

# Pesquisa de genes de virulência associados aos plasmídeos em cepas de *Salmonella* Enteritidis isoladas de fontes avícolas



SARA NEVES SOUZA<sup>1</sup>, HAMILTON LUIZ DE SOUZA MORAES<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Autor, Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

<sup>2</sup> Orientador, Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## INTRODUÇÃO

A presença de *Salmonella* em lotes de frango representa um problema econômico para as exportações do produto brasileiro e, também, um grande problema em saúde pública, pois pode ser transmitida ao homem através do consumo de produtos contaminados<sup>8</sup>. *Salmonella* é o mais comum agente causador de doenças transmitidas por alimentos, e o sorovar *Salmonella* Enteritidis (SE) é o mais isolado de fontes avícolas na Europa, Ásia e América do Sul<sup>15</sup>, inclusive no Brasil<sup>2</sup>. A patogenia da *Salmonella* é um fenômeno multifatorial e complexo<sup>16</sup>, e entre os principais fatores de virulência da *Salmonella* estão aqueles relacionados aos plasmídeos<sup>10</sup>. O gene *spvC* e *spvB* estão relacionados ao plasmídeo de virulência de *Salmonella* e auxiliam no reconhecimento, adesão e invasão da célula hospedeira e afeta a interação do sistema imune do hospedeiro<sup>9,14</sup>. O gene fimbrial *pefA* está relacionado ao aumento da taxa de sobrevivência e ao aumento do crescimento bacteriano no interior da célula hospedeira<sup>13</sup>. O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade genética de 70 amostras de *Salmonella* Enteritidis isoladas de fontes avícolas através da pesquisa de genes de virulência associados aos plasmídeos pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

## MATERIAIS E MÉTODO

reativação de 70 cepas de *S. Enteritidis* estocadas a -80°C



1 mL de cultura bacteriana em caldo BHI overnight

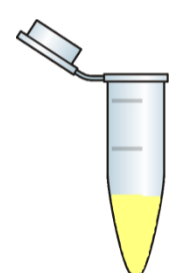


extração térmica do DNA<sup>3</sup>



PCR: *spvC*, *spvB* e *pefA*

origem: carcaças de frangos, suabes de arrasto e órgãos de aves



Controle Negativo: *Mannheimia haemolytica* ATCC 29694

Controle Positivo: *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *spvC* e *spvB*

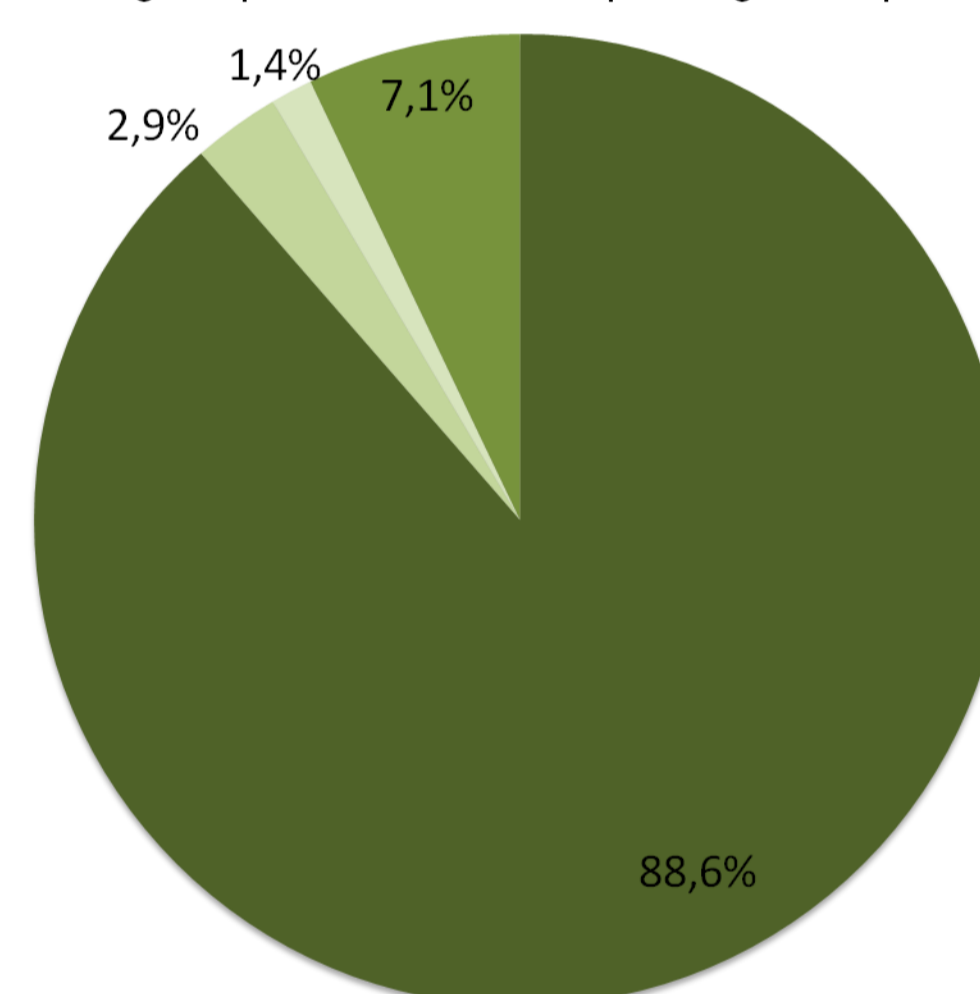
- 91,42% das cepas foram positivas
- semelhantes a outros estudos<sup>4,11,12</sup>
- relação com origem da cepa: maior frequência em humanos e aves<sup>7</sup>
- relação com sorovar: maior frequência em *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*<sup>7</sup> e menor em *S. Infantis* e *S. Hadar*<sup>5,7</sup>

### *pefA*

- 90% das cepas foram positivas
- semelhante a outros estudos<sup>4,11</sup>
- alta frequência relacionada com importância das fímbrias no processo de infecção<sup>6</sup>
- restrito a poucos sorovares, podendo ser o resultado da adaptação para novos hospedeiros<sup>1</sup>

Gráfico 1. Distribuição das cepas conforme a quantidade de genes presente.

