

Ilhas de patogenicidade

Pathogenicity islands

Islas de patogenicidad

*Mônica Aparecida Midolli Vieira**

RESUMO: Ilhas de patogenicidade constituem segmentos de DNA inseridos no cromossomo bacteriano, que atribuem uma variedade de características de virulência aos microorganismos que a possuem. Dentre as propriedades conferidas pelas PAIs destacam-se a capacidade de aderir e invadir o epitélio da célula hospedeira, produzir toxinas, captar ferro do meio ambiente e sintetizar o sistema de secreção tipo III, dispositivo molecular que permitem a translocação de moléculas efetoras para o interior da célula hospedeira. A capacidade de adquirir propriedades patogênicas em um único evento genético permite a evolução, bem como o surgimento de microorganismos patogênicos.

PALAVRAS-CHAVE: Patogenicidade bacteriana. Ilhas genômicas. Evolução.

ABSTRACT: Pathogenicity island are inserted DNA fragments in the bacterial chromosome that confer a variety of virulence traits to the microorganisms. Among this variety of virulence properties we can see: the ability of adhering and invading the host cells, toxins production, iron uptake and the synthesis of Type Three Secretion System, a molecular device that allows the effectors molecules translocation inside the host cells. The feature of acquiring virulence traits in one genetic event allows the formation of new pathogens, as well the pathogenic microorganism's evolution.

KEYWORDS: Bacterial pathogenicity. Genomic island. Evolution.

RESUMEN: Las islas de patogenicidad (PAI) son segmentos de DNA insertados en el cromosoma bacteriano, las cuales atribuyen una variedad de características de virulencia a los microorganismos que las poseen. Entre las características atribuidas por las PAI se distinguen la capacidad de adhesión e invasión del epitelio de la célula hospedera, de producción de toxinas, de captación del hierro del medio ambiente y de sintetizar el sistema de secreción tipo III, el dispositivo molecular que permite la translocación de las moléculas de efectoras para el interior de las células hospederas. La capacidad de adquirir características patógenas en un único acontecimiento genético permite la evolución, así bien la emergencia de microorganismos patógenos.

PALABRAS LLAVE: Patogenicidad bacteriana. Islas genômicas. Evolución.

Patogenicidade

Patogenicidade é definida como a capacidade de um microorganismo de causar doença. Os microrganismos patogênicos se distinguem de outros da mesma espécie pelo fato de possuírem e expressarem genes que codificam fatores de virulência, isto é, fatores que propiciam a colonização e ocorrência de diversos eventos que subvertem a fisiologia hospedeira, ocasionando o aparecimento de sinais e sintomas anormais, que irão, finalmente, definir o estado de doença.

Entre os fatores de virulência mais importantes encontram-se as adesinas, que possibilitam aos microorganismos a colonização dos tecidos; as toxinas, as invasinas, os sistemas de captação de ferro, e os fatores que abolem as defesas do hospedeiro. Além disso, a aquisição de genes que permitem a resistência a drogas antimicrobianas tornou-se um elemento adicional no arsenal de virulência das bactérias.

Eventos mutacionais podem levar à aquisição de novos fenótipos pelas bactérias. Nestes eventos, sequências genéticas são modificadas

podendo conferir vantagens ao microorganismo, tornando-o algumas vezes patogênico, sendo que essa característica é perpetuada em sua progênie. Neste artigo, não serão abordados tais eventos.

Outra forma de aquisição de genes envolvidos com virulência se dá por meio de processos de transferência de material genético entre as bactérias. Neste caso, as bactérias não patogênicas adquirem DNA exógeno e podem evoluir tornando-se patógenos. Conhecem-se três formas básicas de transferência de material genético entre bactérias:

* Biomédica. Pós-doutoranda em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo.

Disciplina de Microbiologia – Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo. E-mail: monica.vieira@unifesp.br

- I. por meio de um fenômeno denominado conjugação, onde o contato com outras bactérias vivas possibilita a transferência de genes de virulência presentes em uma molécula de DNA extra-cromossômica denominada plasmídeo;
- II. captando DNA livre no meio ambiente em um processo denominado transformação e, finalmente,
- III. por um fenômeno denominado transdução ou conversão lisogênica, onde, vírus que infectam bactérias (bacteriófagos) transferem genes de virulência para as mesmas.

Nos anos 90, a descrição, pela primeira vez, de uma enorme região de DNA exógeno incorporada ao genoma de uma amostra de *Escherichia coli* causadora de infecção urinária, originou pesquisas que culminaram com a descoberta das ilhas genômicas (IG) e, dentre elas, as ilhas de patogenicidade.

Ilhas de patogenicidade (PAI)

O conceito de ilha de patogenicidade (pathogenicity islands, PAI) foi introduzido por Hacker e col.¹ em 1990. ao estudar a virulência de amostras de *Escherichia coli* causadoras de infecção urinária (Uropathogenic *E. coli*, UPEC), esses autores observaram uma ligação entre os genes que codificavam fatores de colonização que permitem às UPECs aderirem às células de vias urinárias e o gene responsável pela produção de hemolisina (fator de virulência das UPECs). Esses genes estavam presentes em grandes regiões cromossômicas, que apresentavam características próprias de grande instabilidade.

A partir dessa nova visão, a presença de PAIs foi descrita em diversos microorganismos causadores

de doenças em humanos, como também em patógenos de animais e plantas.

