

Identificação genética da cepa vacinal MS-H e de amostras de campo de *Mycoplasma synoviae* de lotes de aves comerciais do Brasil

CORREA, M.V.S.^{1,2}; FRAGA, A.P.³; MARQUES, E.K.³; IKUTA, N.³; LUNGE, V.R.^{3*}.

¹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil. ² Bolsista PROBITI – FAPERGS.

³ Professores e Pesquisadores do Laboratório de Diagnóstico Molecular da ULBRA. *Professor-orientador.

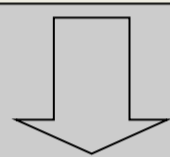
INTRODUÇÃO E OBJETIVO

Mycoplasma synoviae (MS) é uma bactéria patogênica para aves. As agroindústrias avícolas possuem programas de biossegurança com monitoramento laboratorial para manutenção dos lotes livres de MS. Eventuais episódios de disseminação podem ocorrer e trazem prejuízos importantes para toda a cadeia produtiva. A imunização com cepas vivas é o recurso veterinário neste tipo de situação e uma vacina comercial com uso da cepa MS-H (Mycovax®, Merial Brasil) tem sido crescentemente utilizada. Entretanto existe uma dificuldade técnica no acompanhamento laboratorial da efetividade dos programas de vacinação, pois as técnicas atuais não possibilitam identificar a cepa MS-H nos lotes vacinados. O presente estudo objetivou realizar a análise da região polimórfica do gene *vlhA* da cepa vacinal MS-H e amostras de campo de MS encontradas em lotes de aves comerciais do Brasil usando a técnica de reação em cadeia da polimerase com subsequente digestão com enzimas de restrição (PCR-RFLP).

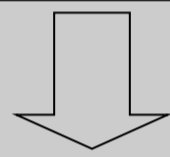


MATERIAIS E MÉTODOS

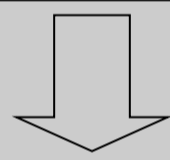
Obtenção da vacina MS-H e amostras de campo de MS (Tabela)



Extração de DNA e amplificação por PCR do gene *vlhA*



Digestão com enzimas de restrição (*RsaI* e *AluI*)



Avaliação por eletroforese em gel de poliacrilamida

Tabela. Amostras de MS, tamanho do fragmento e seus padrões de restrição

Cepa	Amostra	Ano	Estado	Tamanho do Amplicon (nt)	Grupo	Padrão <i>Rsa I</i>	Padrão <i>Alu I</i>
ID-5672	Trachea swab	2010	GO	342	A	R1	A1
ID-5785	Trachea swab	2010	GO	342	A	R1	A2
ID-5786	Trachea swab	2010	GO	342	A	R1	A2
MS BR 1	Culture	—	BRASIL	342	A	R1	A2
MS BR 4	Culture	—	BRASIL	342	A	R1	A2
MS BR 5	Culture	—	BRASIL	342	A	R1	A2
MS 13	DNA	1999	EUA	363	B	R2	A3
ID-4647	Trachea swab	2010	GO	324	C	R3	A4
SB-4706	Trachea	2010	SP	324	C	R3	A4
ID-4671	Trachea swab	2010	GO	324	C	R3	A5
SB-6657	Trachea swab	2011	RS	324	C	R3	A5
SB-4904	Trachea	2010	AL	324	C	R5	A5
SB-0819	Trachea	2010	SP	324	C	R4	A5
SB-5997	Trachea swab	2010	RS	324	C	R5	A5
MS 14	DNA	1999	EUA	324	C	R3	A6
MS BR 6	Culture	—	BRASIL	324	C	R3	A7
SB-6661	Trachea swab	2011	SP	324	C	R3	A7
SB-0665	Trachea	2010	CE	324	C	R3	A7
SB-4663	Trachea swab	2010	GO	324	C	R3	A7
MS-H	Vacina	1999	—	297	C	R5	A8
SB-5999	Trachea swab	2010	RS	324	C	R5	A9
ID-4646	Trachea swab	2010	GO	297	D	R6	A10
SB-0817	Trachea	2010	SP	285	D	R6	A10
SB-4534	Trachea	2010	SP	297	D	R6	A10
SB-4749	Trachea	2010	PR	297	D	R6	A10
SB-6061	Trachea swab	2010	GO	297	D	R6	A10
MS BR 3	Culture	—	BRASIL	297	D	R6	A10
MS BR 10	Culture	—	BRASIL	297	D	R6	A10
MS BR 2	Culture	—	BRASIL	297	D	R7	A10
MS 6	DNA	2000	EUA	285	E	R8	A11
MS 9	DNA	1999	EUA	285	E	R8	A11
MS 10	DNA	1999	EUA	285	E	R8	A11
MS 11	DNA	1999	EUA	285	E	R8	A11
MS 7	DNA	2000	EUA	285	E	R8	A12
MS 8	DNA	1999	EUA	285	E	R8	A12
MS 12	DNA	1999	EUA	285	E	R8	A12
MS BR 7	Culture	—	BRASIL	285	E	R8	A12
MS BR 9	Culture	—	BRASIL	285	E	R8	A12
SB-3850	Trachea	2010	CE	285	E	R8	A12
SB-5260	Trachea	2010	CE	285	E	R8	A12
SB-5565	Trachea	2010	CE	285	E	R8	A12
SB-6019	Trachea	2010	CE	285	E	R8	A12
SB-6429	Trachea	2010	CE	285	E	R8	A12
SB-0552	Trachea	2010	DF	285	E	R8	A13
MS BR 8	Culture	—	BRASIL	336	F	R9	A14
SB-5174	Trachea swab	2010	SP	336	F	R9	A14
SB-282	Trachea swab	2010	SP	336	F	R9	A14
SB-5172	Trachea swab	2010	SP	336	F	R9	A14
SB-5175	Trachea swab	2010	SP	324	F	R9	A14
SB-5179	Trachea swab	2010	SP	336	F	R9	A14
SB-5567	Trachea swab	2010	SP	336	F	R9	A14
SB-5569	Trachea swab	2010	SP	336	F	R9	A14
SB-5653	Trachea swab	2010	RS	332	G	R10	A15
SB-5654	Trachea swab	2010	RS	332	G	R10	A15

