

# V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS  
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

## Detecção de genes associados à virulência de *Salmonella* Heidelberg isoladas de produto avícola

**AUTOR PRINCIPAL:** Rafael Levandowski

**CO-AUTORES:** Bruna Webber; Enzo Mistura; Suelen Zanco; Natalie Nadin Rizzo; Karen Borges Furian; Thales Quedi Furian; Luciana Ruschel dos Santos; Fernando Pilotto;

**ORIENTADOR:** Laura Beatriz Rodrigues

**UNIVERSIDADE:** Universidade de Passo Fundo

### INTRODUÇÃO

Os fatores de virulência são codificados por uma série de genes, e podem estar localizados no próprio cromossomo da bactéria, os chamados genes *housekeeping*, os quais conferem características específicas e básicas a bactérias de uma mesma família. Como podem estar presentes nas chamadas Ilhas de Patogenicidade, ou em elementos genéticos móveis, como transposons, plasmídeos e bacteriófagos (MARCUS *et al.*, 2000; VAN ASTEN & VAN DIJK, 2005). Esses genes irão conferir vantagens a bactéria, como adaptação da bactéria à célula hospedeira, resistência a antimicrobianos e superação dos mecanismos de defesa do hospedeiro (ÁLVAREZ, 2007).

Em busca de compreender as características de virulência da *Salmonella*, este trabalho teve como objetivo caracterizar genotipicamente os isolados de SH através da detecção de 24 genes associados à virulência pela técnica de reação em cadeia da polimerase.



# V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS  
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



## DESENVOLVIMENTO:

A caracterização molecular dos 126 isolados de *S. Heidelberg* foi realizada através da pesquisa de 24 genes envolvidos na virulência e patogenicidade de *Salmonella*. São eles: *invA*, *hila*, *lpfA*, *lpfC*, *sefA*, *agfA*, *spvB*, *pefA*, *sopE*, *avrA*, *sivH*, *orgA*, *prgH*, *spaN*, *tolC*, *sipB*, *sitC*, *pagC*, *msgA*, *spiA*, *iroN*, *sopB*, *cdtB*, *sifA*.

A extração do DNA foi realizada através do tratamento térmico, adaptado da técnica de Borsoi *et al.* (2009). As reações de amplificação foram realizadas em termociclador Swift MaxPro (Esco; Singapura). Após a amplificação, foi realizada a eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídeo. A análise dos produtos amplificados foi feita através da visualização das bandas correspondentes em transiluminador de luz ultravioleta MacroVue (Pharmacia LKB Biotechnologies; Uppsala, Suécia) e da fotodocumentação digital (Alpha Innotche; San Leandro, EUA). A concentração dos reagentes do *mix* e as condições de amplificação no termociclador foram adaptadas a partir de trabalhos previamente descritos na literatura (BORGES *et al.*, 2013).

Determinou-se os diferentes perfis genotípicos dos 126 isolados de *Salmonella Heidelberg*, com base na detecção de 24 genes associados à virulência (Tabela 1). Nenhum dos isolados apresentou todos os genes, mas a prevalência foi alta, pois o menor número de genes detectados em um isolado foi 10/24. Os genes *lpfA* e *agfA* (fimbrias), *invA* e *sivH* (Sistema de Secreção do Tipo III), *msgA* e *tolC* (sobrevivência no interior de células) estavam presentes em 100% dos isolados. Os genes fimbriais desempenham papel importante na patogenicidade da bactéria porque promovem a ligação às células epiteliais. Os genes que codificam as proteínas efetoras secretadas pelo SSTT como: *sifA*, *avrA*, *sopE*, *sopB* e *sivH* foram detectados em quase todas SH. É importante pesquisar estes genes, pois eles podem alterar conforme a capacidade de cada sorovar de *Salmonella* tem em se manter em novos hospedeiros. Nenhum isolado teve o gene *sefA* e somente quatro isolados tem o gene *pefA*, este gene é de origem plasmidial, e os plasmídeos estão presentes em apenas alguns sorovares de *Salmonella*



# V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS  
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



spp (referencia). Pesquisamos genes associados ao metabolismo de aquisição ao ferro, 88,9% apresentaram o gene *iroN* e 79,4% *sitC*. O gene *cdtB* codifica toxinas responsáveis por causar apoptose das células, 8,73% apresentaram esse gene.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Apesar de todos os isolados pertencerem ao mesmo sorovar, foi possível observar diversos perfis genotípicos. O fato de não ter somente um perfil predominante, pode indicar a existência de fontes de contaminação variáveis da SH. Por fim, a detecção de perfis genéticos pode ser utilizada para determinar diferentes padrões de virulência desses isolados.

## REFERÊNCIAS

- ÁLVAREZ, N.M. Virulência, resistência y elementos genéticos móviles en serotipos no prevalentes de *Salmonella enterica*. **Tese de Doutorado**: Oviedo: Universidad de Oviedo, Departamento de Biología Funcional, 2007.
- BORGES, K.A. et al. Detection of virulence-associated genes in *Salmonella* Enteritidis isolates from chicken in South of Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, n.12, p.1416-1422, 2013.
- MARCUS, S.L. et al. *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. **Microbes Infect**. V. 2. p. 145-156. 2000.
- VAN, ASTEN.; A.J.A.M.; VAN, D.I.J.K.; J.E. Distribution of "classic" virulence factors among *Salmonella* spp. **Fems Immunology and Medical Microbiology**, v.44, n.3, p.251-259. 2005.

# V SEMANA DO CONHECIMENTO

**CONSTRUINDO CONHECIMENTOS  
PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**

1 A 5 DE OUTUBRO DE 2018



## ANEXOS

Tabela 1 - Distribuição dos 24 genes de virulência detectados através de PCR nos isolados de *Salmonella* Heidelberg.

Função do gene	Gene	Frequência absoluta (n=126)	Frequência relativa (%)	
Fímbrias	<i>sefA</i>	0	0%	
	<i>lpfA</i>	126	100%	
	<i>lpfC</i>	107	84,9%	
	<i>agfA</i>	126	100%	
	<i>pefA</i>	4	3,17%	
TTSS	Estrutura	<i>sipB</i>	91	72,2%
		<i>invA</i>	126	100%
		<i>orgA</i>	84	66,7%
		<i>prgH</i>	65	51,6%
		<i>spaN</i>	103	81,7%
	Proteínas efetoras	<i>avrA</i>	124	98,4%
		<i>sopE</i>	112	88,9%
		<i>sopB</i>	123	97,6%
		<i>sivH</i>	126	100%
		<i>sifA</i>	108	85,7%
Proteína reguladora	<i>hilA</i>	84	66,6%	
Sobrevivência no interior de células (macrófagos)	<i>pagC</i>	120	95,2%	
	<i>spiA</i>	120	95,2%	
	<i>msgA</i>	126	100%	
	<i>tolC</i>	126	100%	
Plasmídeo	<i>spvB</i>	1	0,79%	
Metabolismo do ferro	<i>iroN</i>	112	88,9%	
	<i>sitC</i>	100	79,4%	
Toxinas	<i>cdtB</i>	11	8,73%	