

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio en Ciencias Agropecuarias
Maestría en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

**IDENTIFICACIÓN DE GENES DE PATOGENICIDAD EN CEPAS DE
Salmonella enterica enterica AISLADAS DE FAUNA SILVESTRE EN
CAUTIVERIO EN SINALOA**

Que para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA:

MAYRA GISELL LÓPEZ SALAZAR

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GABRIELA SILVA HIDALGO

Culiacán, Sinaloa, México; de enero de 2018

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio en Ciencias Agropecuarias
Maestría en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

**IDENTIFICACIÓN DE GENES DE PATOGENICIDAD EN CEPAS DE
Salmonella enterica enterica AISLADAS DE FAUNA SILVESTRE EN
CAUTIVERIO EN SINALOA**

Que para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA:

MAYRA GISELL LÓPEZ SALAZAR

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GABRIELA SILVA HIDALGO

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Mc. Martin López Valenzuela

Culiacán, Sinaloa, México; de enero de 2018

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio en Ciencias Agropecuarias
Maestría en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

IDENTIFICACIÓN DE GENES DE PATOGENICIDAD EN CEPAS DE *Salmonella enterica enterica* AISLADAS DE FAUNA SILVESTRE EN CAUTIVERIO EN SINALOA

Que para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA:

MAYRA GISELL LÓPEZ SALAZAR

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GABRIELA SILVA HIDALGO

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Mc. Martín López Valenzuela

ASESORES

Dr. Héctor Samuel López Moreno

Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado

Dr. Felipe Juárez Barranco

Culiacán, Sinaloa, México; de enero de 2018

DEDICATORIA

A dios, que me ha cuidado y concedido la dicha de vivir grandiosas experiencias a lo largo de mi vida.

A mis padres, que me han brindado su apoyo y amor incondicional, por ese pedazo de vida que han dedicado a cuidarme. La fortaleza y seguridad que me han brindado, enseñándome que todo esfuerzo tiene recompensa y que ningún sueño es imposible, permitiéndome jamás dejar de soñar, razón por la cual me he convertido en lo que soy. Siendo mi fuerza y mi motor para perseguir y cumplir todas las metas en mi vida.

A mis hermanos, por todos los momentos en los que me han apoyado, los consejos que me han brindado y todas las pruebas que he superado a su lado así como todos aquellos momentos difíciles que tornaron en buenos recuerdos.

A mi familia en general que ha estado estado conmigo en las buenas y en las malas, que me han enseñado a no rendirme, que se puede lograr lo que te propongas, que no hay obstáculos que no se puedan superar y que sin importar lo que suceda siempre podre contar con su apoyo y amor incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi directora y tutora de tesis Dra. Gabreila Silva Hidalgo, por su vocación docente, por su dedicación, por sus esfuerzos y compromiso, orientándome en el trascurso de mi trabajo. La paciencia que tuvo y su motivación me exhortaban a comprometerme aún más con mi responsabilidad. Usted me enseñó que los errores no deben decepcionarnos, que estos solo representan un impulso para mejorar día con día; que los límites nos los ponemos nosotros y debemos aprender a vencerlos. Gracias a la confianza que me brindó, sus consejos, enseñanza y sabiduría se como afrontar de la mejor manera los problemas y obstáculos. Recordaré con gratitud todas sus enseñanzas y agradezco todos los momentos inolvidables que hemos vivido, faltándome las palabras para agradecerle todo el apoyo que me ha brindado.

También agradezco a MC. Martín López Valenzuela, Dr. Felipe Juárez Baranco, Dra. Margarita del Socorro Dávila Paredes por despertar el goce de la expresión creativa del conocimiento, así como sus consejos y apoyo recibido en el transcurso de mi labor, muchas gracias. Sin que falte mencionar a MC. Alberto Garfio Romero por motivarme y auxiliarme durante la elaboración del mismo.

A mis asesores Dr. Hector Samuel López Moreno y Dr. José Guadalupe Rendón Maldonado, con sus observaciones y sugerencias me ayudaron a culminar la elaboración del presente trabajo.

A mis compañeros de maestría los cuales me dieron palabras de aliento y apoyo, me hicieron reír y disfrutar de los pequeños y grandes momentos a lo largo de esta etapa.

A mis amigos que me brindaron su apoyo incondicional en el transcurso de la elaboración de mi labor.

