Fonte: Mukherjee et al. (2016)

Nam dui ligula, fringilla a, euismod sodales, sollicitudin vel, wisi. Morbi auctor lorem non justo. Nam lacus libero, pretium at, lobortis vitae, ultricies et, tellus. Donec aliquet, tortor sed accumsan bibendum, erat ligula aliquet magna, vitae ornare odio metus a mi. Morbi ac orci

et nisl hendrerit mollis. Suspendisse ut massa. Cras nec ante. Pellentesque a nulla. Cum sociis natoque penatibus et magnis dis parturient montes, nascetur ridiculus mus. Aliquam tincidunt urna. Nulla ullamcorper vestibulum turpis. Pellentesque cursus luctus mauris.

Nulla malesuada porttitor diam. Donec felis erat, congue non, volutpat at, tincidunt tristique, libero. Vivamus viverra fermentum felis. Donec nonummy pellentesque ante. Phasellus adipiscing semper elit. Proin fermentum massa ac quam. Sed diam turpis, molestie vitae, placerat a, molestie nec, leo. Maecenas lacinia. Nam ipsum ligula, eleifend at, accumsan nec, suscipit a, ipsum. Morbi blandit ligula feugiat magna. Nunc eleifend consequat lorem. Sed lacinia nulla vitae enim. Pellentesque tincidunt purus vel magna. Integer non enim. Praesent euismod nunc eu purus. Donec bibendum quam in tellus. Nullam cursus pulvinar lectus. Donec et mi. Nam vulputate metus eu enim. Vestibulum pellentesque felis eu massa.

3 IMPLEMENTAÇÃO

3.1 Algoritmo

```
Algoritmo 1: ESPERANÇA

Entrada: S, \eta, U

Saída: Número esperado de nodos atingidos

1 início

2 | \sigma(S) = 0

3 | para cada \ u \in S faça

4 | \sigma(S) \leftarrow \sigma(S) + \text{BACKTRACK}(u, \eta, W, U)

5 | fim

6 fim

7 retorna \sigma(S)
```

4 RESULTADOS

Tabela 1 – Informações de montagem dos genomas de referência

Organismo	Montador	Bases com N	Scaffolds
Corynebacterium pseudotuberculosis 262			
	SPADES	2893857	4611
Staphylococcus aureus A-S391_USA300			
	ABySS	3893185	5012
	ABySS2	3821622	125
	Allpaths-LG	2880676	19
	Bambus2	2862930	17
	MSR-CA	2872905	17
	SGA	3128388	546
	SOAPdenovo	2924135	175
	Velvet	2877995	173
Rhodobacter sphaeroides 2.4.1			
	ABySS	5160167	2714
	ABySS2	5331930	480
	Allpaths-LG	4609785	38
	Bambus2	4428612	92
	CABOG	4259679	130
	MSR-CA	4498559	44
	SGA	5614693	2096
	SOAPdenovo	4627058	312
	Velvet	4615068	382

Fonte: Sá et al. (2016)

Quadro 1 – Comparação das funcionalidades do GapBlaster, FGAP e GapFiller

Funcionalidades	GapBlaster	FGAP	GapFiller
Método de alinhamento	Legacy Blast, Blast+ ou MUMmer	Blast+	Bowtie ou BWA
Ajuste do tamanho da região flanqueadora	Sim	Sim	Sim
Permite curadoria manual	Sim	Não	Não
Realiza análise automática	Sim	Sim	Sim
Usa leituras pareadas para fechar gaps	Não	Não	Sim
Usa contigs para fechar gaps	Sim	Sim	Não
Lê arquivos nos formatos FASTQ, SAM e BAM	Não	Não	Sim
Executa código em paralelo	Não	Sim	Não
Interface gráfica	Sim	Não	Não
Melhora o resultado de outros programas	Sim	Não foi testado	Não foi testado
Fecha gaps corretamente	Sim	Sim	Sim

Fonte: Sá et al. (2016)