Descritas como grandes elementos genéticos, que apresentam propriedades diferentes do restante do genoma bacteriano e apresentando pelo menos um gene associado à patogenicidade, as PAIs podem também codificar vários fatores de virulência, bem como podem codificar parte ou todo arsenal molecular para que esses fatores consigam alcançar o alvo na célula hospedeira. Um exemplo é o sistema de secreção que é comumente encontrado em enteropatógenos.

Sistemas de secreção são dispositivos moleculares que permitem às bactérias exportar para o interior das células hospedeiras, proteínas denominadas “efetoras”. Um dos sistemas muito bem descrito e encontrado em bactérias que infectam o trato gastrointestinal é o sistema de secreção tipo III (SSTT), onde proteínas são introduzidas na célula hospedeira por meio de uma “seringa molecular” (Figura 1). Uma vez no interior da célula, as proteínas efetoras interagem com domínios de proteínas do hospedeiro, por meio da fosforilação ou transferência de resíduos, que, em geral, resulta em uma cascata de reações que promovem modificações no citoesqueleto, escape de sistema de defesa no interior de fagossomos, morte e outras alterações celulares².

Embora os sistemas de secreção sejam extremamente semelhantes entre as diversas espécies patogênicas, a função ou o alvo da molécula efetora que é translocada por esses sistemas é que vai determinar a estratégia de virulência de um microorganismo em particular.

Em geral, no caso dos sistemas de secreção codificados em ilhas de patogenicidade, as proteínas exportadas causam ou ajudam a causar danos às células hospedeiras, em favor da sobrevivência e multipli-

cação bacteriana. Neste sentido, os sistemas de secreção são essenciais para a patogenicidade de diversos microorganismos.

Embora possuam genes de virulência diversos, conforme os microorganismos que as possuem, as PAIs apresentam várias características em comum.

