

Débora Rocha e Fabiana Horn

Departamento de Biofísica – Instituto de Biociências – UFRGS
(debora_rocha@msn.com)

INTRODUÇÃO

Escherichia coli patogênicas extra-intestinais (ExPEC) causam infecções do trato urinário, meningite neonatal e septicemia em humanos. ExPEC também incluem *Escherichia coli* patogênicas aviárias (APEC), causadoras de infecções extra-intestinais, denominadas colibacilose, em aves domésticas e selvagens.

Possuímos uma coleção de 144 isolados APEC obtidos de lesões de celulite aviária provenientes do Paraná. Esses isolados já foram caracterizados quanto à presença de 34 genes associados à virulência, à tipagem filogenética do grupo ECOR e à virulência *in vivo* em pintos de 1 dia (Índice de Patogenicidade).

OBJETIVO

Testar a PCR Pentaplex proposta por Johnson *et al.* (J. Clin. Microbiol., 2008, 46:3987) em nossa coleção para verificar se os cinco genes - *iroN*, *iutA* (sideróforos), *iss* (protectina), *ompT* (proteína de membrana externa) e *hlyF* (hemolisina putativa) – serão mesmo indicativos da patogenicidade, como foi afirmado.

METODOLOGIA



Fig 1. Esquema dos materiais e métodos utilizados nos experimentos

Condições da PCR:

Foram realizados 25 ciclos:

- 2,5 minutos a 94 °C.
- 30 segundos a 63 °C.
- 2 minutos a 68 °C.
- Com ciclo final de 10 minutos a 72 °C.

RESULTADOS

Até o momento, foi realizada a extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase Pentaplex em duplicata para 135 isolados APEC provenientes do Paraná.