De corazón muchas gracias

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	¡Error! Marcador no definido.
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCION.....	¡Error! Marcador no definido.
II. ANTECEDENTES	¡Error! Marcador no definido.
2.1. Generalidades	¡Error! Marcador no definido.
2.2. Sistema de Secreción tipo III	¡Error! Marcador no definido.
2.3. Fimbrias y flagelos	11
2.3.1. Fimbrias.....	11
2.3.2. Flagelos.....	14
2.4. Islas de patogenicidad.....	16
2.5. Vias de señalizacion celular	21
2.6. Patogenía	23
2.7. Genes de patogenicidad.....	27
2.7.1. Gen <i>sopB</i>	27
2.7.2. Gen <i>prgH</i>	28
2.7.3. Gen <i>sopE</i>	28
2.7.4. Gen <i>invA</i>	29
2.7.5. Gen <i>sitC</i>	30
2.7.6. Gen <i>spiC</i>	31
2.7.7. Gen <i>sifA</i>	32
2.7.8. Gen <i>misL</i>	33
2.7.9. Gen <i>orfL</i>	34
2.7.10. Gen <i>pipD</i>	34
2.7.11. Gen <i>iron</i>	35
2.7.12. Gen <i>pefA</i>	36
III. HIPOTESIS	37

IV. OBJETIVOS	38
4.1. Objetivo General	38
4.2. Objetivos Específicos	39
V. MATERIALES Y METODOS	40
5.1 Lugar de estudio.....	40
5.2 Tamaño de la muestra	40
5.3. Procesamiento de las muestras	4 ¡Error! Marcador no definido.
5.3.1. Oligonucleotidos.....	4 ¡Error! Marcador no definido.
5.3.2. Reaccion en cadena de la polimeraza PCR.....	¡Error! Marcador no definido.3
5.3.3. Electroforesis.....	¡Error! Marcador no definido.3
5.4. Análisis estadístico de los resultados	¡Error! Marcador no definido.3
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
6.1. Gen <i>prgH</i>	44
6.2. Gen <i>sopB</i>	47
6.3. Gen <i>sopE</i>	48
6.4. Gen <i>invA</i>	51
6.5. Gen <i>orfL</i>	¡Error! Marcador no definido.
6.6. Gen <i>sitC</i>	¡Error! Marcador no definido.
6.7. Gen <i>spiC</i>	¡Error! Marcador no definido.
6.8. Gen <i>sifA</i>	¡Error! Marcador no definido.
6.9. Gen <i>misL</i>	¡Error! Marcador no definido.
6.10. Gen <i>pipD</i>	60
6.11. Gen <i>iroN</i>	¡Error! Marcador no definido.
6.12. Gen <i>pefA</i>	63
6.13. Serovares.....	65
5.14. Discusión.....	¡Error! Marcador no definido.6
VII. CONCLUSIÓN.....	70
VIII. LITERATURA CITADA	71

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1	Islas de patogenicidad	17
2	Genes de virulencia	19
3	Clasificación de los serovares en cepas de <i>Salmonella</i>	40
4	Gen <i>prgH</i> muestras positivas	45
5	Gen <i>sopE</i> muestras positivas	49
6	Gen <i>orfL</i> muestras positivas	53
7	Gen <i>sitC</i> muestras negativas	55
8	Gen <i>misL</i> muestras negativas	59
9	Gen <i>iroN</i> muestras negativas	62
10	Gen <i>pefA</i> muestras positivas	64
11	Genes amplificados	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Sistema de Secreción Tipo III	5
2	Modelo del SSTIII en <i>Salmonella</i>	10
3	Modelo del SSTIII y sus proteínas efectoras	11
4	Transferencia horizontal de la bacteria	14
5	Estructura del flagelo	16
6	Esquema del genoma de <i>Salmonella</i>	21
7	Modelo de la patogenicidad de <i>Salmonella</i>	25
8	Mecanismo de inflamación	26
9	Gel de agarosa del gen <i>prgH</i>	44
10	Gel de agarosa del gen <i>sopB</i>	47
11	Gel de agarosa del gen <i>sopE</i>	48
12	Gel de agarosa del gen <i>invA</i>	51
13	Gel de agarosa del gen <i>orfL</i>	52
14	Gel de agarosa del gen <i>sitC</i>	54
15	Gel de agarosa del gen <i>spiC</i>	56
16	Gel de agarosa del gen <i>sifA</i>	57
17	Gel de agarosa del gen <i>misL</i>	58
18	Gel de agarosa del gen <i>pipD</i>	60
19	Gel de agarosa del gen <i>iroN</i>	61
20	Gel de agarosa del gen <i>pefA</i>	63
21	Gel de agarosa de la amplificación de genes	69

RESUMEN

En el presente estudio se identificaron genes de patogenicidad en cepas de *Salmonella enterica enterica* aisladas de fauna silvestre en cautiverio del estado de Sinaloa; a partir de 83 cepas de *Salmonella enterica enterica* obtenidas del zoológico de Culiacán y acuario de Mazatlán, Sinaloa, clasificadas en distintos serovares: Albany, O: E2 H:r.-, O: C1 H: en x:-, Weltevreden, Braenderup, San Diego, Oranienburg, Derby, Poona, Saintpaul, Panama, Pomona, Newport, Enteriditis, Javiana, Give, Agona y sp. De las cepas de *Salmonella* se recuperaron ADN extraído de las muestras conservadas en microtubos a una temperatura de -20 °C. Para la identificación de los genes se utilizó la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR del inglés **P**olimerase **C**hain **R**eaction) mediante la metodología utilizada por (Biswas *et. al.* 2011). De los 12 genes analizados. Los genes que amplificaron en el 100% de las muestras (83/83): *invA*, *sopB*, *sipC*, *sifA*, *pipD*. *orfL* se observó en un 96.4%, *prgH* 43.3%, *sitC* 96.4%, *iroN* 96.4%, *misL* 94% *pefA* 22.8% y en un *sopE* 28.9%;

Palabras claves: *Salmonella*, *Salmonella enterica enterica*, serovares, genes de patogenicidad y fauna silvestre.

