



AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE DE ESPÉCIES DE FLAVOBACTERIUM SP. ASSOCIADAS A CASOS CLÍNICOS DA PISCICULTURA BRASILEIRA

XVII Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 1ª edição, de 04/10/2023 a 06/10/2023
ISBN dos Anais: 978-65-5465-040-3

SARMIENTO; Peter Charrie Janampa¹, TAVARES; Guilherme Campos², FIGUEIREDO; Henrique César Pereira³

RESUMO

Recentemente, os quatro genótipos (GG1, GG2, GG3 e GG4) conhecidos para o patógeno bacteriano de peixes *Flavobacterium columnare* foram reclassificados taxonomicamente em quatro espécies diferentes: *F. columnare*, *F. davisii*, *F. covae* e *F. oreochromis* (Lafrentz et. Al, 2022). Em vista dessa nova distinção de espécies, existe a necessidade de se conhecer quais delas estão presentes no Brasil a fim de poder desenvolver medidas de controle e prevenção frente a esses potenciais patógenos. Para isto, foi selecionado um conjunto de isolados, previamente identificados como *F. columnare*, armazenados no AQUAVET (Laboratório de Doenças de Animais Aquáticos-UFMG). Esses isolados foram obtidos a partir de animais com sinais clínicos, de locais com relato de surto ativo. Os 28 isolados escolhidos e mais dois cepas de referência (ATCC49512 e ATCC23463) foram reativados mediante cultivo em placa com ágar MHS a 25°C durante 5 dias. Em seguida, as colônias foram colhidas para extração do DNA bacteriano mediante kit Maxwell 16 Tissue DNA purification (Promega, Madison, WI, USA). As amostras de DNA foram submetidas a duas PCRs: PCR-Multiplex de Genótipo de *Flavobacterium columnare*, e a amplificação completa do gene *rRNA16S* (~1500pb). Posteriormente, o tamanho dos amplicons obtidos de ambas PCRs foram verificados mediante eletroforese capilar QiAxcel Advanced System (Qiagen). A fim de avaliar a identidade e filogenia dos isolados, os amplicons do gene RNA16S foram submetidos a sequenciamento mediante kit BigDye™ Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems, UK) e equipamento ABI 3,500 Genetic Analyzer (Life Technologies, USA). A qualidade das sequências nucleotídicas foi avaliada mediante o programa BioEdit (Ibis Biosciences, Carlsbad, USA, versão 7.2). Em seguida, foi obtida a identidade das sequências nucleotídicas mediante o BLAST usando como referência a base de dados nt/nr do NCBI. Além disso, foi construída a árvore filogenética mediante abordagem de máxima verossimilhança no programa Mega (versão 7). Os resultados da PCR-Multiplex, bem como a identidade (>97%) e filogênese (agrupamento com suporte *bootstrap* >70%) do gene RNA16S, mostraram que as duas cepas de referência (ATCC49512 e ATCC23463) foram identificadas como *F. columnare*; enquanto 6, 19 e 2 isolados foram reclassificados como *F. covae*, *F. oreochromis*, e *F. davisii*, respectivamente. Por outro lado, um isolado foi possível de reclassificar como *F. oreochromis* apenas pela identidade e filogênese do gene RNA16S pois não teve amplificação na PCR-Multiplex. Baseado nos resultados, concluímos que os 28 isolados do Aquavet previamente identificados como *F. columnare* foram reclassificados como *F. oreochromis*, *F. davisii* e *F. covae*, demonstrando

¹ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil., peterjs_0126@hotmail.com

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

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

que essas três espécies estão circulando nas pisciculturas brasileiras e são associadas a casos clínicos de doença. Auxílio: CNPq, CAPES, FAPEMG e PROCAD/Amazonas

PALAVRAS-CHAVE: Flavobacterium, peixes tropicais, diagnóstico, aquacultura