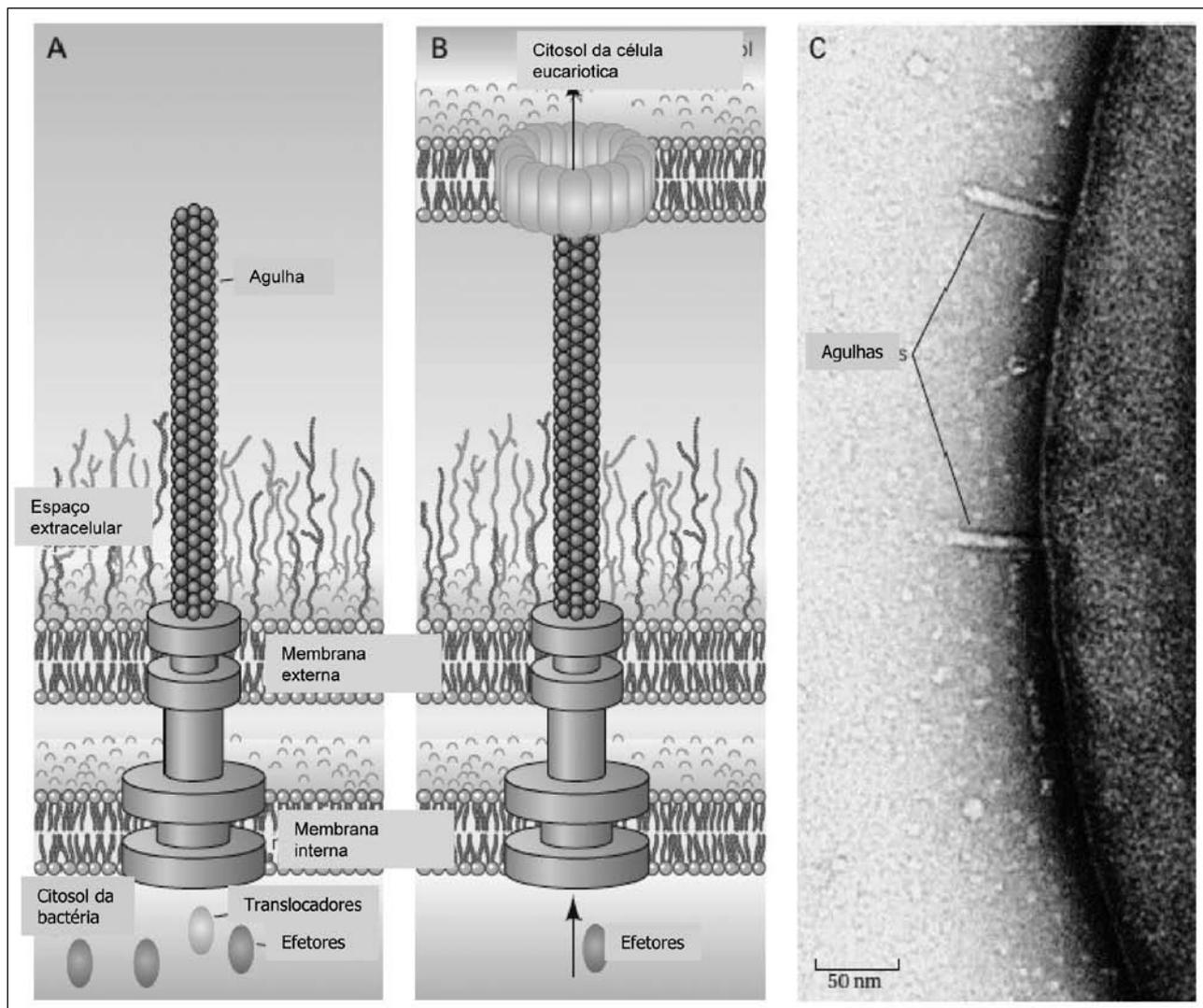
Características das PAIs

As PAIs são segmentos relativamente grandes de DNA (normalmente possuem entre 10.000 a 200.000 pares de bases), que codificam fatores de virulência, como invasinas, adesinas, toxinas, ou componentes que possibilitem a ação dos fatores citados. As PAIs apresentam conteúdo de guanidina e citosina (G+C) diferente do restante do cromossomo, geralmente estão localizadas em regiões específicas no genoma bacteriano, associadas a genes que codificam RNA transportador (RNAt), como *pheU*, *pheV*, *selC* e *leuX 5*, entre outros (Figura 2).

Outra característica interessante encontrada nas PAIs é a presença de fagos temperados, sequências de inserção e integrases (elementos envolvidos na mobilidade genética) nas extremidades da ilha, indicando a presença de “hot spots” (pontos quentes), e significando um local no genoma onde a inserção ou deleção é facilitada. Essa característica também fornece pistas de que a transferência horizontal de grandes fragmentos de DNA seja, provavelmente, a explicação para a aquisição de novos fatores de virulência pelas bactérias. A Figura 2 apresenta um esquema hipotético de como as PAIs colaboram na evolução de um patógeno.

A ausência das PAIs em microorganismos não patogênicos da mesma espécie permitiu que estudos de sequenciamento de DNA e posterior comparação com o DNA de espécies patogênicas levasse à

Figura 1. A. Esquema do sistema de secreção tipo III, aqui apresentado com dois anéis atravessando a membrana e a agulha surgindo da superfície da bactéria. As proteínas efetoras e translocadoras estão estocadas. B. Esquema do SSTT em operação. As proteínas translocadoras formam um poro na membrana da célula alvo e as proteínas efetoras são translocadas para o citosol da célula alvo. C. Microscopia eletrônica da superfície de bactéria com agulhas do SSTT. Baseado, com modificações, em Troisfontaines P. and Cornelis G. R., *Physiology*, 20:326-339, 2005



descoberta de novas ilhas, denominadas ilhas genômicas (Genomic Islands, GI)³. Quando estas ilhas apresentam genes comprovadamente ligados à virulência são denominadas de PAI.

PAIs em patógenos humanos

A Tabela 1 resume as características de PAIs estudadas em pa-

tógenos humanos e de animais. Descreveremos abaixo alguns exemplos de PAIs em bactérias que são importantes causadoras de doenças em humanos.

Escherichia coli enteropatogênica (EPEC)

As EPECs são uma subclasse das *Escherichia coli* causadora de diarreia

infantil, principalmente no primeiro ano de vida, sendo, em diversos países em desenvolvimento, um dos agentes responsáveis por significativa morbidade e mortalidade infantil nessa faixa etária.

O principal fator de virulência das EPECs é a sua capacidade de causar lesões nas células epiteliais do intestino humano (enterócitos), conhecidas como lesões AE ("atta-

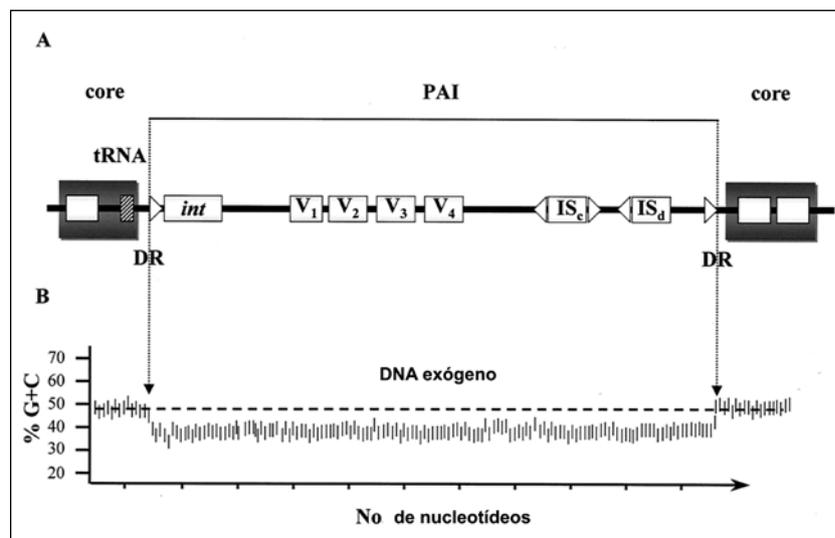
ching and effacing”). A lesão AE é caracterizada pela aderência íntima da bactéria ao enterócito, formação de um pedestal na região de aderência, e destruição das microvilosidades das células do hospedeiro, aspectos que podem ser visualizados por microscopia eletrônica⁴.