5 CONCLUSÃO

Sed consequat tellus et tortor. Ut tempor laoreet quam. Nullam id wisi a libero tristique semper. Nullam nisl massa, rutrum ut, egestas semper, mollis id, leo. Nulla ac massa eu risus blandit mattis. Mauris ut nunc. In hac habitasse platea dictumst. Aliquam eget tortor. Quisque dapibus pede in erat. Nunc enim. In dui nulla, commodo at, consectetuer nec, malesuada nec, elit. Aliquam ornare tellus eu urna. Sed nec metus. Cum sociis natoque penatibus et magnis dis parturient montes, nascetur ridiculus mus. Pellentesque habitant morbi tristique senectus et netus et malesuada fames ac turpis egestas.

Phasellus id magna. Duis malesuada interdum arcu. Integer metus. Morbi pulvinar pellentesque mi. Suspendisse sed est eu magna molestie egestas. Quisque mi lorem, pulvinar eget, egestas quis, luctus at, ante. Proin auctor vehicula purus. Fusce ac nisl aliquam ante hendrerit pellentesque. Class aptent taciti sociosqu ad litora torquent per conubia nostra, per inceptos hymenaeos. Morbi wisi. Etiam arcu mauris, facilisis sed, eleifend non, nonummy ut, pede. Cras ut lacus tempor metus mollis placerat. Vivamus eu tortor vel metus interdum malesuada.

Sed eleifend, eros sit amet faucibus elementum, urna sapien consectetuer mauris, quis egestas leo justo non risus. Morbi non felis ac libero vulputate fringilla. Mauris libero eros, lacinia non, sodales quis, dapibus porttitor, pede. Class aptent taciti sociosqu ad litora torquent per conubia nostra, per inceptos hymenaeos. Morbi dapibus mauris condimentum nulla. Cum sociis natoque penatibus et magnis dis parturient montes, nascetur ridiculus mus. Etiam sit amet erat. Nulla varius. Etiam tincidunt dui vitae turpis. Donec leo. Morbi vulputate convallis est. Integer aliquet. Pellentesque aliquet sodales urna.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6028**: Resumo - apresentação. Rio de Janeiro, 2003. 2 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: Informação e documentação — trabalhos acadêmicos — apresentação. Rio de Janeiro, 2005. 9 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 14724**: Informação e documentação — trabalhos acadêmicos — apresentação. Rio de Janeiro, 2011. 15 p. Substitui a Ref. ABNT (2005).

BARAúNA, R. A. et al. Assessing the genotypic differences between strains of corynebacterium pseudotuberculosis biovar equi through comparative genomics. **PLOS ONE**, v. 12, p. e0170676, 1 2017. ISSN 1932-6203.

CLINICAL; (CLSI), L. S. I. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. 3. ed. [S.l.]: CLSI Supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

CLINICAL; (CLSI), L. S. I. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 30. ed. [S.I.]: CLSI Supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020.

MUKHERJEE, S. et al. Genomes online database (gold) v. 6: data updates and feature enhancements. **Nucleic Acids Research**, Oxford Univ Press, p. gkw992, 2016.

SÁ, P. H. de et al. Gapblaster: a graphical gap filler for prokaryote genomes. **PloS one**, Public Library of Science, v. 11, n. 5, p. e0155327, 2016.



APÊNDICE A - QUISQUE LIBERO JUSTO

Quisque facilisis auctor sapien. Pellentesque gravida hendrerit lectus. Mauris rutrum sodales sapien. Fusce hendrerit sem vel lorem. Integer pellentesque massa vel augue. Integer elit tortor, feugiat quis, sagittis et, ornare non, lacus. Vestibulum posuere pellentesque eros. Quisque venenatis ipsum dictum nulla. Aliquam quis quam non metus eleifend interdum. Nam eget sapien ac mauris malesuada adipiscing. Etiam eleifend neque sed quam. Nulla facilisi. Proin a ligula. Sed id dui eu nibh egestas tincidunt. Suspendisse arcu.