ABSTRACT

In the present study pathogenicity genes were identified in 83 strains of *Salmonella enterica enterica* isolated from wild animals of Sinaloa; from Culiacan Zoo and Mazatlan, Aquarium, classified in different serovars: Albany, o E2 h:r.-, h O: C1: x: - Weltevreden, Brænderup, San Diego, Oranienburg, Derby, Poona, Saintpaul, Panama, Pomona, Newport, enteritidis, Javiana, Give, Agona, sp. From the strains DNA were recovered and extracted from the samples preserved in microtubes at 20°C. The genes were identification by Polymerase Chain Reaction (PCR) using the methodology used by (Biswas et. to the. 2011). 7 genes have been analyzed. Those genes that was magnified in the 100% of the samples (83 / 83): *invA*, *sopB*, *sipC*, *sifA*, *pipD*. *orfL* was observed in 96.4%, *prgH* 43.3%, *sitC* 96.4%, *iroN* 96.4%, *misL* 94% *pefA* 22.8% and *sopE* 28.9%;

Key words: *Salmonella*, *Salmonella enterica enterica*, serovars, pathogenicity genes and wildlife.

I. INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una enfermedad de índole zoonótica de alto impacto en salud pública en países en desarrollo de Latinoamérica, Asia y África, con rangos de prevalencia desde 200 a 500 casos por 100,000 habitantes, siendo de suma importancia ya que juega un papel en los animales de vida libre y actúan como portadores de este patógeno (Costerton, 1995; Silva *et al.*, 2012; Sanderson *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 2013). *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram-negativos que se divide en más de 2600 serovares (Sanderson *et al.*, 2013; Terragno *et al.*, 2003). Los microorganismos del género *Salmonella* están extensamente diseminados en la naturaleza como comensales y como patógenos del aparato digestivo, todas las salmonelas son potencialmente patógenas (Stanchi 2007; Mahajan *et al.*, 2003) al ser bacterias intracelulares y utilizan a los macrófagos en los que se encuentran, se diseminan por el organismo aprovechando la vía linfática y sanguínea (Suter, 1956; Stanchi, 2007). Las propiedades de virulencia de *S. enterica* se asocian con muchos determinantes moleculares (Dione, 2011). *Salmonella* es la única bacteria descrita que contiene dos Sistemas de Secreción Tipo III (T3SS del inglés **T**ype **S**ecretion **S**ystem); estos son mecanismos dedicados a la translocación de proteínas que permiten a las proteínas bacterianas de patogenicidad ser liberadas directamente en el citosol de células hospederas. El T3SS de *Salmonella* es codificado en distintos grupos de genes llamados islas de patogenicidad (SPI del inglés **S**almonella **P**athogenicity **I**sland) que tienen un importante papel durante el proceso de infección, ya que son componentes estructurales del T3SS a través del cual, se favorece la colonización e invasión bacteriana (Sánchez *et al.*, 2010; Perrett y Zhou, 2011; Shimizu, 2013; Ochoa y Rodríguez, 2005). Las SPI son porciones de ADN cromosómico que han sido adquiridos de otros microorganismos por transferencia horizontal, en dichas porciones se encuentran genes implicados en codificar proteínas que cumplen con diversas funciones en el proceso de invasión (Sánchez *et al.*, 2010; Bäumler *et al.*, 1997). Actualmente se han identificado 14 SPI en diferentes serovares, pero solo cinco están bien caracterizadas en *Salmonella*. Varios genes involucrados en la invasión, apoptosis de macrófagos y activación de cascadas de fosforilación