Após a descrição do fenômeno AE, MacDaniel e col⁵ demonstraram que todos os genes necessários para provocar essa lesão estavam localizados em uma PAI, que foi denominada LEE (locus of enterocyte effacement). LEE apresenta cerca de 40.000 pares de bases organizados em genes necessários à formação da lesão. Além disso, possui conteúdo G+C diferente do restante do genoma hospedeiro e, na amostra primeiramente estudada, está associada à região de genes que codificam o RNAt *selC*, isto é, todas as propriedades que definem uma PAI.

LEE de EPEC codifica a adesina que irá se ligar à membrana do enterócito, (denominada intimina), uma série de proteínas efetoras que causam modificações no citoesqueleto e na maquinaria da célula hospedeira e o sistema de secreção que possibilitará a transferência das mesmas. Além de todos esses fatores, LEE codifica uma proteína única pela sua função, a proteína receptora da intimina (denominada Tir), que passa através do sistema de secreção e se insere na membrana do hospedeiro, servindo de receptor para a intimina.

Uma informação extremamente interessante, obtida em experimentos de laboratório, é o fato de que, quando LEE foi transferido, por meio de técnicas moleculares, para uma *Escherichia coli* não patogênica, a mesma passou a causar a lesão AE⁶. Essa informação deu aos pesquisadores a noção de que a evolução dos microrganismos pode se dar em “grandes passos”⁷, contrastando, neste caso, com a teoria de Darwin onde a evolução

Figura 2. Estrutura geral de uma PAI. (A) PAIs estão normalmente inseridas no « core » genômico da amostra hospedeira (barra cinza escuro) em sítios específicos que são com frequência genes tRNA or tRNA-like (barra cinza com listas). Genes de mobilidade, como as integrases (*int*), quase sempre se encontram no início da ilha perto tRNA. As PAIs apresentam um ou mais genes ligados à virulência (V1 to V4) e estão comumente intercaladas por outros elementos de mobilidade como sequências IS (*ISc*) ou elementos IS (*ISd*). Os sítios de ligação DRs (triângulos), são usados nos processos de inserção ou deleção. (B) Uma das características das PAIs é um conteúdo G+C diferente do genoma. Essa característica é comumente usada na identificação de uma nova PAI. (Baseado em Schmidt H. & Hensel M. (19), com modificações)



se daria lentamente, em pequenos passos⁸.

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC)

As EHECs são descritas como enterobactérias que produzem citotoxinas específicas e que são capazes de causar diarreia aquosa, às vezes sanguinolenta, e que pode evoluir para síndrome urêmica hemolítica (SHU). A SHU se caracteriza por um conjunto de sintomas que engloba: anemia hemolítica, trombocitopenia e insuficiência renal. A SHU pode ser fatal e é uma das preocupações dos serviços de saúde pública de vários países, como EUA, Inglaterra e Argentina, entre outros, onde a transmissão deste patógeno ocorre

principalmente pela ingestão de carne bovina⁹.

Estudos genéticos de amostras isoladas de surtos de diarreia mostraram que além de possuir genes que codificam a produção de citotoxinas, as EHECs apresentam LEE em seu genoma (o que as capacita a formar lesão AE no epitélio intestinal), além de várias outras PAIs.

Para surpresa dos pesquisadores, LEE de EHEC não confere a propriedade de causar lesão AE quando transferido para uma *Escherichia coli* não patogênica, indicando que em EHEC, diferentemente de EPEC, são necessários outros elementos que não são codificados em LEE para provocar a lesão AE¹⁰ (Figura 3). Recentemente foi descrita uma proteína codificada fora da região LEE, que é necessária para fazer alterações bioquímicas no re-

Tabela 1. Características moleculares e de virulência de PAIs de patógenos bacterianos causadores de doenças em humanos e animais. (Baseado em Schmidt H. & Hensel M. (19), com modificações)