RESULTADOS

Os resultados obtidos demonstraram a ocorrência de um grande número de padrões de restrição (10 para *Rsa I* e 15 para *Alu I*). Verificou-se que a cepa MS-H apresentou um padrão bastante característico, sendo comum a apenas duas amostras de campo com o uso de *Rsa I* e a **nenhuma** outra amostra (de cultura ou de campo) com a enzima *Alu I*.

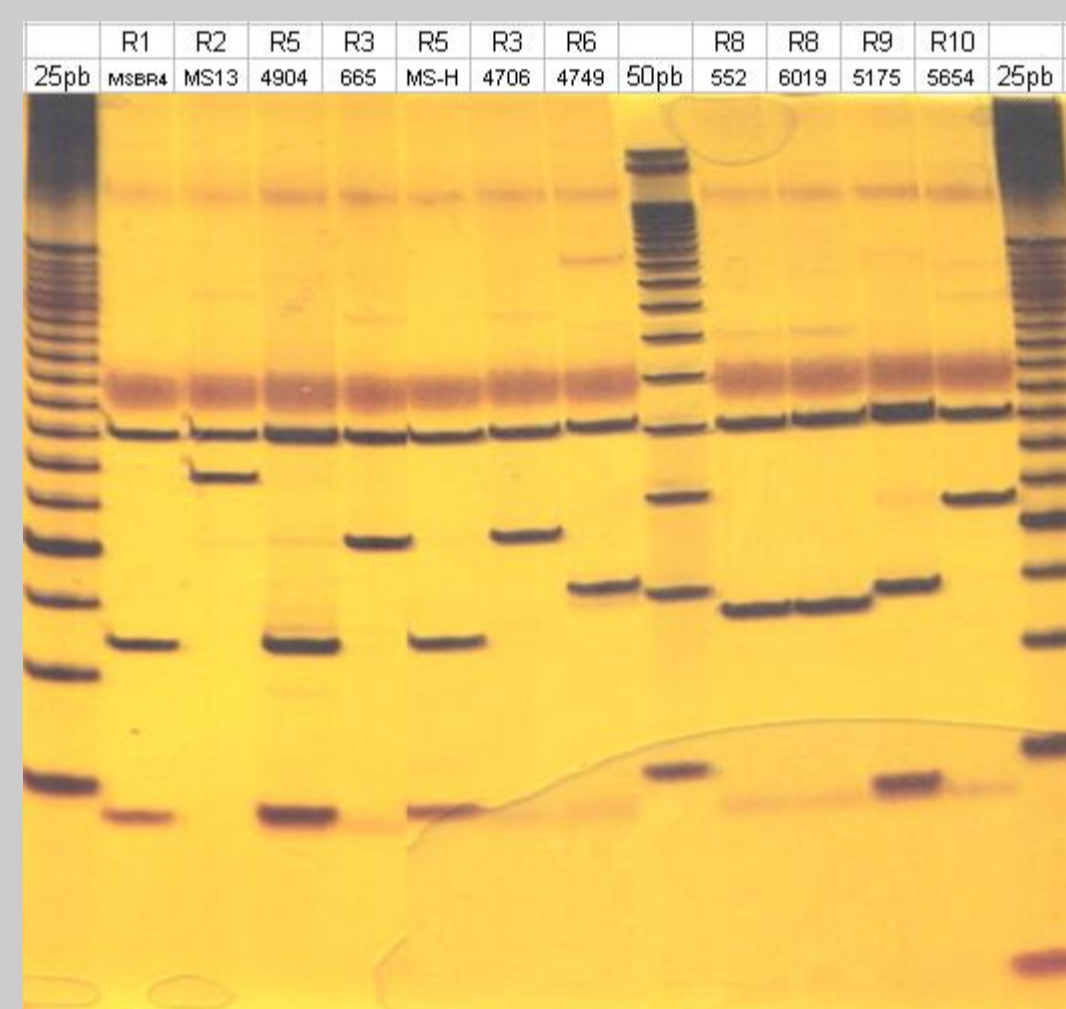


Figura 1. Polimorfismo pelo tamanho dos fragmentos de restrição observado após digestão com a enzima *Rsa I*.