dependientes de MAP cinasas se encuentran en el centisoma 63, formando la isla de patogenicidad 1 (SPI-1). Los genes localizados en las islas SPI-2 y SPI-3 regulan la supervivencia y replicación bacteriana en los compartimientos intracelulares de fagocitos y células epiteliales. La isla SPI-4 codifica un supuesto sistema de secreción tipo I y se cree que participa en la adaptación en ambientes intracelulares. Finalmente la isla SPI-5 codifica para factores involucrados en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal (Anjum y Thomson, 2013; Kaise *et al.*, 2013; Dione, 2011; Sterzenbach *et al.*, 2013; Shah *et al.*, 2005). La función de los genes de la SPI-1 son: *prgH* de 756 pb codifica la proteína PrgH componente estructural del complejo aguja y participa en la invasión del macrófago; *sopB* de 220 pb invasión del macrófago; *sopE* de 652 pb reorganización del citoesqueleto e invasión al macrófago; *invA* de 282 pb codifica una proteína necesaria para la invasión del macrófago; *sitC* de 768 pb invasión del macrófago y adquisición de hierro. Los genes de la SPI-2 son: *spiC* de 301 pb le permite a la bacteria sobrevivir en el macrófago; *sifA* 449 pb supervivencia en el macrófago. Gen presente en la SPI-3: *misL* de 561 pb supervivencia en el macrófago. SPI-4: *orfL* de 332 pb contribuye en la supervivencia en el macrófago y la colonización; SPI-5: *pipD* de 399 pb participa en la enteritis. Los genes *iroN* de 1205 pb asociado con el uso de hierro y el gen *pefA* de 156 pb asociado al movimiento no han sido asignados a una SPI (Dione, 2011; Sánchez *et al.*, 2010; Darwin y Miller 1999; Hughes *et al.*, 2008). Debido a una regulación coordinada y precisa de los genes de virulencia *Salmonella* logra adaptarse a cambios ambientales que se le presentan durante el proceso infeccioso (Miao y Rajan, 2011; Sánchez *et al.*, 2010). *Salmonella* está presente en animales en cautiverio como portadores asintomáticos, sin embargo la enterobacteria al tener un comportamiento oportunista puede llegar a causar afecciones en estos animales. Los genes de patogenicidad tales como (*prgH*, *sopB*, *sopE*, *invA*, *sitC*, *spiC*, *sifA*, *misL*, *orfL*, *pipD*, *iroN* y *pefA*) presentes en *Salmonella* son de suma importancia ya que son fundamentales en la supervivencia bajo diferentes condiciones ambientales, aportando una resistencia bacteriana (Ochoa y Rodríguez, 2005; Dione, 2011; Silva *et al.*, 2014; Sterzenbach *et al.*, 2013).

II. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades

Las bacterias pertenecientes al género *Salmonella* son patógenos bacterianos Gram-negativos el cual está conformado por 2500 serovares distribuidos en dos especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*. Algunos serovares son capaces de infectar una amplia gama de huéspedes (generalistas), mientras que otros sólo causan enfermedad en un huésped particular (especialistas). *Salmonella* Enteritidis es un serovar generalista que infecta a mamíferos y aves causando una infección de tipo tifoidea en ratones susceptibles y transporte asintomático en gallinas. En los seres humanos, representa una causa importante de gastroenteritis de origen alimentario. Por el contrario, *Salmonella* Typhi es un serovar especialista que infecta sólo a los seres humanos, causando la enfermedad sistémica fiebre tifoidea (Espinoza *et al.* 2017, Haraga y Miller 2008).

Los mecanismos moleculares por los cuales *Salmonella* interactúa con las células del huésped y manipula la respuesta que da como resultado a la inducción de respuestas inflamatorias y enfermedad sistémica. Específicamente, la identificación de proteínas bacterianas que involucran el proceso de invasión de células epiteliales, estimulación y represión de cascadas de señalización, detección del ambiente intracelular y establecimiento de un nicho para la replicación intracelular han contribuido a conocimientos sobre la compleja patogénesis de esta bacteria (Haraga y Miller 2008).

Bacterias penetrantes o productos bacterianos puedan desencadenar inmunidad innata Receptor de tipo Toll (TLR señalización) Investigaciones sobre el sistema inmune innato han revelado que varias moléculas asociadas a *Salmonella* denominadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), incluyendo Lipopolisacárido (LPS) y flagelina, son potentes inductores de respuestas proinflamatorias en células cultivadas que expresan los TLRs apropiados (Hapfelmeier *et al.*, 2005).

2.2. Sistema de secreción tipo III (SST3) en *Salmonella*

Las propiedades de virulencia de *Salmonella enterica* se asocian con muchos determinantes moleculares; como son las proteínas codificadas por genes localizados en *Salmonella*, islas de patogenicidad (SPI) que tienen un muy importante papel durante el proceso de infección, ya que son componentes estructurales del Sistema de Secreción Tipo III (SST3), o efectores que inyectan a través de este dispositivo supramolecular, y permiten que las bacterias colonicen e invadan la mucosa y establezcan la infección sistémica posterior.

El término "secreción" es usado para describir el transporte activo de proteínas del citoplasma a través de las membranas internas y externas en el sobrenadante bacteriano o en la superficie de la célula bacteriana. La secreción es distinta de la exportación, la cual se refiere al transporte de proteínas del citoplasma en el espacio periplásmico.

Los sistemas de secreción Tipo I y Tipo III transportan las proteínas directamente del citoplasma de la bacteria hasta el citoplasma de la célula eucariótica, sin pasar por el periplasma. *Salmonella* es la única bacteria descrita que contiene dos sistemas de secreción tipo III; estos son mecanismos dedicadas a la translocación de proteínas que permiten a las proteínas bacterianas de patogenicidad ser liberadas directamente en el citosol de células hospederas eucarióticas. El análisis de la bioquímica de los factores de patogenicidad secretados por el sistema tipo III han producido fascinantes conocimientos dentro de sofisticadas y altamente adaptadas interacciones bacteria - hospedero lo cual conduce a la remodelación de la bioquímica de la célula hospedera y vías de transducción de señales para facilitar la infección bacteriana, colonización y replicación dentro del hospedero (Ochoa y Rodríguez 2005).