Espécie ^b (patotipo)	Amostra	PAI	Tamanho (pb)	Sítio de inserção	Estabilidade	% G+Cc	Características e determinantes de virulência codificados na PAI
<i>E. coli</i>							
(UPEC)	536	PAI I ₅₃₆	76,843	tRNA <i>selC</i>	Baixa	46.0	Alfa hemolisina, fimbrias, adesinas
(UPEC)	536	PAI II ₅₃₆	102,200	tRNA <i>leuX</i>	Baixa	46.0	Alfa hemolisina, fimbria P, adesina Hek, adesinas semelhantes a hemaglutinina
(UPEC)	536	PAI III ₅₃₆	68,124	tRNA <i>thrW</i>	Baixa	47.0	Fimbria S, sideroforo iro, adesina Sap, protease TSH-like hemoglobina, HmuR-like heme receptor
(UPEC)	536	PAI IV ₅₃₆	30,200	tRNA <i>asnT</i>	Baixa	57.0	Síntese de sideroforo, captação de ferro,
(UPEC)	J96	PAI I _{J96}	>170,000	tRNA <i>pheV</i>	NPd	NP	Alfa hemolisina,
(UPEC)	J96	PAI II _{J96}	>110,000	tRNA <i>pheU</i>	NP	NP	Alfa hemolisina, Prs, (CNF1), hemaglutinina
(UPEC)	CFT073	PAI I _{CFT073}	57,988	tRNA <i>pheV</i>	NP	42.9	Alfa hemolisina, fimbria P, aerobactina
(UPEC)	CFT073	PAI II _{CFT073}	>71,684	tRNA <i>pheU</i>	NP	48.8	Fimbria P, sideroforos
(EHEC)	EDL933	LEE	43,590	tRNA <i>selC</i>	Alta	40.91	Translocação de Tir, T3SS
	68-24	TAI	>8,040	NP	NP	NP	Iha (adesina), TlpA-D (telurito ^R)
	EDL933	OI#7	35,140	tRNA <i>aspV</i>	NP	NP	Toxina para macrófago, ClpB-like chaperone
		OI#28	25,164	<i>ybaT</i>	NP	NP	RTX-like exotoxina, sistema de transporte
		OI#43	87,620	<i>clp</i>	NP	NP	Urease gene cluster
		OI#47	31,726	<i>ycaT</i>	NP	NP	Adesina
		OI#48	87,547	<i>ycaU</i>	NP	NP	Urease gene cluster
		OI#115	16,947	Z4179	NP	NP	<i>spa-inv</i> , determinantes de invasão
		OI#122	23,454	<i>pheV</i>	NP	NP	PagC-like factor
		OI#148	43,417	tRNA <i>selC</i>	NP	NP	LEE
(EPEC)	E2348/69	LEE	35,624	tRNA <i>selC</i>	Alta	38.36	<i>eae</i> , translocação de Tir, T3SS
	E2348/69	EspC	15,195	<i>ssrA</i>	NP	40.5	EspC, ORF3
<i>S. enterica</i>	<i>sv. Typhimurium</i>	SPI-1	40,000	<i>fhIA</i>	Média	42.0	InvA, OrgA, SptP, SipA, SipB, SipC, SopE (T3SS, invasão e enteropatogenicidade)
	<i>sv. Typhimurium</i>	SPI-2	40,000	tRNA <i>valV</i>	Alta	44.3-55.5	SsaJ, SseABC, SpiC (proliferação intracelular; T3SS)
	<i>sv. Typhimurium</i>	SPI-3	17,000	tRNA <i>selC</i>	NP	47.5	MgtC, B, MarT, MisL (proliferação intracelular, captação de magnésio)

Tabela 1. Características moleculares e de virulência de PAIs de patógenos bacterianos causadores de doenças em humanos e animais. (Baseado em Schmidt H. & Hensel M.¹⁹, com modificações (continuação))

Espécie ^b (patotipo)	Amostra	PAI	Tamanho (pb)	Sítio de inserção	Estabilidade	% G+Cc	Características e determinantes de virulência codificados na PAI
	sv. <i>Typhimurium</i>	SPI-4	25,000	<i>ssb/soxSR</i>	NP	37-54	T1SS, secreção de toxinas, morte celular
	sv. <i>Typhimurium</i>	SPI-5	7,000	tRNA <i>serT</i>	NP	43.6	SopB (SigD), PipB (proteínas efetoras para SPI-1 e SPI-2)
	sv. <i>Typhi</i>	PAI principal/SPI-7	134,000-146,900	tRNA <i>pheU</i>	NP	NP	Antígeno Vi, SopE, pili tipo IV
	sv. <i>Typhi</i> CT18	SPI-9	16,000	<i>ssrA</i>	NP	NP	T1SS, RTX-like protein
	(DT104)	SGI	152,415	<i>thdF</i>	NP	41-58 ⁿ	Resistência múltipla a antibióticos, ampicilina ^R (Pse-1), cloranfenicol ^R (FloR, Cat), estreptomicina ^R (AadA2), sulfonamidas ^R (Sul I), and tetraciclina ^R (TetR, TetG)
	ssp. III, IV	HPI	NP	tRNA <i>asnT</i>	NP	NP	FyuA, Irp1, 2, Ybt, YchF (síntese de sideróforos)
<i>H. pylori</i>		cag	37,000-40,000	<i>glr</i>	Baixa	35.0	Translocação de CagA, T4SS, estimulação da síntese de IL-8
<i>S. flexneri</i>	YSH6000T	SHI-1	46,603	tRNA <i>pheV</i>	Baixa	49.0	SigA, Pic (She), Shet1A and Shet1B, Sap (enterotoxinas, proteases)
	SA100/M90T	SHI-2	23,800	tRNA <i>selC</i>	NP	48.6	lucA, lucB, lucC, lucD, lutA aerobactina, imunidade a colicina V
<i>S. boydii</i>	O1392	SHI-3	21,000	tRNA <i>pheU</i>	NP	51.0	Operon da aerobactina (captação de ferro)
<i>S. flexneri</i>	Y53	SHI-O	10,600	tRNA <i>thrW</i>	NP	40.0	GtrA, GtrB, Gtr (biossíntese de lipopolissacarídeo)
	YSH6000	SRL	66,257	tRNA <i>serX</i>	Baixa	49.8	estreptomicina ^R , ampicilina ^R , tetraciclina ^R , captação de ferro

^a tRNA indica a presença do locus genético para tRNA que são adjacentes a PAI. Baixa média e alta instabilidade indica se a PAI apresenta alta frequência de deleção ou está estavelmente inserida no genoma.

^b Amostra usada para caracterização e identificação da PAI.

^c O conteúdo G+C do background inteiro do cromossomo (core) são os seguintes : *E. coli*, 50.5%; *S. enterica*, 52 a 53%; *H. pylori*, 39%;

^d NP, não publicado

ceptor de intimina nessa classe de *E. coli*¹. Essa modificação é importante para que o mesmo desempenhe sua função na interação com a intimina e desencadeie todo processo inicial para formação da lesão AE.

