

TIPAGEM MOLECULAR DE CEPAS DE EDWARDSIELLA TARDÀ ISOLADAS DE TAMBAQUI (*COLOSSOMA MACROPOMUM*) POR MEIO DE TÉCNICAS BASEADAS EM GEL DE AGAROSE E ESPECTROMETRIA DE MASSA

XVI ENBRAPOA ONLINE, 0^a edição, de 03/11/2021 a 05/11/2021
ISBN dos Anais: 978-65-81152-23-9

COSTA; Henrique Lopes ¹, EGGER; Renata Catão², ROCHA; Victoria Pontes³, TAVARES; Guilherme Campos ⁴, FIGUEIREDO; Henrique César Pereira⁵

RESUMO

Na aquicultura brasileira o tambaqui, *Colossoma macropomum*, é a espécie nativa mais produzida, com grande importância para economia do país. Contudo, *Edwardsiella tarda*, um patógeno oportunista, tem sido isolado de tambaquis doentes, culminando em perdas econômicas significativas. Para buscar variedades intraespecíficas associadas a epidemiologia e virulência deste patógeno em diferentes surtos, métodos de tipagem podem ser utilizados. O objetivo desse trabalho foi avaliar e comparar métodos de tipagem molecular em cepas de *E. tarda* obtidas de tambaqui, por meio de técnicas de biologia molecular, Repetitive Extragenic Palindromic-Polymerase Chain Reaction (REP-PCR) e espectrometria de massa, Main Spectra Profile (MSP), criado em MALDI-ToF MS. Para tanto, 14 cepas de *E. tarda* foram selecionadas dos bancos AQUAVET (Laboratório de Doenças de Animais Aquáticos) e de Microbiologia Aplicada à Organismos Aquáticos (UNL). As bactérias foram isoladas de cérebro, rim, fígado, baço e intestino de tambaquis oriundos de três estados distintos (AM, MG e RO), entre os anos de 2014 e 2020. As cepas foram descongeladas, estriadas e cultivadas em ágar MacConkey por 48 horas à 28 °C. Para confirmação da espécie as cepas foram submetidas a identificação por MALDI-ToF MS e sequenciamento do gene *dnaJ*. Para a tipagem em gel de agarose utilizando REP-PCR, o DNA de cada cepa foi extraído e quantificado. Em seguida foi realizada a REP-PCR a partir de metodologia previamente publicada. Os amplicons foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,5% (m/v) e a leitura foi realizada no fotodocumentador por meio do software L-Pix EX Digital Image System. O gel foi analisado através do coeficiente de Dice utilizando-se o software BioNumerics. Para tipagem em MALDI-ToF MS, primeiramente foi criado o MSP conforme descrito por Assis et al. (2017). Os MSPs tiveram picos de massa avaliados, agrupados em um dendrograma usando o software MSP-Share, e analisados quanto à similaridade pelo coeficiente de Dice. O poder discriminatório das técnicas de tipagem avaliadas foram estimados pelo Índice de Diversidade de Simpson (SDI) e as taxas de concordância foram determinadas pelo coeficiente de Wallace (WC) ($p < 0,05$). As 14 cepas tiveram identificação da espécie *E. tarda* por MALDI-TOF MS com escores variando de 2,153 a 2,600, e por sequenciamentos do gene *dnaJ* com os valores de cobertura e identidade variando entre 99-100% e 96.07-100%, respectivamente. As cepas avaliadas foram divididas em 3 clusters no REP-PCR e em 2 clusters no MSP (sendo que cada cluster possuía um pico de massa específico). As técnicas de REP-PCR e MSPs mostraram SDI de 0,692 e 0,440, respectivamente. O coeficiente Wallace mostrou baixa concordância entre as técnicas ($W_{\text{MALDI}} \neq W_{\text{REP-PCR}}$, 0,037; $W_{\text{REP-PCR}} \neq W_{\text{MALDI}}$, 0,106). Conclui-se que a REP-PCR foi o método com maior poder discriminatório. O agrupamento dos isolados em diferentes clusters em ambos os métodos sugerem uma não clonalidade das cepas de *E. tarda* analisadas. Apesar da clusterização dos isolados, não houve a possibilidade de relacionar o perfil genético da amostra com a origem geográfica. Auxílio: CNPq/CAPES e PROCAD/Amazonas

PALAVRAS-CHAVE: iologia molecular, Diversidade genética, Edwardsielose, Peixe

¹ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, hlcosta96@gmail.com

² Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, recataoegger@gmail.com

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, mvictoriapr@gmail.com

⁴ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, gcampovet@hotmail.com

⁵ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, figueiredoh@yahoo.com

¹ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, hlcosta96@gmail.com

² Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, recataaoegger@gmail.com

³ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, mvvictorapr@gmail.com

⁴ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, gcamposvet@hotmail.com

⁵ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil, figueiredoh@yahoo.com