Los sistemas de secreción de tipo III de bacterias son parte del autoensamblaje; el flagelo bacteriano que permite a las células propulsarse a través de líquido y a través de superficies hidratadas, e inyectar proteínas efectoras patógenas en eucariotas. Aunque el flagelo e inyección poseen acciones diferentes, están relacionados evolutivamente y comparten muchas similitudes estructurales. Las características básicas de estos sistemas SST3 son intrínsecas.

Los sistemas de secreción tipo III facilitan la capacidad de virulencia de los patógenos bacterianos Gram-negativos. Ellos son parte del complejo mecanismo

que incluyen el flagelo bacteriano, que confiere motilidad, y secreta proteínas desde el citoplasma bacteriano infectante hasta el huésped eucariota (Wee *et al.* 2015). El sistema de secreción tipo III está compuesto por un organelo considerable llamado el complejo aguja. La arquitectura de este complejo semeja el complejo cuerpo basal del gancho flagelar, sugiriendo una relación evolucionaria entre estas dos estructuras. El complejo aguja se extiende entre la membrana interna y externa de la pared bacteriana. Está compuesto de dos pares de anillos internos y externos que presumiblemente anclan la estructura a la membrana interna y externa de la pared bacteriana. Los anillos están conectados por una estructura como de vara, las cuales forman la base del complejo. Una estructura aguja de 80 nm de longitud sobresale afuera de la base del complejo. La estructura entera es de 100 nm de largo y de 40 nm de diámetro en la parte más ancha (Figura 1) (Sánchez *et al.* 2010).

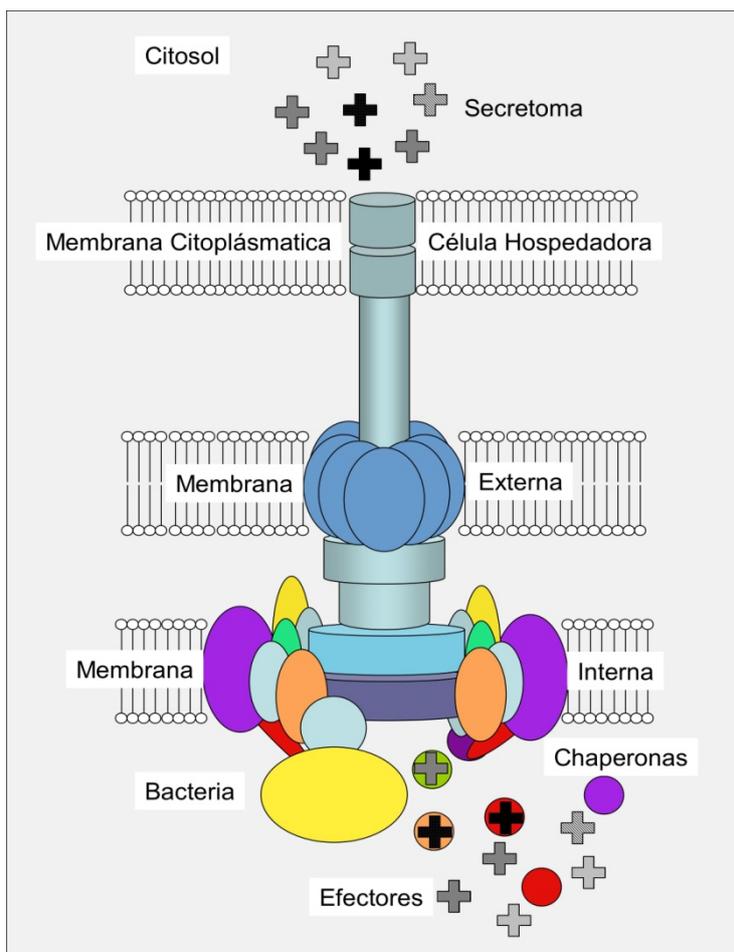


Figura 1. Esquema del Sistema de Secresion tipo III. Compuesto por anillos internos u externos que se anclan a la membrana interna y externa dedicadas a la

traslocación de proteínas que permiten a las proteínas bacterianas de patogenicidad ser liberadas directamente en el citosol de la célula hospedera (Sánchez *et al.*, 2010).

La longitud para las proyecciones celulares externas, como: el gancho del flagelo y la aguja inyectable. Donde se presenta evidencia de que el sistema SPI-1, secreta proteínas como: InvJ, para determinar la aguja este resultado ofrece un mecanismo de control de longitud variable usando reglas moleculares para sistemas SST3 (Wee *et al.*, 2015). Los mecanismos de control de longitud son el principal componente de la inyección y flagelar basal. El gancho y la aguja son importantes para su función. Encontrando que ambos sistemas usan una regla molecular secretada para determinar la longitud de efectos a escala nanométrica, para la comprensión de los mecanismos de control de la longitud en estos sistemas patógenos bacterianos y un modelo biológico para la construcción controlada de nanomateriales (Wee *et al.* 2015).