Escherichia coli uropatogênica (UPEC)

A *E. coli* é o agente causador mais comumente isolado em infecções do trato urinário. Utilizando-

se de adesinas específicas, as UPECs podem colonizar diferentes tipos celulares do epitélio urinário e provocar lesões por meio da produção de hemolisina e de uma citotoxina denominada fator necrotizante cito-

tóxico (cytotoxic necrotizing factor, CNF). A hemolisina pode romper hemácias, células endoteliais e células do trato urinário, enquanto que o CNF causa profundas modificações do citoesqueleto, quando no interior das células hospedeiras, culminando em morte celular.

As primeiras descrições desses fatores como pertencentes a PAIs em UPEC foram feitas por Hacker e cols.¹ em uma amostra de UPEC isolada de um caso de pielonefrite. Essa amostra (denominada 536) demonstrou, a princípio, apresentar duas ilhas (PAI I₅₃₆ e PAI II₅₃₆), a primeira continha genes para hemolisina e a segunda genes para hemolisina e fímbria P.

A PAI I₅₃₆ possui mais de 70.000 pares de bases e está associada ao gene *selC*, enquanto a PAI II₅₃₆ está associada ao gene *leuX* e apresenta um pouco mais de 100.000 pares de bases. Posteriormente foram detectadas pelo menos mais duas PAIs nessa amostra.

Outros autores¹², estudando a amostra J96, também isolada de pielonefrite, descreveram duas novas PAIs: a PAI I₉₆ contendo os genes codificadores para hemolisina e fímbria P, está associada a *pheV* e apresenta mais de 170.000 pares de bases; e a PAI II₉₆, com 110.000 pares de bases, que se encontra integrada a *pheU* e codifica para hemolisina e para CNF.

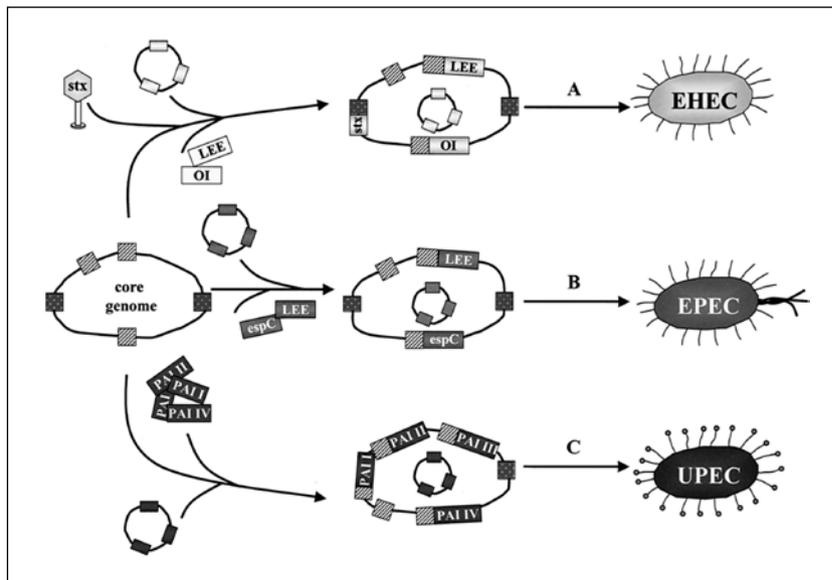
Até o momento já foram descritas sete PAIs em uma outra amostra de UPEC isolada de pielonefrite (amostra CFT073)^{13,14}. Do mesmo modo foram identificadas algumas GIs, cujo papel na patogenicidade dessa amostra está sendo atualmente investigado¹⁴.

Salmonella enterica

Salmonella enterica compreende várias subespécies (sorotipos), sendo a maioria isolada de casos clínicos, como a *Salmonella* Typhimurium. A

Figura 3. Modelo de desenvolvimento de PAI em *E. coli* patogênica.

Neste modelo básico, DNA externo é adquirido por uma *E. coli* ancestral, por exemplo uma amostra habitante normal do intestino dos vertebrados, A, em EHEC, um plasmídeo associado à virulência, pelo menos um bacteriófago portando genes para toxina *stx* e várias ilhas genômicas foram adquiridos e mantidos devido a adaptação específica em determinados ambientes. As Ilhas genômicas podem estar envolvidas no desenvolvimento de doenças como: diarreia e síndrome urêmica hemolítica, após colonização do intestino grosso (A), diarreia aquosa após colonização do intestino delgado (B), infecção do trato urinário após colonização e produção de hemolisinas (C). Esses eventos provavelmente levaram ao desenvolvimento dos patótipos específicos de *E. coli*, exemplos de EHEC (A), EPEC (B), and UPEC (C). Genes de tRNA e sítios de incorporação de bacteriófagos estão indicados por retângulos cinza claro com pontos e retângulos cinza escuro, respectivamente. *stx*, Shiga toxin gene; OI, O-island; *espC*, *E. coli* secreted protease gene. (Baseado em Schmidt H. & Hensel M.¹⁹, com modificações)



salmonelose é uma infecção do trato intestinal, causada principalmente por alimentos ou pelo contato com pessoas contaminadas, os sintomas da salmonelose são dor abdominal e diarreia com muco, que pode se estender por vários dias devido à capacidade da *Salmonella* de invadir o epitélio intestinal.

