

Área Científica **Microbiologia e Patologia Animal**

Código PTDC/CVT/104050/2008 **Início** 2010/01/01 **Termo** 2013/4/30

Título Estudo Genómico de Estirpes Ibéricas de Brucella suis biovar 2

Programa

FCT

Medida

Projetos de I&D em todos os Domínios Científicos

Instituição Líder FMV

Investigador Responsável INIAV Maria Inácia Aleixo Vacas de Carvalho Corrêa de Sá

Orçamento Total 99 999,00€

Orçamento INIAV 38 700,00€

Parceria

INIAV	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.	Nacional
BioFIG	Centro de Biodiversidade, Genómica Integrativa e Funcional	Nacional
FMV	Faculdade de Medicina Veterinária	Nacional

Equipa

Maria Inácia Aleixo Vacas de Carvalho Corrêa de Sá

Resumo

A brucelose em suínos é uma infecção causada por *Brucella suis*, espécie descoberta em 1914 por Traum que a isolou de um feto de porca. Esta espécie de *Brucella* apresenta 5 biovars, sendo a infecção em suínos causada apenas pelos biovars 1, 2 e 3. Os biovars 1 e 3 são patogénicos para o homem e prevalecem sobretudo na América do Sul e Sudeste da Ásia (OIE Manual, 2000). O biovar 2 surge usualmente associado aos javalis (*Sus scrofa*) e lebres (*Lepus capensis*) sobretudo na Europa do Norte e Central, considerados os reservatórios naturais desta bactéria e fontes de transmissão aos suínos domésticos explorados em regime extensivo. [Da05; Ga00; Go05]. Ao contrário dos biovars 1 e 3, questiona-se hoje que o biovar 2 seja patogénico para o homem. Um aspecto surpreendente nestas bactérias do género *Brucella* e que as distingue de outros géneros é o facto de não exibirem factores de virulência comuns tais como cápsulas, fímbrias, flagelos, exotoxinas, plasmídeos ou fagos lisogénicos, entre outros, o que tem tornado incompreensível a identificação dos factores de virulência que utiliza. Neste contexto as análises genómicas comparativas e filogenéticas têm vindo a fornecer elementos que têm aumentado a compreensão da patobiologia da *Brucella*, com a consequente clarificação dos conceitos de virulência [Mo02a]. Ao exemplo das outras espécies de *Brucella*, o genoma da estirpe de referência de *Brucella suis* biovar 1 contém dois cromossomas circulares de 2 107 792 bp (Chr I) e 1 207 381 bp (Chr II), tal como os biovars 2 e 4. O biovar 3 tem apenas 1 cromossoma com 3,3 Mb, facto que tem sugerido que as diferentes estirpes de *Brucella* evoluíram de um antepassado com um único cromossoma circular equivalente à estrutura existente no biovar 3. O Chr I parece-se com o clássico cromossoma circular bacteriano e o Chr II parece representar um agregado de genes de natureza plasmídica. Os estudos de comparação do genoma de *B. suis* biovar 1 com o de *B. melitensis* revelaram que há grande similaridade e colocalização de genes. Encontrou-se um grupo de diferenças que podem ser responsáveis pelas diferenças que existem na virulência, bem como nas preferências de diferentes hospedeiros destas duas espécies de bactérias, e indicam que os fagos tiveram um significativo papel nas suas divergências. [Pa02]. *B. suis* biovar 2 tem sido isolada em Portugal a partir de material de suínos e javalis. Os estudos fenotípicos e genotípicos (com VNTRs) destas estirpes têm mostrado que há diferenças entre as Ibéricas e as isoladas na Europa Central. Também não são conhecidos os mecanismos fisiológicos e moleculares responsáveis pela perda de virulência de *B. suis* biovar 2. COM ESTE PROJECTO PRETENDEMOS UTILIZAR UMA ABORDAGEM DE GENÓMICA COMPARATIVA, ENTRE O GENOMA JÁ SEQUENCIADO DA ESTIRPE VIRULENTE DE REFERÊNCIA DO BIOVAR 1 E OS GENOMAS DA ESTIRPE DE REFERÊNCIA E DE TRÊS ESTIRPES SELVAGENS DO BIOVAR 2 A SEQUENCIAR NO ÂMBITO DO PROJECTO, PARA IDENTIFICAR GENES CANDIDATOS DE VIRULÊNCIA E POLIMORFISMOS DIFERENCIANTES DAS ESTIRPES IBÉRICAS RELATIVAMENTE ÀS ESTIRPES EUROPEIAS. Neste contexto o projecto incluirá a sequenciação dos genomas da estirpe de referência *B. suis* biovar 2, de duas estirpes selvagens isoladas em Portugal e em Espanha e de uma estirpe selvagem de um País da Europa Central, utilizando uma técnica de sequenciação de nova geração (sistema Illumina, exclusivo da GATC Biotech AG; www.illumina.com). A análise comparativa destes genomas com o a da estirpe virulenta de referência *B. suis* 1330 biovar 1, já sequenciado, permitirá identificar SNPs e outras variações genómicas (e.g. deleções, inserções), bem como genes candidatos de virulência, por análise das diferenças genómicas entre as estirpes selvagens biovar 2 e as de referência, a explorar no contexto da variação fenotípica que existe entre as estirpes. Os polimorfismos genómicos e os genes candidatos de virulência serão pesquisados numa larga variedade de estirpes selvagens com diferentes origens geográficas (coleção de culturas do LNIV), utilizando métodos de PCR/sequenciação, de modo a identificar aqueles que, pela sua ampla distribuição nas estirpes selvagens, poderão ser eleitos como marcadores moleculares com potencial no diagnóstico e/ou interesse epidemiológico. No final do projecto estes marcadores serão utilizados para desenvolver e validar um método de diagnóstico baseado em PCR. A equipa do projecto, ao reunir investigadores do Centro de Biodiversidade, Genómica Integrativa e Funcional (BioFIG), do Laboratório Nacional de Referência para a Brucelose (LNIV-INRB) e do Centro de Recursos Microbiológicos (CREM), possui o conhecimento e experiência necessários em microbiologia molecular, epidemiologia molecular e patobiologia de *Brucella*, áreas nucleares do projecto, para a sua realização com sucesso. A consultadoria do Prof. Ignacio Moriyon, especialista líder internacional na investigação em *Brucella*, é uma vantagem e garantia adicionais para o projecto.