El sistema de secreción tipo III del centisoma 63 dirige la exportación de varias proteínas regulatorias y estructurales, formadoras de canales, lipoproteínas, moléculas efectoras para células hospederas, chaperonas, entre otras. Algunas de estas proteínas transitoriamente ensamblan una estructura apendicular llamada invasoma, mientras otras son translocadas en la célula hospedera donde ellas activan o interfieren con las vías de transducción de señales célula hospedero conduciendo a una variedad de respuestas (Sánchez *et al.*, 2010).

Estas respuestas son dependientes del tipo de célula infectada. En células no fagocíticas, *Salmonella* induce cambios en la membrana plasmática de la célula hospedera, y profundos rearrreglos del citoesqueleto que se parecen estructuralmente al *ruffling* (por sus siglas en ingles) de membrana inducido por varios agonistas, como hormonas, factores de crecimiento, activación de oncogenes celulares. El *ruffling* de membrana es acompañado por macropinocitosis que en última instancia conduce a la internalización bacteriana (Figura 2 y 3). En macrófagos *Salmonella* induce efectos citotóxicos caracterizados inicialmente por una rápida inhibición del *ruffling* de membrana y macropinocitosis, seguido por la inducción de muerte celular apoptótica (Sánchez Jiménez 2003).

Estos efectores pueden alterar las funciones celulares del huésped, tales como arquitectura citoesquelética, tráfico de membranas, transducción de señales Y

expresión de genes de citoquinas, con el fin de promover la supervivencia bacteriana y la colonización. Comprendiendo más de 20 proteínas, algunas forman una estructura supramolecular que se conoce como el complejo de aguja (Haraga y Miller 2008).

Salmonella typhimurium utiliza dos sistemas de secreción tipo III (TTSS), que permiten la administración de las llamadas proteínas efectoras en el citoplasma de las células huésped que es esencial para la patogénesis de las diversas especies de salmonellas y la colonización de los tejidos del huésped (Hagar y Miller 2008, Hapfelmeier *et al.* 2005).

Las proteínas liberadas al medio externo deben de pasar por la membrana interna, el espacio periplásmico y finalmente la membrana externa para lo cual las bacterias Gram negativas han desarrollado diferentes sistemas de secreción (SSTI-V) (Ochoa y Rodriguez 2005).

Uno de los principales factores de virulencia de *Salmonella* es el Sistema de secreción tipo III (T3SS) localizado en SPI-2. Implicados en la supervivencia en macrófagos durante la infección inicial. Los genes que codifican las proteínas efectoras de los mismos se transcriben más en presencia de los brotes, genes que codifican proteínas efectoras (SifA), se transcriben más en presencia de brotes que juegan un papel en la interacción patógeno-huésped formando estructuras que contienen glicoproteínas lisosómicas (Brankatschk *et al.* 2014).

Este sistema secreta proteínas dentro del citosol de las células diana, que manipulan la célula huésped en cascadas de señalización. Se sugiere que estas proteínas efectoras tienen múltiples actividades dentro de las células huésped; Por ejemplo, SopB está involucrado en la invasión y la activación de Akt, que causa la secreción de lípidos y la formación de *Salmonella* con vacuola (SCV).

La mayoría de los genes que codifican para esta virulencia se localizan en las SPI. Genes que codifican proteínas efectoras tales como SopE que están codificados por fagos o restos de fagos, estos sistemas de secreción permiten la internalización bacteriana y la supervivencia dentro de eucariotas, Incluyendo macrófagos (De Jong *et al.* 2012, Molina *et al.* 2015).

Las salmonellas codifican dos virulencias distintas asociadas T3SSs dentro de las islas de patogenicidad 1 y 2 de *Salmonella* (SPI1 y SPI2) que funcionan en diferentes momentos durante la Infección.

La isla de patogenicidad 2 (SPI2) en el SST3 es expresado dentro del fagosoma y transloca los efectores a través de la membrana vacuolar. El sistema de la SPI1 ha sido demostrado ser necesario para la invasión de células no fagocíticas, Inducción de respuestas inflamatorias intestinales Y la diarrea, así como la colonización del intestino. La SPI2 T3SS, por el contrario, tiene un papel importante la supervivencia bacteriana en macrófagos y el establecimiento de enfermedad sistémica, estas respuestas son dependientes del tipo de célula infectada en células no fagocíticas (Haraga y Miller 2008, Sánchez *et al.*, 2010).

Hasta la fecha, la SPI-1 y SPI-2 son las más estudiadas. La SPI-1 es esencial para la invasión e iniciación de enteropatogénesis. En contraste, los genes codificados por SPI-2 son necesarias para el metabolismo bacteriano y la replicación dentro de la célula huésped. Estudios previos han demostrado que SPI-1 es esencial para la colonización de la salmonella en el intestino, mientras que ambas SPI-1 y SPI-2 son necesarias para la colonización en el bazo y el hígado (Braukmann *et al.*, 2015).

La SPI-2 secreta proteínas efectoras que manipulan el tráfico vesicular y, por tanto, mejoran la supervivencia intracelular. Las investigaciones sobre el sistema inmune innato han revelado que varias moléculas asociadas a la *Salmonella* denominadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), incluyendo LPS y flagelina, que son potentes inductores de respuestas proinflamatorias en células cultivadas que expresan los TLRs apropiados (Hapfelmeier *et al.*, 2005).