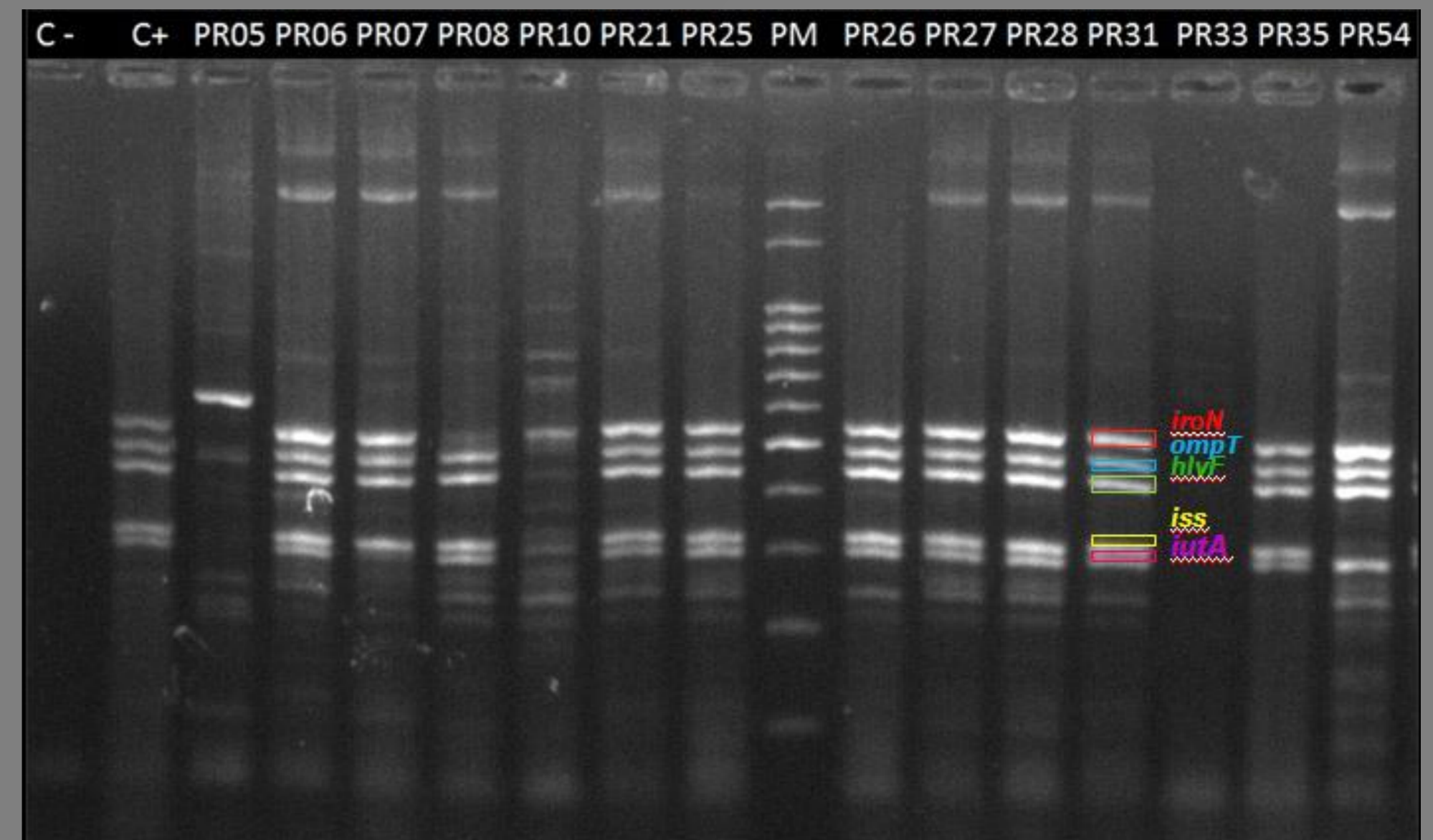


Fig. 2. Padrão de migração dos cinco genes submetidos a eletroforese em gel de agarose

► A maioria das cepas apresentou perfil semelhante ao da PR31, demonstrando a presença dos 5 genes (Fig. 2).

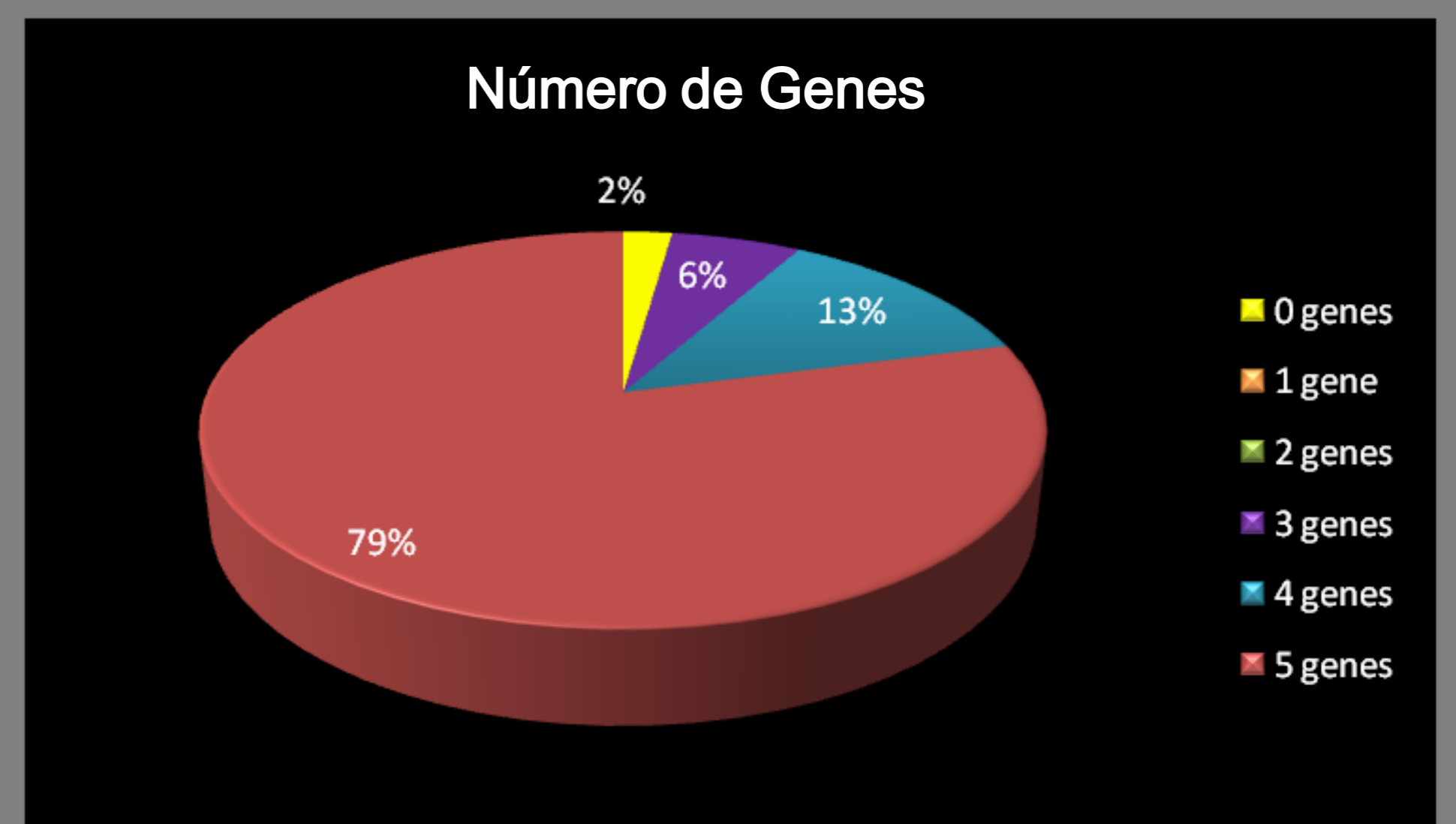


Fig. 3. Percentagem de cepas que apresentam de 0 a 5 genes

► 79% dos 135 isolados apresentaram 5 genes, 13% apresentaram 4 genes e 6% possuem 3 genes. 2% não apresentam nenhum dos genes e nenhuma cepa apresentou 1 ou 2 genes de virulência.