A maioria dos fatores de virulência da *Salmonella* está codificada em genes agrupados em várias PAIs no cromossomo bacteriano denominadas SPI (*Salmonella* Pathogenicity Islands). A capacidade de invasão da *Salmonella* Typhi-

murium está codificada em genes localizados em uma PAI denominada SPI-1. Além de codificar proteínas que capacitam a invasão de células do hospedeiro, existem na SPI-1, genes que codificam uma série de proteínas para o sistema de secreção. Através desse sistema de secreção passam proteínas efetoras que, uma vez dentro da célula intestinal, atuam na célula hospedeira, causando modificações no citoesqueleto e, conseqüentemente no arcabouço celular, possibilitando desse modo a entrada da bactéria¹⁵.

Além da invasão do epitélio, a *Salmonella* Typhimurium é capaz de causar infecções sistêmicas, por meio da proliferação dentro do organismo do hospedeiro. Essa capacidade se deve a proteínas codificadas em outra PAI, denominada SPI-2. Essas proteínas protegem a bactéria dos mecanismos de defesa desencadeados pelos fagócitos, quando esta é fagocitada. Dessa maneira a *Salmonella* Typhimurium consegue sobreviver e se multiplicar nas células destinadas à defesa dos tecidos e destruição dos microorganismos. Essa segunda ilha de patogenicidade, SPI-2, também codifica seu próprio sistema de secreção.

A SPI-1 apresenta, aproximadamente, 40.000 pares de bases e, fugindo à regra, não está associada a genes de RNAt, enquanto que a SPI-2, de tamanho semelhante, está associada a genes de RNAt *avalV*.

Uma outra ilha, SPI-3, embora menor (17.000 pares de bases), também codifica elementos que permitem a sobrevivência da *Salmonella* no meio intracelular. Foram descritas outras PAIs em *Salmonella* que não possuem seu próprio sistema de secreção e realizam suas funções por meio de um verdadeiro consórcio, utilizando os sistemas codificados em SPI-1 e SPI-2. A identificação de genes de virulência por meio de estudos em modelo animal permitiu a descrição da sexta PAI em *Salmonella* Typhimurium¹⁶. Atualmente se conhecem mais de onze PAIs nesse gênero bacteriano.

Esse intrincado sistema de proteínas que fazem uma conexão entre si, torna a *Salmonella* um enteropatógeno extremamente complexo, que consegue atravessar a barreira gastrointestinal e sobreviver dentro de células fagocitárias.

Helicobacter pylori

O *H. pylori* é uma bactéria que infecta a mucosa estomacal tornan-

do-se o agente causador da maioria dos quadros de gastrite. Esse microorganismo é capaz de viver no meio hostil do estômago devido ao fato de possuir uma via única de adaptação ao meio ácido do estômago. Essa capacidade se deve a produção de uma enzima, denominada urease, que converte a uréia em bicarbonato e amônia, a qual neutraliza o ácido do meio gástrico.

O fato da mucosa estomacal ser protegida de seu próprio ácido pela existência de uma fina camada de muco, permite que o *H. pylori* se multiplique nessa camada e fique protegido da resposta imune do hospedeiro.

Na maioria dos indivíduos infectados pelo *H. pylori* o quadro é assintomático, mas algumas pessoas podem desenvolver úlcera gástrica ou duodenal.

O principal fator de virulência do *H. pylori* é a produção da proteína CagA que, de maneira semelhante à intimina de EPEC, interage com diversas proteínas após sua translocação, atuando no citoesqueleto da célula hospedeira e provocando a formação de pedestais, além de causar proliferação das células da mucosa gástrica¹⁷.

O gene para produção de CagA (*cytotoxin associated gene*), está localizado na PAI *cagA*, de cerca de 40.000 pares de base, que, diferentemente de outras PAIs, não está associada a genes de RNAt, mas sim ao gene da enzima glutamato racemase. A presença de genes codificadores das proteínas do sistema de secreção na PAI *cagA* também demonstrou ser essencial para a patogenese do *H. pylori*¹⁸.

A PAI *cagA* também apresenta sequências genéticas que são necessárias para o estímulo da síntese de interleucina 8 (IL-8) pela célula hospedeira, essa interleucina é responsável pela resposta inflamatória observada na mucosa gástrica¹⁸. Análises moleculares dessa PAI em

amostras isoladas de pacientes mostraram que existe uma correlação entre a integridade genética da ilha e a severidade da doença.

Considerações finais

As recentes tecnologias de análise de sequências genéticas revelaram que as PAIs, na verdade, são um mosaico de genes, e não uma sequência contínua de genes enfileirados. Esse mosaico se formou por meio da aquisição de genes obtidos pela transferência horizontal de DNA (entre células não parentais), durante a evolução da bactéria. Esse fato é corroborado pela constatação da existência de diversas sequências de inserção observadas nas PAIs.

Algumas PAIs são geneticamente instáveis, como as das UPECs e a do *H. pylori*, enquanto que as PAIs de EPEC, EHEC e *Salmonella* são extremamente estáveis. A explicação da estabilidade nestas últimas, pode ser devido a perda ou inativação de genes que permitiriam mobilidade genética nesses patógenos.