Los factores de virulencia de *Salmonella* podrían simplemente comprometer la función de la barrera epitelial o aumentar la colonización bacteriana de células epiteliales y la lámina propia; las concentraciones locales elevadas de PAMP podrían activar respuestas inmunes innatas y provocar inflamación, por ejemplo, a través de la señalización de TLR dependiente de MyD88. Este sistema permite a ciertos bacilos Gram negativos secretar e inyectar proteínas de patogenicidad en el citosol de la célula hospedera eucariótica, estas proteínas inyectadas frecuentemente reensamblan factores eucarióticos con funcionamiento de señales de transducción y son capaces de interferir con vías de señalización de la célula hospedera. Se demostró in vitro que las proteínas efectoras translocadas a través del SPT-1 TTSS

reorganizan la estructura celular del huésped, desencadenan la invasión en fibroblastos y células epiteliales, establecen un nicho intracelular permisivo, inducen la expresión de citoquinas proinflamatorias y quimiocinas. Promover la trans migración de granulocitos polimorfonucleares (PMN) a través de las capas de células epiteliales, e inducir la muerte celular (Hapfelmeier *et al.* 2005, Ochoa y Rodríguez 2005).

El SSTIII de *Salmonella* presenta las siguientes características: la proteína secretada no presenta secuencia señal amino-terminal que tenga que ser liberada, varias de las proteínas efectoras requieren de chaperonas específicas para su secreción; para la activación completa del sistema, se requiere de una señal inductora, que generalmente es el contacto con la célula del hospedero, lo cual permite la translocación de las proteínas efectoras dentro del citoplasma de la célula huésped. Se han reconocido sistemas homólogos en otras bacterias patógenas: *Yersinia*, *Erwinia*. y *Pseudomonas* entre otras. Cabe mencionar que varios componentes del SSTIII son similares a las proteínas Fli/FliH involucradas en la biosíntesis del flagelo. Los componentes estructurales del SSTIII de la SPI-1 pueden ser divididos en categorías que incluyen: ATPasa de membrana interna, como InvC, que posee secuencias similares a la subunidad β de F₀F₁; proteínas de membrana interna, ejemplificadas por InvA, SpaP/InvL, SpaQ/InvM y SpaR/InvN; proteínas de membrana externa, donde se incluye InvG, proteína con secuencia similar a la familia de secretinas formadoras de poro y lipoproteínas como PrgK y PrgH. InvG, PrgK y PrgH forman la base de una estructura supramolecular llamada complejo aguja, consiste en 4 anillos conectados por un bastón, los anillos inferiores interactúan con la membrana interna, tienen un diámetro de 40 nm. y un ancho de 20 nm; los anillos superiores interactúan con la membrana externa y el peptidoglicano, tienen un diámetro de 20 nm y un ancho de 18 nm; se extiende a la superficie formando una estructura que se asemeja a una aguja de 80 nm de largo y 13 nm de ancho cuyo componente principal es PrgI, PrgJ controla su longitud. InvE permite el correcto ensamblaje del complejo aguja e interviene en la regulación del proceso de secreción, disparando los eventos intracelulares que permiten la invasión. InvH se requiere para la correcta localización de InvG. La proteína InvA es considerada como una de las más importantes para el ensamblaje del SST3 y

exportación de proteínas efectoras, esto lo demuestra un sinnúmero de ensayos utilizando mutantes en el gen *invA*.

La porción C-terminal de MxiA, complementa los defectos de invasión en mutantes de *invA* indicando, que esta porción de MxiA es funcional y estructuralmente homóloga a InvA. Mientras que InvJ/ SpaN y SpaO/InvK son de las primeras proteínas efectoras en secretarse y se cree que permiten la activación del proceso de secreción. InvA es una proteína de membrana interna, involucrada en la formación de un canal, su porción amino-terminal es hidrofóbica, con ocho dominios transmembranales, de por lo menos 20 aminoácidos, mientras que su porción carboxi-terminal hidrofílica, localizada en el citoplasma puede interactuar con otros componentes del sistema. El gen *invA* es el primer gen de un operón que contiene también los genes *invB* e *invC*. Al ser mutado el gen *invB*, no se afecta el proceso de invasión, sugiriendo que no se requiere para la entrada de la bacteria a la célula del huésped (Ochoa y Rodríguez 2005).

