



# Metodes vir vinnige biotipering van *Vibrio cholerae* gebaseer op toksien-koreguleerde Pilus-proteïen A (TcpA) variasie

**Authors:**

R.E.S. Ferreira<sup>1</sup>  
T.G. Barnard<sup>1</sup>  
G. Koorsen<sup>2</sup>

**Affiliations:**

<sup>1</sup>Department of Biochemistry,  
University of Johannesburg,  
South Africa

<sup>2</sup>Water and Health Research  
Centre, University of  
Johannesburg, South Africa

**Correspondence to:**

R. Ferreira

**Email:**

ronel.esferreira@gmail.com

**Postal address:**

Private Bag X11, Arcadia  
0007, South Africa

**How to cite this article:**

Ferreira, R.E.S., Barnard,  
T.G. & Koorsen, G., 2014,  
'Metodes vir vinnige  
biotipering van *Vibrio  
cholerae* gebaseer op  
toksien-koreguleerde Pilus-  
proteïen A (TcpA) variasie',  
*Suid-Afrikaanse Tydskrif  
vir Natuurwetenskap en  
Tegnologie* 33(1), Art.  
#1222, 1 page. [http://  
dx.doi.org/10.4102/satnt.  
v33i1.1222](http://dx.doi.org/10.4102/satnt.v33i1.1222)

**Note:**

This paper was initially  
delivered at the School of  
Environmental Sciences  
and Development of the  
North-West University,  
Potchefstroom Campus,  
South Africa on 05 October  
2012.

**Copyright:**

© 2014. The Authors.  
Licensee: AOSIS  
OpenJournals. This work  
is licensed under the  
Creative Commons  
Attribution License.

**Read online:**

Scan this QR  
code with your  
smart phone or  
mobile device  
to read online.

**Methods for rapid biotyping of *Vibrio cholerae* based on toxin-coregulated Pilus-protein A (TcpA) variation.** Cholera is a highly epidemic disease caused by *Vibrio cholerae*. Rapid and sensitive methods to identify pathogenic biotypes are imperative. Variation in TcpA at protein and gene level was investigated to differentiate between *V. cholerae* biotypes.

## Inleiding

Cholera, 'n hoogs epidemiese diaretiese siekte veroorsaak deur *Vibrio cholerae* infeksie, affekteer steeds menige lande. 'n Vinnige en sensitiewe metode om patogeniese *V. cholerae* biotipes te identifiseer is dus noodsaaklik. Onlangse literatuur het die sensitiwiteit van matriks-gerugsteunde laser desorpsie ionisasie tyd-van-vlug massa-spektrometrie (MALDI-TOF MS) en hoë-resolusie smeltkurwe-analise (HRS) vir hierdie doel uitgelig. Beide hierdie tegnieke is sensitief genoeg om 'n enkele aminosuur of basispaarverskil op te tel. Die toksien-kogereguleerde pilus-proteïen A (TcpA) toon groot variasie op genetiese en proteïenvlak. MALDI-TOF MS analise van ru TcpA-ekstrakte uit *Vibrio cholerae* kan dus moontlik die onderskeidingsvermoë van MALDI-TOF MS verbreed om sub-spesie identifikasie van *V. cholerae* isolate moontlik te maak. Hier vergelyk ons metodes om pili, wat TcpA bevat, te isoleer. Verder kan variasie in die tcpA geen gebruik word vir vinnige *V. cholerae* biotipering deur middel van HRS. Ons bespreek ons vordering op hierdie gebied hieronder.

## Materiaal en metodes

*Ru TcpA-ekstraksie.* Pili is geskei van die selliggaam deur verskeie meganiese sleurmetodes en gesuiwer deur middel van MgCl<sub>2</sub>-neerslag. Om die bakteriële membraan te isoleer is selle in hipotoniese oplossings of deur middel van sonikasie oopgebreek, en brokstukke is onderwerp aan ultrasentrifugasie. Die sukses van hierdie strategie om ru TcpA ekstraksies te lewer is ge-evalueer deur transmissie elektron mikroskopie (TEM) en proteïen jel elektroforese. *HRS analise.* Voor HRS analise uitgevoer was, is voorvoerderpare ontwerp om tcpA te amplifiseer uit alle *V. cholerae* stamme. Dit was bereik deur tcpA-sekwensies van die *National Centre for Bioinformatics (NCBI, VSA)* databasis te verkry. As gevolg van die hoë variasie van hierdie geen in *V. cholerae* was die gekonserveerde streke binne die geen beperk. Tien voorvoerderpare is ontwerp en die spesifisiteit van elk ge-evalueer deur middel van polimerase kettingreaksie (PKR), waarna die spesifieke voorvoerderpare in HRS-eksperimente gebruik is.

## Resultate en bespreking

Alhoewel pili suksesvol geïsoleer is deur meganiese sleurmetodes, was die hoeveelhede onvoldoende vir opsporing van TcpA op proteïen-jels. Die bereiding van TcpA ekstrakte volgens die ge-evalueerde metodes is dus onprakties vir MALDI-TOF MS biotipering. Tans fokus ons ondersoek dus op die gebruik van HRS vir sub-spesie identifikasie en onderskeiding van *V. cholerae* gebaseer op die variasie in die tcpA geen. Aanvanklike toetse op *V. cholerae* verwysingstamme lyk belowend. Drie voorvoerderpare was voldoende om onderskeid te tref tussen *V. cholerae* O1, *V. cholerae* O1 El Tor en *V. cholerae* O139. Een voorvoerder paar het verder onderskeid getred tussen die *V. cholerae* serogroep O1 en O139. Ons is tans besig om die metode te verfyn en verder te ontwikkel om te onderskei tussen omgewingsisolate van *V. cholerae* patogene.