APÊNDICE B - NULLAM ELEMENTUM URNA

Nunc velit. Nullam elit sapien, eleifend eu, commodo nec, semper sit amet, elit. Nulla lectus risus, condimentum ut, laoreet eget, viverra nec, odio. Proin lobortis. Curabitur dictum arcu vel wisi. Cras id nulla venenatis tortor congue ultrices. Pellentesque eget pede. Sed eleifend sagittis elit. Nam sed tellus sit amet lectus ullamcorper tristique. Mauris enim sem, tristique eu, accumsan at, scelerisque vulputate, neque. Quisque lacus. Donec et ipsum sit amet elit nonummy aliquet. Sed viverra nisl at sem. Nam diam. Mauris ut dolor. Curabitur ornare tortor cursus velit.

Morbi tincidunt posuere arcu. Cras venenatis est vitae dolor. Vivamus scelerisque semper mi. Donec ipsum arcu, consequat scelerisque, viverra id, dictum at, metus. Lorem ipsum dolor sit amet, consectetuer adipiscing elit. Ut pede sem, tempus ut, porttitor bibendum, molestie eu, elit. Suspendisse potenti. Sed id lectus sit amet purus faucibus vehicula. Praesent sed sem non dui pharetra interdum. Nam viverra ultrices magna.

Aenean laoreet aliquam orci. Nunc interdum elementum urna. Quisque erat. Nullam tempor neque. Maecenas velit nibh, scelerisque a, consequat ut, viverra in, enim. Duis magna. Donec odio neque, tristique et, tincidunt eu, rhoncus ac, nunc. Mauris malesuada malesuada elit. Etiam lacus mauris, pretium vel, blandit in, ultricies id, libero. Phasellus bibendum erat ut diam. In congue imperdiet lectus.



ANEXO A - MORBI ULTRICES RUTRUM LOREM

Sed mattis, erat sit amet gravida malesuada, elit augue egestas diam, tempus scelerisque nunc nisl vitae libero. Sed consequat feugiat massa. Nunc porta, eros in eleifend varius, erat leo rutrum dui, non convallis lectus orci ut nibh. Sed lorem massa, nonummy quis, egestas id, condimentum at, nisl. Maecenas at nibh. Aliquam et augue at nunc pellentesque ullamcorper. Duis nisl nibh, laoreet suscipit, convallis ut, rutrum id, enim. Phasellus odio. Nulla nulla elit, molestie non, scelerisque at, vestibulum eu, nulla. Ut odio nisl, facilisis id, mollis et, scelerisque nec, enim. Aenean sem leo, pellentesque sit amet, scelerisque sit amet, vehicula pellentesque, sapien.

ANEXO B - CRAS NON URNA SED

Sed consequat tellus et tortor. Ut tempor laoreet quam. Nullam id wisi a libero tristique semper. Nullam nisl massa, rutrum ut, egestas semper, mollis id, leo. Nulla ac massa eu risus blandit mattis. Mauris ut nunc. In hac habitasse platea dictumst. Aliquam eget tortor. Quisque dapibus pede in erat. Nunc enim. In dui nulla, commodo at, consectetuer nec, malesuada nec, elit. Aliquam ornare tellus eu urna. Sed nec metus. Cum sociis natoque penatibus et magnis dis parturient montes, nascetur ridiculus mus. Pellentesque habitant morbi tristique senectus et netus et malesuada fames ac turpis egestas.

ANEXO C - FUSCE FACILISIS LACINIA DUI

Phasellus id magna. Duis malesuada interdum arcu. Integer metus. Morbi pulvinar pellentesque mi. Suspendisse sed est eu magna molestie egestas. Quisque mi lorem, pulvinar eget, egestas quis, luctus at, ante. Proin auctor vehicula purus. Fusce ac nisl aliquam ante hendrerit pellentesque. Class aptent taciti sociosqu ad litora torquent per conubia nostra, per inceptos hymenaeos. Morbi wisi. Etiam arcu mauris, facilisis sed, eleifend non, nonummy ut, pede. Cras ut lacus tempor metus mollis placerat. Vivamus eu tortor vel metus interdum malesuada.