A grande quantidade de sequências de inserção e de genes de fagos apresentadas pelas PAIs sugere que os bacteriófagos seriam os principais responsáveis pela sua formação.

A compreensão sobre a estrutura peculiar das PAIs que inclui a associação a genes de RNAt e conteúdo G+C diferente do restante do genoma hospedeiro, aliada ao desenvolvimento da bioinformática, tem possibilitado a detecção de novas ilhas genômicas. Esses conhecimentos permitem avanços no estudo da patogenicidade e evolução microbiana, bem como na detecção de patógenos emergentes.

Como já foi mencionado anteriormente neste artigo, essas regiões de DNA organizadas que compõem as ilhas genômicas e, dentre elas, as

PAIs aqui comentadas, constituem um mecanismo utilizado pela natureza para promover variabilidade genética de uma forma muito mais

agressiva que aquela divisada por Darwin. Neste caso, a transferência de operons completos de uma célula para outra, muito frequentemente

sem o limite de barreiras de gênero e espécie, tem o potencial de modificar rapidamente a capacidade adaptativa dos microorganismos.

REFERÊNCIAS

1. Hacker J, Bender L, Ott M, Wingender J, Lund B, Marre R, Goebel W. Deletions of chromosomal regions coding for fimbriae and hemolysin occur in vitro and in vivo in various extraintestinal *Escherichia coli*. *Microbial Pathog.* 1990;8:213-25.
2. Mota LJ, Sorg I, Cornelis GR. Type III secretion: The bacteria-eukaryotic express. *FEMS Microbiology Letters.* 2005;252:1-10.
3. Juhas M, van der Meer JR, Gaillard M, Harding RM, Hood DW, Crook DW. Genomic islands: tools of bacterial horizontal transfer and evolution. *FEMS Microbiol Rev.* 2009;33:376-93.
4. Dean P, Maresca M, Kenny B. EPEC's weapon of mass subversion. *Curr Opin Microbiol.* 2005;8:28-34.
5. MacDaniel TK, Jarvis KG, Donnenberg MS, Kaper JB. A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:1664-8.
6. MacDaniel TK, Kaper JB. A cloned pathogenicity island from enteropathogenic *Escherichia coli* confers the attaching and effacing phenotype on *E. coli* K-12. *Mol Microbiol.* 1997;23:399-407.
7. Groisman EA, Ochman H. Pathogenicity islands: bacterial evolution in quantum leaps. *Cell.* 1996;87:791-4.
8. Hacker J, Carniel E. Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity. A Darwinian view of the evolution of microbes. *EMBO reports.* 2001;2:376-81.
9. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2:123-40.
10. Elliot SJ, Yu J, Kaper JB. The cloned locus of enterocyte from enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 is unable to confer the attaching and effacing phenotype upon *E. coli* K-12. *Infect Immun.* 67:4260-4263.
11. Spears KJ, Roe AJ, Gally DL. A comparison of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* pathogenesis. *FEMS Microbiol Letters.* 2006;255:187-202.
12. Swenson D, Bukanov N, Berg D, Welch R. Two pathogenicity islands in uropathogenic *Escherichia coli*: cosmid cloning and sample sequencing. *Infect Immun.* 1996;64:3736-43.
13. Kao JS, Stucker DM, Warren JW, Mobley HL. Pathogenicity island sequence of pyelonephritogenic *Escherichia coli* CFT073 are associated with virulent uropathogenic strains. *Infect Immun.* 1997;65:2812-20.
14. Lloyd AL, Rasko DA, Mobley HLT. Defining genomic islands and uropathogenic specific genes in uropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 2007;189:3532-46.
15. Grassl GA, Finlay BB. Pathogenesis of enteric *Salmonella* infections. *Curr Opin Gastroenterol.* 2008;24(1):22-6.
16. Sonya CC, Alison Bowen A, Morgan E, Maskell DJ, Wallis T S, Stevens MP. Role in virulence and protective efficacy in pigs of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium secreted components identified by signature-tagged mutagenesis. *Microbiology.* 2007;153(6):1940-52.
17. Costa AC, Figueiredo C, Touati E. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2009;14(Suppl 1):15-20.
18. Graham DY, Yamaoka Y. H. *pylori* and *cagA*: relationship with gastric cancer, duodenal ulcer, and reflux esophagitis and its complications. *Helicobacter.* 1998;3(3):145-51.
19. Schmidt H, Hensel M. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17(1):14-56.
20. Sonya C. C., Alison Bowen A., Morgan E., Maskell D. J., Wallis T. S. Stevens M. P. 2007. Role in virulence and protective efficacy in pigs of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium secreted components identified by signature-tagged mutagenesis. *Microbiology.* 153(Pt 6):1940-1952.
21. Costa A. C. , Figueiredo C., Touati E. 2009. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 14 Suppl 1:15-20.
22. Graham D. Y. & Yamaoka Y. 1998. H. *pylori* and *cagA*: relationship with gastric cancer, duodenal ulcer, and reflux esophagitis and its complications. *Helicobacter* 3(3):145-151.
23. Schmidt H. & Hensel M. 2004. Pathogenicity islands in bacterial pathogenesis. *Clin. Microbiol. Rev.* 17(1):14-56.

Recebido em 25 de agosto de 2009
Aprovado em 28 de setembro de 2009