

Microbiologia

Caracterização genética de cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* pertencentes à coleção de microrganismos patogênicos a caprinos e ovinos

Sousa, Nirilir Plácido^{1*}; Monteiro, Jomar Patrício²; Faccioli-Martins, Patrícia Yoshida³

Corynebacterium pseudotuberculosis é o agente causador da Linfadenite Caseosa (LC), uma doença muito contagiosa, crônica que afeta os ovinos e os caprinos. A LC causa muito transtornos aos produtores, devido não apenas à patogenicidade da infecção bacteriana que leva a formação de abscessos em linfonodos superficiais, internos e em órgãos, como também a sua facilidade de disseminar para todo o rebanho. *C. pseudotuberculosis* é uma bactéria gram-positiva, que possui dois biovars, *Equi* e *Ovis*. Essa classificação é dependente da sua capacidade ou não de reduzir o nitrato em nitrito. Além disso, essa classificação distingue o tipo de hospedeiro de origem (equinos ou pequenos ruminantes) e também aponta a forma de como o patógeno sobrevive no meio ambiente. Portanto, é importante que na rotina de um laboratório, as bactérias sejam isoladas, caracterizadas e identificadas por aspectos morfológicos e bioquímicos. Desde 2014 a Embrapa Caprinos e Ovinos possui uma coleção de *C. pseudotuberculosis*, que contabiliza mais de 200 isolados de campo. Nos testes bioquímicos utilizados para a caracterização da espécie, alguns isolados apresentaram resultados variáveis para a redução do nitrato. Dessa forma, foi necessário inserir na rotina da coleção, além da utilização dos métodos fenotípicos, a identificação e caracterização genética, na qual a confirmação da espécie e do biovar é realizada pela técnica de reação em cadeia da polimerase quadruplex (PCR quadruplex). O objetivo foi determinar o perfil de 100 cepas da coleção quanto suas características fenotípicas e genotípicas para a redução do nitrato e verificar a concordância dos resultados encontrados. As

cepas de *C. pseudotuberculosis* foram cultivadas em ágar sangue e caldo cérebro-coração com 0,1% de Tween 80 (BHI-T), submetidas aos testes bioquímicos (fermentação de açúcares, hidrólise de esculina e redução de nitrato), e submetidas à extração de DNA pelo kit PureLink Genomic DNA Mini (Thermo Fisher). As cepas com resultados variáveis de redução de nitrato foram repetidas, e confirmadas como negativas. A amplificação do DNA foi realizada pela técnica de PCR quadruplex e os produtos submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão de TBE 1x, corados com brometo de etídeo e as bandas visualizadas sob a luz ultravioleta. A padronização local da PCR quadruplex foi excelente pela fácil reprodutibilidade da metodologia, e as 100 cepas de *C. pseudotuberculosis* foram identificadas como biovar *Ovis*, havendo 100% de concordância entre os testes fenotípicos e genotípicos.

Palavras-chave: *Corynebacterium pseudotuberculosis*; Biovar; Caracterização fenotípica; Caracterização genética; PCR.

Suporte financeiro: Embrapa e CNPq.

¹ Aluno de graduação em Biomedicina do Centro Universitário INTA - UNINTA, Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa

² Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos

³ Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientador

*Apresentador(a) do trabalho: nirlirplacido@gmail.com