

A bactéria *Pasteurella multocida* é o agente etiológico da Cólera Aviária (CA), doença que afeta aves domésticas em todo o mundo e se manifesta tanto de forma aguda, quanto crônica, com infecções localizadas nas barbelas, seios nasais, articulações, ovários e outros tecidos. A forma aguda é mais comum, e gera altos índices de morbidade e de mortalidade. Apesar da importância da doença, a patogenia e os fatores de virulência envolvidos na CA ainda estão pouco esclarecidos. O difícil isolamento da *P. multocida* a partir de regiões normalmente contaminadas, associado ao período necessário para obtenção de subcultivos puros motivaram o desenvolvimento de novas metodologias. Desta forma, o emprego da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para a detecção de *P. multocida* representou um importante avanço, tanto para o diagnóstico em casos suspeitos de CA, quanto para a pesquisa de genes associados à patogenia da doença. Alguns estudos têm sido desenvolvidos para identificação destes genes, mas sua frequência em diferentes hospedeiros ainda é pouco conhecida. O objetivo deste trabalho foi pesquisar quatro genes associados à virulência através do desenvolvimento de um protocolo de multiplex-PCR. Foram utilizadas 25 amostras de *P. multocida* isoladas de casos de CA. O protocolo para pesquisa dos genes de virulência foi estabelecido a partir de trabalhos anteriores. Inicialmente, as amostras foram reativadas e avaliadas através da morfologia e de testes bioquímicos comumente utilizados no isolamento da bactéria. Todas as amostras também foram classificadas como *P. multocida* através de um protocolo de PCR espécie-específica previamente estabelecido no laboratório, a partir da amplificação de um fragmento de 460pb do gene *kmt*. Para cada reação de amplificação, foi preparado um mix de reagentes composto por água ultrapura, solução tampão, desoxirribonucleotídeos trifosfatados (dNTPs), um par de primers específicos para cada gene, cloreto de magnésio ($MgCl_2$) e a enzima Taq DNA-Polimerase. Cepas de referência foram utilizadas como controle negativo e controle positivo da reação. O gene *hgbA* esteve presente em 100% das amostras isoladas de CA (25/25). O gene *sodA* em 96% (24/25), o gene *ptfA* em 92% (23/25) e o gene *pfhA* em 60% (15/25). Com este trabalho, concluiu-se que o protocolo de multiplex-PCR desenvolvido torna-se uma ferramenta bastante útil e rápida para a detecção simultânea dos genes de virulência propostos. Este trabalho está inserido em uma importante linha de pesquisa do grupo que avalia o potencial patogênico de uma amostra de *P. multocida* a partir da associação de diferentes parâmetros (genes de virulência, testes bioquímicos, resistência antimicrobiana e índice de patogenicidade).