

DETECÇÃO DOS DETERMINANTES GENÉTICOS DA PRODUÇÃO DA AUREOCINA A70 EM ESTIRPES DE *STAPHYLOCOCCUS COAGULASE-NEGATIVOS* ASSOCIADOS À MASTITE BOVINA.

Nascimento¹, JS; Fagundes¹, PC; Brito², MAVP; Giambiagi-deMarval¹, M; Bastos¹, MCF

¹Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro-RJ, e ²EMBRAPA - Gado do Leite², Juiz de Fora-MG.

jann.rj@uol.com.br

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, bacteriocinas, mastite bovina.

Bacteriocinas (Bac) são peptídios que possuem atividade antimicrobiana com potencial de uso na indústria de alimentos, como biopreservativos, ou na prevenção e controle de doenças infecciosas. Nosso laboratório vem, há alguns anos, estudando a produção de bacteriocinas por estirpes de *Staphylococcus aureus* de diversas origens, das quais podemos destacar as aureocinas A70 e A53 (produzidas por estirpes isoladas de leite comercial), 215FN e 146L (produzidas por estirpes isoladas de gado bovino saudável) e MB92 (produzida por uma estirpe isolada de paciente hospitalizado). Atualmente, 188 estirpes de *Staphylococcus coagulase-negativos* (SCN) isoladas de casos de mastite bovina também vêm sendo estudadas. Dentre essas estirpes, 12 mostraram ser produtoras de substâncias antimicrobianas (SAM). Para demonstrar se existe alguma semelhança entre as SAM produzidas pelas estirpes de SCN isoladas de casos de mastite bovina e as Bac produzidas pelas estirpes bacteriocinogênicas já caracterizadas em nosso laboratório, foram realizados experimentos de imunidade/resistência. Observou-se que, dentre as 12 estirpes SAM⁺ associadas à mastite bovina, 3 delas (3154, 3528, e 3576) apresentaram imunidade cruzada com a Bac produzida pela estirpe A70 (estirpe hospedeira do plasmídeo bacteriocinogênico pRJ6), uma vez que foram capazes de inibir a estirpe A70 Bac⁻ (curada do plasmídeo pRJ6), mas não a estirpe A70. A não inibição de uma estirpe por outra pode ser decorrente, ou da produção de SAM idênticas ou muito semelhantes (cujas proteínas de imunidade poderiam reagir cruzadamente) ou da resistência à Bac. Essa discriminação, no entanto, somente poderia ser feita estudando-se os genes envolvidos na produção de SAM. Já havia sido verificado por eletroforese em gel de agarose que essas estirpes possuíam um plasmídeo de tamanho similar ao pRJ6 (8 kb). Decidimos, portanto, detectar nessas estirpes a presença de genes associados à produção de Bac semelhantes aos encontrados em pRJ6. Esses experimentos foram realizados através da técnica de PCR, utilizando-se os iniciadores P4B e P5 para amplificar o operon *aurABCD* (525 pb), que contém os genes estruturais da aureocina A70. Verificou-se que as 3 estirpes (3154, 3528 e 3576) amplificaram o fragmento de 525 pb, indicando a presença de genes semelhantes aos que codificam a aureocina A70. Estas estirpes SAM⁺, juntamente com as demais estirpes associadas à mastite bovina e as 5 estirpes bacteriocinogênicas de *S. aureus* (A70, A53, 146L, MB92 e 215FN) foram testadas ainda quanto à capacidade de inibição de várias estirpes de *Streptococcus*, também associadas à mastite bovina. Verificou-se que, apesar das estirpes 3154, 3528 e 3576 amplificarem o operon *aurABCD*, as mesmas apresentaram um perfil de inibição de estirpes de *Streptococcus* diferente, tanto entre si quanto daquele apresentado pela A70. Isso sugere que outros fatores, além do operon *aurABCD* estejam envolvidos na capacidade de inibição apresentada por essas estirpes

Apoio financeiro: PRONEX, FAPERJ