



ciência desenvolvimento sociedade

## XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

20 a 24 de outubro - Campus do Vale - UFRGS



|                   |  |
|-------------------|--|
| <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>     | PESQUISA DE QUATRO GENES ASSOCIADOS À VIRULÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR POR PCR-RFLP DE CEPAS DE PASTEURELLA MULTOCIDA DE ORIGEM AVIÁRIA |
| <b>Autor</b>      | CAMILA NEVES DE ALMEIDA  |
| <b>Orientador</b> | HAMILTON LUIZ DE SOUZA MORAES  |

A Cólera Aviária (CA) causada pela bactéria *Pasteurella multocida* apresenta diferentes graus de manifestação clínica, possivelmente devido ao desequilíbrio da relação entre hospedeiro e bactéria, assim como pela presença de fatores de virulência que diferem os microrganismos. Além disto, isolados originários de surtos distintos podem ser caracterizados através de técnicas moleculares. As principais estruturas associadas à virulência em cepas de *P. multocida* são a cápsula e o lipopolissacarídeo (LPS). Entretanto, outros diversos fatores podem ser relacionados à capacidade do agente em infectar um hospedeiro. Alguns exemplos são os genes que codificam proteínas externas de membrana (*omph*; *oma87*, *ompA*), genes que codificam enzimas do metabolismo bacteriano, como sialidasas (*nanH*, *nanB*), dismutases (*sodA*, *sodC*) e proteínas associadas ao transporte e metabolismo do ferro (*hgbA*, *hgbB*, *exBD-tonB*). A superfície celular de bactérias Gram-negativas apresenta uma série de proteínas de membrana externa (OMPs) que são importantes para a interação com o hospedeiro, como a proteína OmpH. Os perfis de OMPs observados em *P. multocida* são variáveis e estas diferenças podem ser utilizadas em estudos de caracterização molecular. Entre as técnicas disponíveis, o PCR-RFLP é largamente utilizado para a análise do polimorfismo dentro de um segmento gênico. O objetivo deste trabalho foi pesquisar quatro genes de virulência (*oma87*, *hgbB*, *nanB*, *sodC*) em 56 isolados de CA provenientes da região sul do Brasil através do emprego de um protocolo de multiplex-PCR e caracterizar as cepas por PCR-RFLP a partir da análise do gene *ompH*. Uma alíquota com 1 mL de uma solução bacteriana em caldo cérebro-coração (*Brain Heart Infusion* - BHI) mantida em incubação a 37°C por 24 horas foi selecionada para extração do DNA bacteriano utilizando-se o kit comercial de extração NucleoSpin ®Tissue (Macherey Nagel®). O protocolo de multiplex-PCR utilizado foi elaborado em trabalhos anteriores. Para a caracterização molecular por PCR-RFLP, o produto de amplificação de aproximadamente 1000 pb do gene *ompH* foi digerido com 10 U da enzima de restrição *DraI*, de acordo com as condições recomendadas pelo fabricante (Invitrogen®). As bandas geradas na eletroforese em gel de agarose a 2 % corado com brometo de etídeo foram comparadas com um marcador de peso molecular de 100 pb. As cepas de *P. multocida* foram agrupadas de acordo com o padrão de clivagem observado. O gene *oma87* foi detectado em 100% (56/56) dos isolados, o gene *nanB* em 98,21% (55/56), o gene *sodC* em 96,43% (54/56) e o gene *hgbB* em 92,86% (52/56) das cepas. Como todas as cepas foram isoladas de casos clínicos de CA, possivelmente trata-se de amostras mais virulentas. Desta forma, esperava-se que as cepas apresentassem uma alta frequência entre todos os genes estudados. O PCR-RFLP permitiu a classificação dos isolados em sete grupos, sendo predominante o grupo II (42,11%). Apesar da alta variabilidade observada, as amostras foram classificadas em perfis que podem ser comparados em estudos de expressão gênica. Da mesma forma, o protocolo de PCR-RFLP foi capaz de caracterizar os isolados e consiste em uma alternativa na análise da diversidade das cepas em estudos de epidemiologia molecular.