Anais do ABRAVES 2013

Boas Vindas

Congresso Abraves

Fórum Suinocultura

Feira Tecnológica

Comissões

Palestrantes

Temas e Subtemas

Trabalhos Científicos

Programação Científica

Programação Fórum

Patrocinadores

Fale Conosco



Trabalhos Científicos

PERFIL MOLECULAR DE ISOLADOS DE PASTEURELLA MULTOCIDA TIPO A PROVENIENTES DE LESÕES PNEUMÔNICAS EM SUÍNOS

Autores

KLEIN, CS - Catia Silene Klein - Embrapa Suínos e Aves

Rebelatto, R - Raquel Rebelatto - Embrapa Suínos e Aves

Oliveira Filho, JX - João Xavier de Oliveira Filho - PPG Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Bellaver, FAV - Franciana Aparecida Volpatto Bellaver - Embrapa Suínos e Aves Morés, MAZ - Marcos Antônio Zanella Morés - Embrapa Suínos e Aves

Servelin, EC - Emanueli Carla Servelin - Fundação Universidade do Contestado (FUNC)

Silva. GB - Gilnei Bruno da Silva - Fundação Universidade do Contestado (FUNC)

Morés, N - Nelson Morés - Embrapa Suínos e Aves

Tema

1 - Saúde Suína

Modalidade de Aprovação:

Arquivo do e-pôster:

[abrir]

INTRODUÇÃO: no Brasil, o isolamento bacteriológico (IBT) de Pasteurella multocida A de suínos com problemas respiratórios é elevado [4]. Este patógeno, considerado um oportunista [5], vem sendo associado com lesões pulmonares necróticas e hemorrágicas, observadas tanto em surtos de campo como em condições experimentais [3, 4]. Estudos moleculares podem trazer informações importantes sobre o possível papel de amostras de P. multocida A na patogênese de lesões pneumônicas. O objetivo deste trabalho é fazer a caracterização molecular para genes espécie-específica, de tipagem capsular e de virulência de isolados de P. multocida A obtidos de suínos de terminação de oito estados brasileiros.

MATERIAIS E MÉTODOS: foram analisadas 156 amostras de DNA obtidas de isolados de P. multocida A, provenientes de pulmões de suínos com pneumonia, coletados em granjas e em lotes de frigoríficos. Os IBT foram realizados em 2011 e 2012, nos estados de MG (41), RS (38), SP (18), SC (17), MT (14), PR (14), MS (11) e GO (3). A extração de DNA dos isolados foi realizada por choque térmico e o DNA extraído foi utilizado para realização de 2 PCRs multiplex. Uma PCR foi utilizada para detecção dos genes de tipagem capsular hyaD-hyaC (tipagem capsular A), dcbF (D), fcbD (F) e do gene kmt1 (espécie-específica) [6] com pequenas modificações e outra PCR foi utilizada para detecção dos genes de virulência toxA (toxina dermonecrótica), tbpA (proteína de ligação da hemoglobina) e hgbB (mecanismos de aquisição de ferro) e pfhA (hemaglutinina filamentosa - fator de adesão bacteriana) [1]. Para confirmar a especificidade das técnicas, o DNA de um fragmento amplificado de cada gene foi sequenciado. As sequências obtidas foram submetidas à análise no banco de dados Genbank, utilizando a ferramenta BLAST.

RESULTADOS: na PCR multiplex para detecção dos genes espécie-específica e de tipagem capsular, 100% das amostras (156) foram positivas para o gene espécie-específica kmt1, 94,2% para tipagem capsular A (147/156), 5,8% para tipagem capsular D (9/156) e nenhuma amostra positiva para tipagem capsular F (0/156). As amostras positivas para tipagem capsular A, pertencem aos estados de MG (37), RS (36), SP (18), SC (17), PR (13), MT (13), MS (10) e GO (3) e as amostras positivas para tipagem capsular D aos estados de MG (5), RS (2), MT (1) e MS (1). Na PCR multiplex para detecção de fatores de virulência, 31,4% das amostras foram positivas para pfhA (49/156), 82,7% foram positivas para hgbB (129/156) e a associação positiva (presença de ambos os genes na mesma amostra) para estes genes foi de apenas 14%, com forte associação negativa (presença de um ou de outro gene na mesma amostra) entre eles de 86%. Nenhuma (0/156) das amostras apresentou resultado positivo para os genes toxA e tbpA. As amostras positivas para o gene pfhA pertencem aos estados do RS (18), MG (14), SC (6), MT (3) e GO/PR/MS/SP (2 isolados cada) e as amostras positivas para o gene