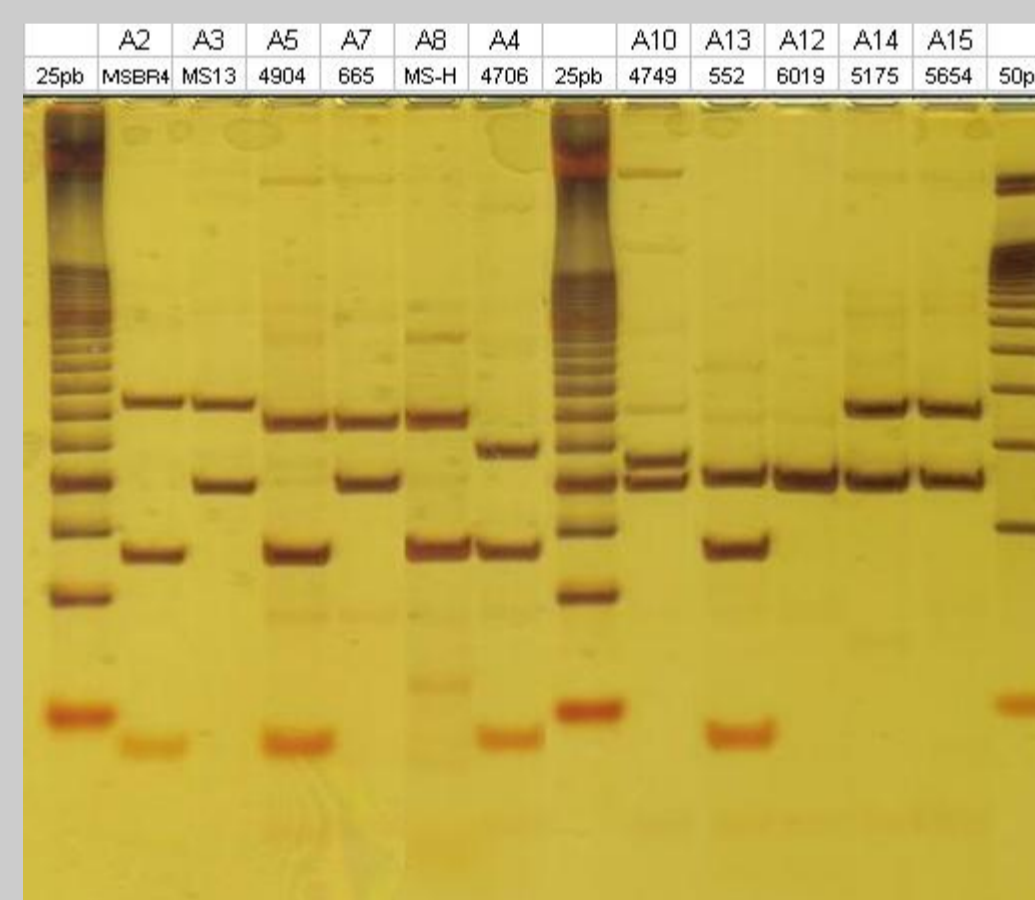


Figura 2. Polimorfismo pelo tamanho dos fragmentos de restrição observado após digestão com a enzima *Alu I*.

CONCLUSÕES

- A técnica de PCR-RFLP do gene *vlhA* possibilita a diferenciação molecular de amostras de MS.
- Esta técnica pode ser utilizada para a identificação da cepa MS-H.
- Novos estudos devem ser realizados para avaliar o uso desta técnica no monitoramento de programas de vacinação.