

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

Camila Neves de Almeida ¹, Hamilton Luiz de Souza Moraes ²

¹ Graduanda em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
² Professor adjunto, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

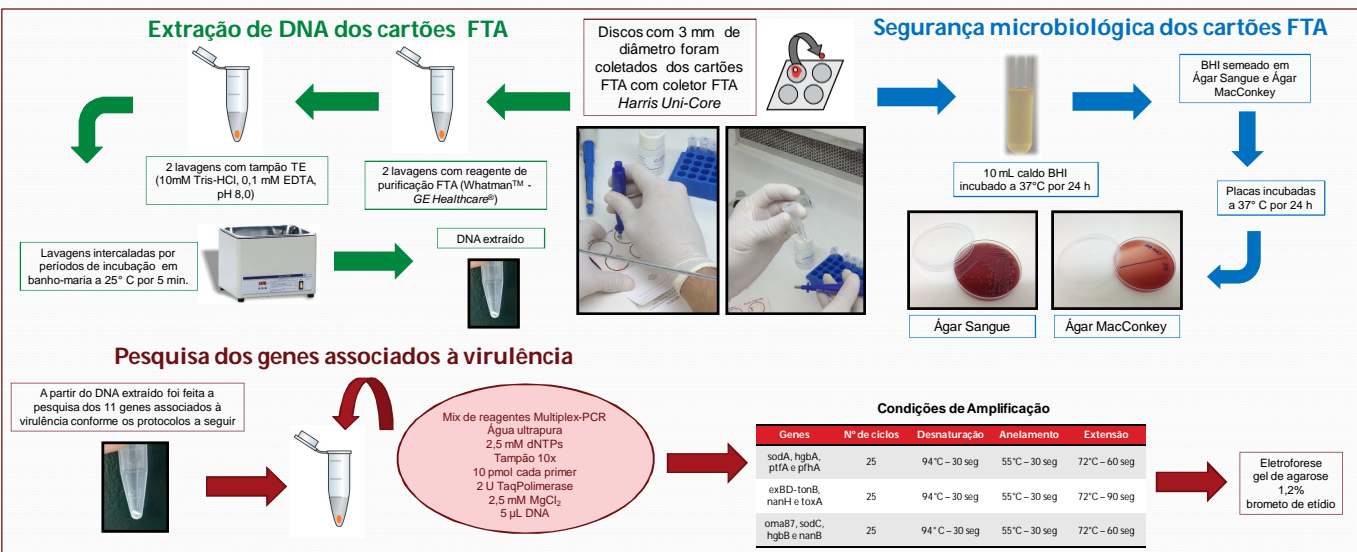
INTRODUÇÃO

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 dos microrganismos. As principais estruturas associadas à virulência em cepas de *P. multocida* são a cápsula e o lipopolissacarídeo (HARPER *et al.*, 2006). 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*, *ptfA*) ou proteínas externas de membrana (*oma87*). Também diferentes trabalhos identificaram e caracterizaram genes que codificam enzimas do metabolismo bacteriano, como sialidases (*nanH*, *nanB*) ou dismutases (*sodA*, *sodC*), proteínas associadas ao transporte e ao metabolismo do ferro (*hgbA*, *hgbB*, *exBD-tonB*), além da exotoxina dermonecrótica (*toxA*) (EWERS *et al.*, 2006; BETHE *et al.*, 2009). Os cartões FTA foram desenvolvidos para o transporte de amostras de DNA ou RNA que são posteriormente utilizadas em análises moleculares (PULIDO-LANDÍNEZ *et al.*, 2012). Estes têm sido empregados para a coleta e transporte de amostras de alguns vírus e bactérias de interesse na área de sanidade avícola.

OBJETIVO

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.

MATERIAIS E MÉTODOS



RESULTADOS

- Extração e confirmação da presença de DNA de *P. multocida* em 96,43% (27/28) amostras coletadas.
- Não houve o crescimento de *P. multocida* em nenhuma das amostras coletadas para análise da segurança microbiológica dos cartões FTA.

Tabela 1: Frequência absoluta e relativa dos 11 genes de virulência detectados por multiplex-PCR nas 27 cepas de *P. multocida*.

Genes associados à virulência	Número de cepas positivas (total=27)	Frequência relativa (%)
<i>ptfA</i> , <i>exBD-tonB</i> , <i>hgbB</i> , <i>nanB</i> e <i>oma87</i>	27	100%
<i>sodC</i> e <i>hgbB</i>	26	96,29%
<i>sodA</i>	25	92,59%
<i>nanH</i>	23	85,18%
<i>ptfA</i>	22	81,48%
<i>toxA</i>	0	0

DISCUSSÃO

Os cartões FTA têm sido uma alternativa no transporte de ácidos nucleicos (DNA e RNA) sem risco biológico. Entretanto, pouco se sabe sobre eficiência em transportar *P. multocida* utilizando os cartões, de forma segura e com qualidade. Os resultados obtidos quanto a qualidade dos cartões FTA são similares ao trabalho de Pulido-Landínez *et al.* (2012) que utilizou cepas de *Salmonella* entérica para o transporte entre países. Ainda são poucos os trabalhos que têm como objetivo a detecção, a determinação da frequência e de padrões genéticos de virulência da *P. multocida* (EWERS *et al.*, 2006; BETHE *et al.*, 2009; TANG *et al.*, 2009). Os resultados obtidos na detecção dos genes de virulência foram semelhantes aos observados em outros estudos citados na literatura (DAVIES *et al.*, 2004; EWERS *et al.*, 2006; BETHE *et al.*, 2009).

CONCLUSÃO

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.

REFERÊNCIAS

- BETHE, A. *et al.* Genetic diversity of porcine *Pasteurella multocida* strains from the respiratory tract of healthy and diseased swine. *Veterinary Microbiology*, v. 139, p. 97-105, out. 2009.
- DAVIES, R. L.; MACCORQUODALE, R.; REILLY, S. Characterization of bovine strains of *Pasteurella multocida* and comparison with isolates of avian, ovine and porcine origin. *Veterinary Microbiology*, v. 99, 2004, p. 145-158.
- EWERS, M. *et al.* Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Veterinary Microbiology*, v. 114, p. 304-317, já. 2006.
- HARPER, M.; BOYCE, J. D.; ADLER, B. *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS Microbiology Letters*, Malden, EUA, v. 265, p. 1-10, dez. 2006.
- PULIDO-LANDÍNEZ, M. *et al.* Uso dos cartões FTA para o transporte de amostras de DNA de *Salmonella* spp. isoladas de produtos avícolas do Sul do Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*, p. 1-7, 2012.
- TANG, X. *et al.* Isolation, Antimicrobial Resistance, and Virulence Genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in Cinha. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 47, n. 4, p. 951-958, abr. 2009.