28/11/2013 16:38 1 de 3

hgbB pertencem aos estados de MG (38), RS (22), SP (18), MT (14), SC (13), PR (13), MS (9) e GO (2). As sequências obtidas no sequenciador 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) apresentaram compatibilidade com os genes em estudo, quando analisadas no Genbank.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO: os resultados mostram que todos os isolados em estudo correspondem a P. multocida e que o sorotipo capsular A é predominante. Em relação aos genes associados com a virulência, na maioria dos isolados detectamos a presença do gene hgbB, de acordo com o esperado. A alta prevalência de genes de aquisição de ferro, como importante fator de virulência, em P. multocida, bem como seu papel crucial na patogênese, sugere fortemente o uso destes isolados como atraentes candidatos para o desenvolvimento de vacinas [2]. Apesar destes isolados serem provenientes de lesões pneumônicas, não detectamos a presença do gene tbpA, que é relacionado como um importante fator de virulência em amostras provenientes de septicemia hemorrágica em bovinos [2], tampouco do gene toxA relacionado com lesões necróticas ocasionadas pela toxina dermonecrótica. Em concordância com Ewers [2], encontramos resultados similares quanto à presença de pfhA, relacionado à presença de hemaglutinina como um provável e importante fator de adesão bacteriana no trato respiratório. Entretanto, nossos achados diferem de Ewers [2] em relação à presença do gene toxA. Assim, estudos experimentais de patogenicidade em suínos, utilizando isolados positivos para diferentes genes de virulência, serão necessários para entender se tais fatores influenciam na sua patogenicidade, bem como a importância do uso destes genes como marcadores em estudos epidemiológicos. Conclui-se que o sorotipo capsular A é predominante nas lesões pneumônicas causadas por P. multocida em suínos e que os isolados apresentam diferenças em relação aos genes de virulência estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: 1. Atashpaz, S. et al. Rapid virulence typing of Pasteurella multocida by multiplex PCR. Res. Vet. Sci., v.87, p. 355-7, 2009. 2. Ewers, C. et al. Virulence genotype of Pasteurella multocida strains isolated from different hosts with various disease status. Vet. Microbiol., v. 114, 304–317. 2006. 3. Kich, J.D. et al. Pasteurella multocida tipo A atuaria como agente primário nos processos pneumônicos dos suínos? Comunicado técnico n. 469, Embrapa Suínos e Aves: Concórdia, 2007, 7p. 4. Mores, M.A.Z. Anatomopatologia e bacteriologia de lesões pulmonares responsáveis por condenações de carcaças em suínos. Curitiba, p. 91, 2006. [Dissertação PPG em Ciências Veterinárias-UFPR]. 5. Register, K.B. et al. Pasteurellosis. In: Zimmerman, J. et al. Diseases of Swine. 10 ed. Ames-USA: Wiley-Blackwell, 2012. P. 798-810. 6. Towsend, K.M. et al. Genetic Organization of Pasteurella multocida cap Loci and Development of a Multiplex Capsular PCR Typing System. Australia: J. Clin. Microb., v.39, p.924-9. 2001.

Palavras-chave: Pasteurella multocida, PCR multiplex, suínos.

Voltar para a listagem de Resumos

Promoção:



Realização:



Organização:



R. Américo Salgado, 727-Quilombo, Cuiabá-MT CEP: 78.043-420 Tel: (65) 3621-1314 | Faça contato aqui! |

Agência Oficial:



Patrocinadores (Maternidade)









Patrocinadores (Terminação)









Patrocinadores (Crescimento)



Apoio Institucional



























2 de 3 28/11/2013 16:38

Desenvolvido por Zanda Multimeios da Informação

3 de 3