■ cepas positivas para todos os genes  
■ cepas com dois genes positivos  
■ cepas com apenas um gene positivo  
■ cepas negativas para todos os genes



A alta frequência dos genes pesquisados também foi encontrada anteriormente, demonstrando que o sorovar *S. Enteritidis* isolado de aves pode ser bastante virulento e pode ser similar àqueles capazes de causar doenças em humanos<sup>11</sup>.

## CONCLUSÃO

Com os dados obtidos é possível observar que as diferentes cepas de *S. Enteritidis* tendem a apresentar a maioria dos genes de virulência associados aos plasmídeos, uma vez que este sorovar tem sido considerado um dos mais virulentos de *Salmonella*. Entretanto, a similaridade antigênica entre as cepas de um mesmo sorovar não significa que possuam, também, semelhanças genéticas. Os dados obtidos serão utilizados para estudos de patogenicidade *in vivo* relacionando-se com o perfil de virulência genético.

## REFERÊNCIAS

- Bäumler, A.J.; Gilde, A.J.; Tsolis, R.M.; Van Der Velden, W.M. Ahmer, B.M.M.; Héffron, F. Contribution of horizontal gene transfer and deletion events to development of distinctive patterns of fimbrial operon during evolution of *Salmonella* serotypes. *Journal of Bacteriology*, v.179, n.2, 1997. p.317-322.
- Brasil. Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frangos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Brasília, DF, 2008. 186p.
- Borsoi, A.; Santin, E.; Santos, L.R.; Salle, C.T.P.; Moraes, H.L.S.; Nascimento, V.P. Inoculation of newly hatched broiler chicks with two Brazilian isolates of *Salmonella* Heidelberg strains with different virulence gene profile, antimicrobial resistance and pulsed field gel electrophoresis pattern to intestinal changes evaluation. *Poultry Science*, v.88, 2009. p.750-758.
- Castilla, K.S.; Ferreira, C.S.A.; Moreno, A.M.; Nunes, I.A.; Ferreira, A.J.F. Distribution of virulence genes *sefC*, *pefA* e *spvC* in *Salmonella* Enteritidis phage type 4 strains isolated in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.37, 2006. p.135-139.
- Cesco, M.A.O. Dissertação de Mestrado: Pesquisa de Fatores Associados à Virulência de *Salmonella* Hadar Através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Veterinária, PPGCV, 2010.
- Craciunas, C.; Keul, A.L.; Flonta, M.; Cristea, M. DNA-based diagnostic tests for *Salmonella* strains targeting *hlyA*, *agfA*, *spvC* and *sefC* genes. *Journal of Environmental Management*, v.3, 2012. p.1-4.
- Derakhshandeh, A.; Firouzi, R.; Khoshbakht, R. Association of three plasmid-encoded *spv* genes among different *Salmonella* serotypes isolated from different origins. *Indian Journal of Microbiology*, v.53, n.1, 2013. p.106-110.
- Gast, R. K. *Salmonella* infections – Paratyphoid Infections. In: SAIF, Y.M. (Ed.). *Disease of Poultry*, 12.ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2008. p.636-665.
- Gulig, P. A., H. Danbara, D. G. Guiney, A. J. Lax, F. Norel, and M. Rhen. Molecular analysis of *spv* virulence genes of the *Salmonella* virulence plasmids. *Mol. Microbiol.* 7:825-830. 1993.
- Madigan, M.T.; Martinko, J.M.; Dunlap, P.L.; Clark, D.P. *Princípios de Genética Bacteriana*. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). *Microbiologia de Brock*. 12.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p.278-283.
- Mezal, E.H.; Sabol, A.; Khan, M.A.; Ali, N.; Stefanova, R.; Khan, A.F. Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from poultry house and clinical samples during 2010. *Food Microbiology*, v.38, 2014. p.67-74.
- Shah, D.H.; Zhou, X.; Addwebi, T.; Davis, M.A.; Orfe, L.; Call, D.R.; Guard, J.; Besser, T.E. Cell invasion of poultry-associated *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates is associated with pathogenicity, motility and proteins secreted by the type III secretion system. *Microbiology*, 2011. p.1428-1445.
- Stone, B.J.; Miller, V.L. *Salmonella* Enteritidis has a homologue of *tolC* that is required for virulence in BALB/c mice. *Molecular Microbiology*, v.17, 1995. p. 701-712.
- Swamy, S.C.; Barnhart, H.M.; Lee, M.D.; Dreesen, D.W. Virulence determinants *invA* and *spvC* in *Salmonellae* isolated from poultry products, wastewater and human sources. *Applied Environmental Microbiology*, v.62, n.10, 1996. p.3768-3771.
- Vieira, A. et al. 2009. WHO Global Foodborne Infections Network Country Databank – a resource to link human and non-human sources of *Salmonella*. In: *Proceeding of the 12th Symposium of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics*, Durban, South Africa.
- Wallis, T.S.; Galyov, E.E. Molecular basis of *Salmonella*-induced enteritis. *Molecular Microbiology*, v.36, n.5, 2000. p.997-1005.



MODALIDADE DE BOLSA

VOLUNTÁRIA