



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Genotipificação de <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> através de ERIC-PCR
Autor	CINTIA SIMONI
Orientador	SERGIO CERONI DA SILVA

O *Actinobacillus pleuropneumoniae* é o agente da pleuropneumonia suína, doença infecto-contagiosa amplamente distribuída no rebanho suíno mundial e de importância econômica significativa, podendo afetar suínos susceptíveis de várias idades. O agente possui 15 sorotipos conhecidos, os quais podem apresentar reações cruzadas em testes diagnósticos, dificultando a sorotipificação. A determinação do sorotipo de ocorrência em um dado surto e/ou região é importante na promoção da profilaxia, mas não é a única exigência para um efetivo controle. Em razão da diversidade genética e das diferenças na virulência entre as amostras, mesmo em amostras de um mesmo sorotipo, é necessário o desenvolvimento de métodos que possam diferenciar as amostras isoladas a campo em diferentes surtos da doença.

O objetivo deste trabalho é o de desenvolver e padronizar técnicas de biologia molecular, visando a genotipificação de isolados de *A. pleuropneumoniae*. Dentre as técnicas disponíveis, a técnica ERIC-PCR é uma das mais promissoras. O padrão de *amplicons* gerado pela técnica também permite minuciosa análise filogenética das amostras isoladas de campo. Assim, a genotipificação dos isolados de campo, juntamente com análises filogenéticas, será capaz de aprimorar o estudo epidemiológico do agente no nosso meio e superar as dificuldades hoje encontradas pela sorotipificação.

O método ERIC-PCR é baseado na amplificação de sequências de consenso presentes em elemento palindrômicos repetitivos (ERIC – *enterobacterial repetitive intragenic consensus*). Essas sequências são altamente conservadas e inespecíficas, permitindo a diferenciação das cepas, inclusive em amostras de mesmo sorotipo. Os experimentos indicam boa reprodutibilidade entre amostras em duplicata e distinção efetiva dos diferentes sorotipos e amostras de campo. Através da análise filogenética realizada, todas as amostras testadas puderam ser identificadas e caracterizadas individualmente, podendo ser agrupadas em sub-populações filogeneticamente relacionadas.

A partir dos resultados obtidos até o momento, é possível realizar estudos epidemiológicos mais detalhados do agente no nosso meio. Porém, outros métodos devem ser pesquisados e padronizados na continuidade para auxiliar a sorotipificação e a genotipificação do agente. Entre eles podemos citar a identificação dos genes que codificam para as toxinas Apx (*Actinobacillus pleuropneumoniae* RTX toxins) e as técnicas RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) e AFLP (*amplified fragment length polymorphism*). As técnicas RFLP e AFLP são métodos adicionais de genotipagem que possibilitam a análise de produtos de clivagem por endonucleases de restrição, devendo ser comparados ao método ERIC quanto à sua eficácia, sensibilidade e reprodutibilidade, podendo substituir o método ERIC na diferenciação das amostras isoladas. A identificação das toxinas Apx auxiliaria na sorotipificação e no entendimento da virulência dos isolados, visto que as toxinas Apx são o fator de maior patogenicidade do agente. Todos os métodos devem ser capazes de contribuir para o estudo epidemiológico do agente e para a implantação de protocolos de profilaxia e controle da pleuropneumonia suína.