

Detecção de genes de virulência que codificam a Proteína de Ligação à fibronectina (*cadF*) e a flagelina (*flaA*) em *Campylobacter jejuni* isolados de frango de corte a partir da técnica de PCR.



ISADORA M. MIRANDA¹, VLADIMIR P. DO NASCIMENTO²

¹ Autor, Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Orientador, Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CA - Ciências Agrárias

INTRODUÇÃO

A campilobacteriose é uma zoonose de distribuição mundial e passou a ser o agente etiológico mais frequentemente isolado em patologias gastrointestinais agudas em seres humanos. Outras apresentações clínicas da infecção por *Campylobacter* são meningite, septicemia, infecções extra-intestinais localizadas e complicações como a síndrome de Guillain-Barré (GBS) e síndrome de Miller Fisher (MFS). A patogenicidade de infecções por *Campylobacter* não está claramente compreendida. No entanto, é reconhecido que a motilidade mediada por flagelos, adesão bacteriana, capacidade invasiva e habilidade para produzir toxinas são determinantes de virulência. Neste contexto, adesão e invasão de células epiteliais são os mecanismos patogênicos mais importantes no quadro de diarreia inflamatória por *Campylobacter*. O gene *flaA* foi identificado por ser responsável pela expressão na colonização. O produto do gene *cadF* é uma proteína de aderência que permite a ligação à fibronectina, envolvida no processo de invasão e organização dos microfilamentos em células hospedeiras. Este trabalho teve como objetivo identificar a presença de genes associados à virulência em *Campylobacter jejuni*, utilizando a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

MATERIAIS E MÉTODO

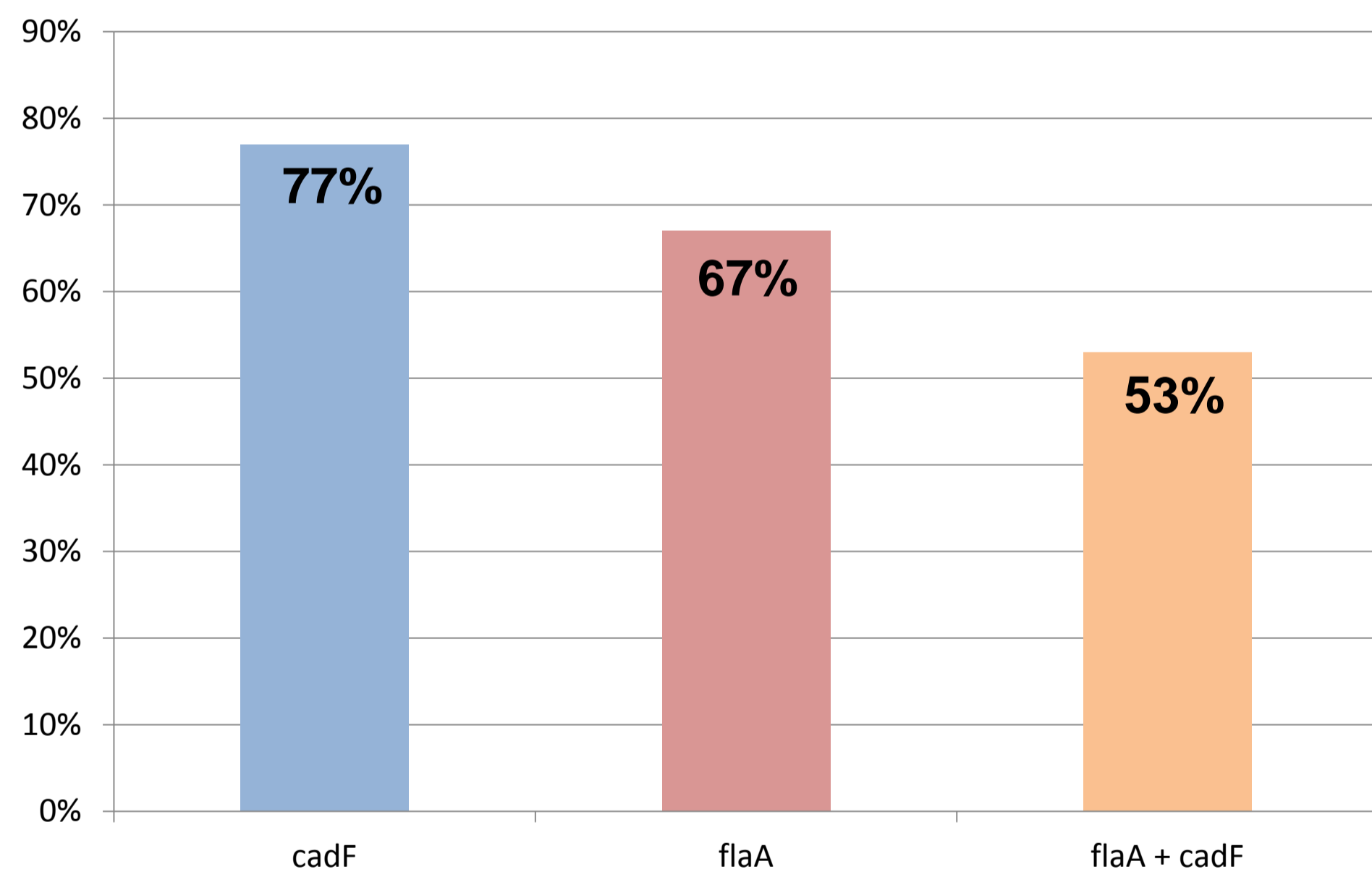
Foram utilizadas 30 amostras de *Campylobacter jejuni* isoladas de carcaças, de fezes de frangos e de amostras de água do chiller isoladas conforme Dennis et al., 1999.