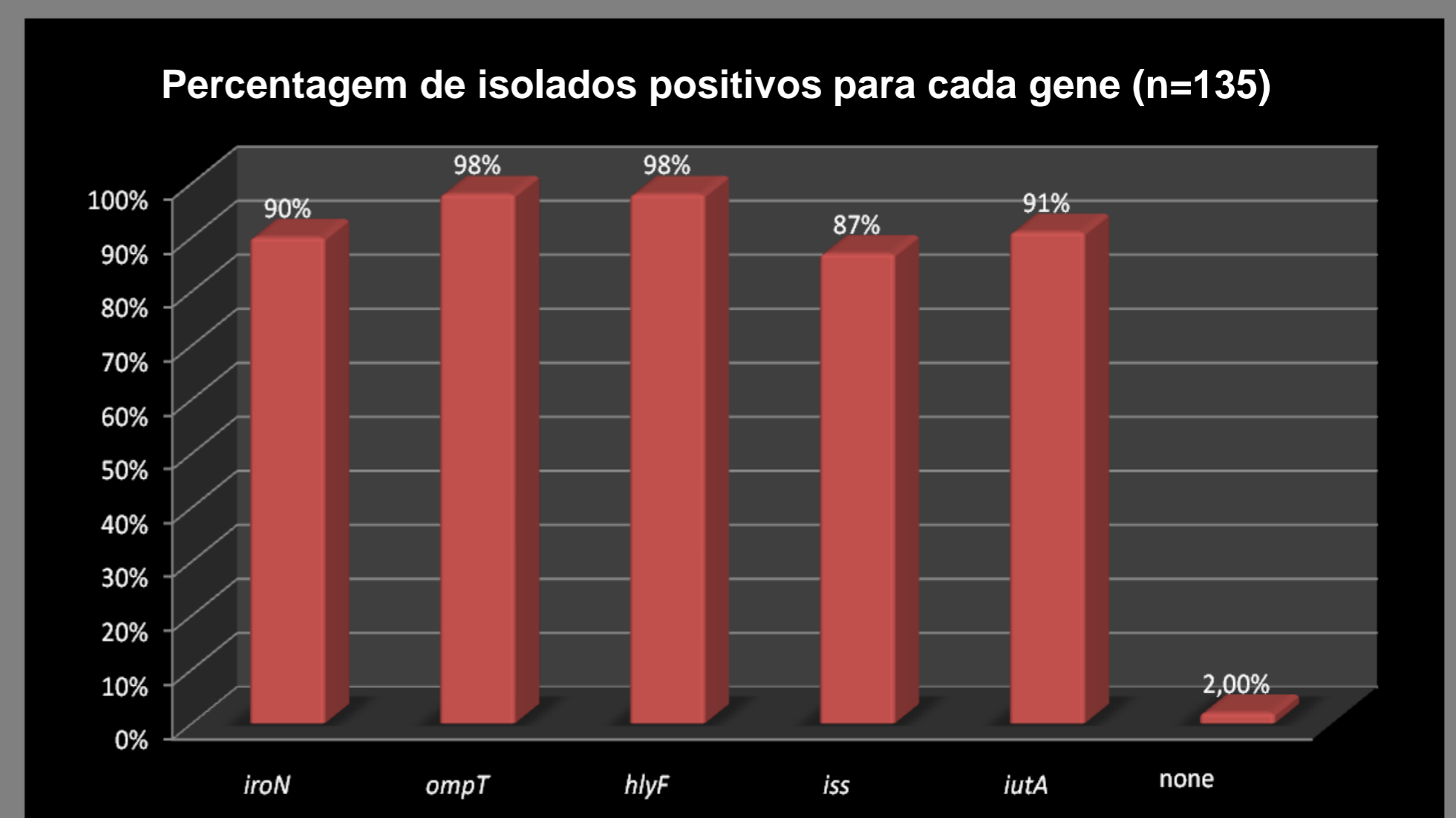


Fig. 4. Relação da percentagem de cepas positivas para cada gene

► Os genes *ompT* e *hlyF* são os mais comuns entre os 5 genes para os 135 isolados testados, *iroN* e *iutA* estão presentes em 90% e 91%, respectivamente, e *iss* tem 87%.

CONCLUSÃO

Esses resultados reforçam a hipótese de que o Pentaplex é uma ferramenta capaz de identificar cepas APEC, ainda que a reação deva ser realizada com cepas não patogênicas para ser validada como ferramenta de diagnóstico.

Entretanto, quando fizemos uma análise estatística para relacionar a presença desses genes com o Índice de Patogenicidade das cepas, não encontramos valores significativos ($p > 0,05$ Kruskal Wallis – Square Chi), o que indica que o Pentaplex não é capaz de distinguir cepas de alta, média ou baixa virulência.