



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2015
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Emprego de cartões FTA para o transporte de DNA bacteriano e pesquisa de genes de virulência em cepas de Pasteurella multocida de origem aviária isoladas nos Estados Unidos
<b>Autor</b>	CAMILA NEVES DE ALMEIDA
<b>Orientador</b>	HAMILTON LUIZ DE SOUZA MORAES

## **Emprego de cartões FTA para o transporte de DNA bacteriano e pesquisa de genes de virulência em cepas de *Pasteurella multocida* de origem aviária isoladas nos Estados Unidos**

**Autora: Camila Neves de Almeida**  
**Orientador: Hamilton Luiz de Souza Moraes**  
**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

A Cólera Aviária (CA) é uma doença causada pela bactéria gram-negativa *Pasteurella multocida* que ocorre geralmente de forma aguda e com altas taxas de mortalidade. A severidade dos casos clínicos é em parte justificada pela presença de fatores de virulência que diferem os microrganismos. As principais estruturas associadas à virulência e identificadas em cepas de *P. multocida* são a cápsula e o lipopolissacarídeo. Entretanto, outros diversos fatores podem ser relacionados à capacidade do agente em infectar um hospedeiro, assim como de sobreviver em um ambiente hostil. Exemplos são os genes que codificam estruturas como fímbrias e adesinas (*ptfA*, *pfhA*) ou proteínas externas de membrana (*oma87*). Também diferentes trabalhos identificaram e caracterizaram genes que codificam enzimas do metabolismo bacteriano, como sialidasas (*nanH*, *nanB*) ou dismutases (*sodA*, *sodC*), proteínas associadas ao transporte e ao metabolismo do ferro (*hgbA*, *hgbB*, *exBD-tonB*), além da exotoxina dermonecrótica (*toxA*). Os cartões FTA foram desenvolvidos para o transporte de amostras de DNA ou RNA que são posteriormente utilizadas em análises moleculares. Estes têm sido empregados para a coleta e transporte de amostras de alguns vírus e bactérias de interesse na área de sanidade avícola. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade e a segurança das amostras de DNA de *P. multocida* transportadas em cartões FTA e pesquisar a presença de 11 genes associados à virulência em 28 cepas isoladas de casos clínicos de CA nos Estados Unidos. Discos com 3 milímetros de diâmetro foram coletados dos cartões FTA e o DNA conservado das amostras foi extraído conforme a técnica recomendada pelo fabricante (*GE Healthcare*<sup>®</sup>). Em conjunto, um disco do cartão com a mesma dimensão, correspondente a cada cepa, foi coletado e transferido para um tubo contendo 10 mL de caldo BHI para incubação a 37°C por 24 horas. Posteriormente, os caldos foram semeados em Ágar Sangue e Ágar *MacConkey* a fim de se pesquisar a presença de *P. multocida*. A partir do DNA extraído, um protocolo de PCR espécie específico para amplificação do gene *kmt* foi empregado a fim de avaliar a viabilidade do transporte através do cartão FTA. Os protocolos de multiplex-PCR utilizados para a detecção dos genes foram elaborados conforme trabalhos anteriores desenvolvidos no laboratório. Não houve o crescimento de *P. multocida* em nenhuma das amostras coletadas para análise microbiológica. Foi possível a extração e confirmação da presença do DNA de *P. multocida* em 96,43% (27/28) das amostras coletadas. Entre os genes de virulência pesquisados, *ptfA*, *exbd-tonB*, *hgbA*, *nanB* e *oma87* foram detectados em 100% (27/27) das cepas. Os genes *sodC* e *hgbB* em 96,29% (26/27), *sodA* em 92,59% (25/27), *nanH* em 85,18% (23/27) e *pfhA* em 81,48% (22/27). O gene *toxA* não foi identificado em nenhuma das cepas pesquisadas. A partir dos resultados obtidos, os cartões FTA demonstram ser uma ferramenta viável e segura para o transporte do DNA de *P. multocida*. Da mesma forma, a maioria dos genes pesquisados apresentou uma alta frequência, compatível com isolados obtidos de casos clínicos de CA e provavelmente mais virulentos.