• Pesquisa dos genes *cadF* e *flaA* por PCR



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Detecção de amostras positivas para os genes *cadF* e *flaA*



O gene *cadF* foi detectado em 77% (23/30) dos isolados e o gene *flaA* em 67% (20/30). No trabalho de Dos Santos et al., (2011) desenvolvido na Europa, amostras procedentes de frangos de corte apresentaram positividade de 100% para ambos os genes. Da mesma forma, outro estudo realizado na Índia descreve a presença de *flaA* e *cadF* em 100% e 88,3% das cepas, respectivamente (Rizall et al., 2010). Entretanto, 44,7% dos isolados provenientes de frangos de corte apresentaram a presença dos genes *flaA* e *cadF* no Brasil (Melo et al., 2012).

O gene *cadF* é identificado com uma proteína ligante à fibronectina da membrana das células entéricas (Konkel et al., 1997). Mutantes *cadF*- são incapazes de se ligar à fibronectina e não conseguem colonizar o epitélio (Ziprin et al., 1999). A alta frequência do gene pode estar relacionado com mecanismos necessários para a sobrevivência de *C. jejuni* em ambientes estressantes.

O flagelo de *C. jejuni* é constituído por um polímero de flagelina, que são codificadas pelos genes adjacentes *flaA* e *flaB* (Nuijten et al., 1990). Estes flagelos são cruciais para a virulência e estão envolvidos na patogênese de *C. jejuni*. Mutantes de *C. jejuni*, imóveis não conseguem colonizar o trato gastrointestinal ou requerem grandes quantidades de inóculo. Outros estudos mostram a funcionalidade do flagelo relacionado à formação de biofilme, às características estruturais patogênicas e à regulação de fatores de virulência (Guerry, 2007).

CONCLUSÃO

A alta frequência observada dos genes *cadF* e *flaA* demonstrou que esses determinantes patogênicos estão possivelmente difundidos entre os isolados de *Campylobacter jejuni* de origem aviária e indicam seu elevado potencial virulento em casos de infecções em humanos. Além disso, a utilização das técnicas moleculares contribuiu com o isolamento bacteriano tradicional proporcionando, assim, um diagnóstico cada vez mais preciso, relativamente mais barato e em curto prazo de tempo. Estudos futuros sobre a prevalência de genes de virulência em isolados de *Campylobacter* de várias fontes são essenciais para obter mais informações sobre a biologia deste microrganismo.

REFERÊNCIAS

1. Denis et al. Development of m-PCR assay for simultaneous identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *Letters in Appl. Microbiol.* 29, 406-410. 1999
2. 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
3. Santos, A. S. J. Caracterização de isolados de *Campylobacter jejuni* de origem animal e humana quanto aos seus fatores genéticos de virulência. 2011.184 f. Dissertação (Mestrado em microbiologia). Faculdade de ciências departamento de biologia vegetal. Faculdade de Lisboa.
4. Melo, T. R. Fatores de patogenicidade e potencial risco à saúde em *Campylobacter* spp isolados de carcaças de frango. 2012. 134f. Dissertação (Mestrado em veterinária). Faculdade de medicina veterinária. Universidade federal de Uberlândia.
5. Konkel et al. Identification of a fibronectin-binding domain within the *Campylobacter jejuni* *CadF* protein. *Mol. Microbiol.* 57(4), 1022-1035. 2005.
6. Ziprin, R.L., Young, C.R., Stanker, L.H., Hume, M.E. e Konkel, M.E. (1999). The absence of cecal colonization of chicks by a mutant of *Campylobacter jejuni* not expressing bacterial fibronectin-binding protein. *Avian Dis.* 43, 586-589.
7. Guerry, P. (2007). *Campylobacter* flagella: not just for motility. *Trends in Microbiology*. Vol. 15, No. 10.
8. Nuijten, P. J. M., Van Asten, F. 1. A. M., Gastra, W. & Van der Zeijst, B. A. M. (1990). Structural and functional analysis of two *Campylobacter jejuni* flagellin genes. *J Biol Chem* 265, 17798-1 7804.