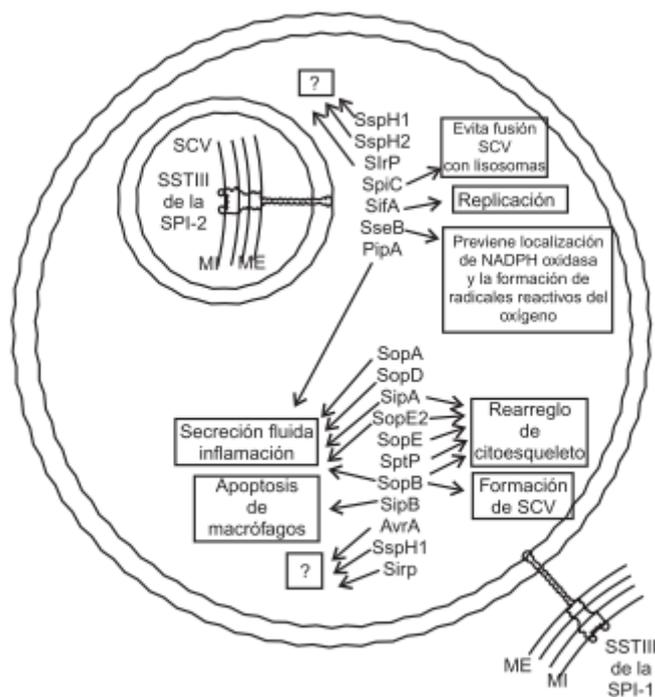
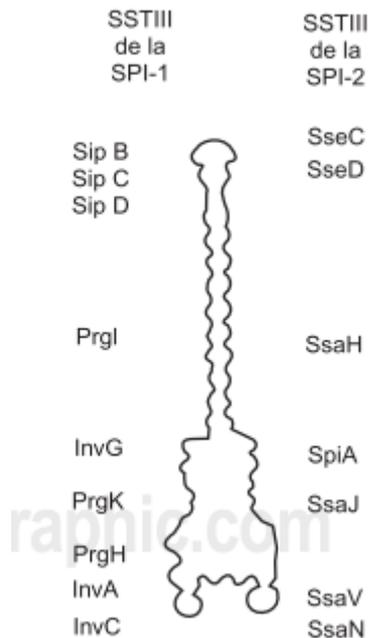


Figura. 2 Modelo de los sistemas de secreción tipo III de Salmonella (Ochoa y Rodríguez 2005).



Figuran 3. Modelo de los sistemas de secreción tipo III de *Salmonella* y sus proteínas efectoras (Ochoa y Rodríguez 2005).

2.3. Fimbrias y flagelos

Las fimbrias y flagelos, son componentes de la superficie proteicas expresadas por muchas bacterias. También son elementos importantes para la virulencia a través de la invasión bacteriana inicial del tracto intestinal por la mediación de la adherencia a las células epiteliales del intestino. Específicamente *Salmonella* (fimbrias se adhieren las bacterias a las células M del intestino).

2.3.1. Fimbrias

Estas estructuras filamentosas, también conocidos como pili, se encuentran en la membrana externa de *Salmonella* y son típicamente de 2 a 8 nm de ancho y de 0,5 a 10 micras de largo. Son vellosidades, que les permiten la fijación a ciertas superficies, se componente de una mezcla heterogénea de proteínas, identificadas en la superficie de la célula.

Las fimbrias son importantes en la superación de las fuerzas electrostáticas de “repulsión” entre bacterias incluyendo otras bacterias y tejidos, su estructura es una varilla fimbrial compuesta de proteínas con un tamaño 15-25 kDa.

El primer papel funcional de las fimbrias es como:

- Receptor de bacteriófago
- Permiten la adhesión a superficies, tejidos para formar biopelículas
- Participa en la fijación de las células infectadas así como la transferencia de ADN

Se clasifican:

- Se basa en las propiedades físicas tales como la unión y antigenicidad
- En base a sus vías de montaje
- En base al análisis molecular y análisis comparativo de secuencias, en operones secuenciados y su presencia de serovares por métodos en la hibridación
- Se dividen en dos clases: sensible a manosa (MS) o manosa resistente (MR)
- Manosa sensible: se basa en la capacidad de la manosa monosacáridos para inhibir la adhesión de las fimbrias a los eritrocitos (hemaglutinación).

Tipos de fimbrias:

- Fimbrias tipo I
- Fimbrias tipo II
- Fimbrias tipo III
- Fimbrias tipo IV

Las fimbrias tipo I son sensible a manosa

- Aglutinantes de bacterias
- Actúa como un poro que permite transferir pilina al filamento
- Secretando en el espacio periplasmático durante su ensamblaje

Las fimbrias tipo II son resistentes a manosa

- Descrita como variantes no hemaglutinantes

Fimbrias tipo III

- Son resistentes a manosa
- Miden la aglutinación de eritrocitos tratados con ácido tánico en presencia de α -D- manosa

Fimbria tipo IV

- Son manosa resistente
- Tienen varios efectos sobre la formación de biopelículas

Fimbrias de tipo IV, estas generan fuerzas móviles y el extremo del pilus se adhiere al sustrato sólido u otra bacteria, y la posterior contracción del pilus desplaza la bacteria hacia delante, de forma no muy diferente a la de un gancho de agarre. El movimiento producido por el pilus suele ser a tirones, a través de una rápida extensión y retracción de la fimbria.

Las fimbrias se utilizan en la conjugación bacteriana para transferir material genético, esta fimbria interconecta dos bacterias de la misma especie o de especie diferente construyendo un puente entre ambos citoplasmas (Figura 4). Permiten la transferencia de plásmidos entre las bacterias a través de este mecanismo de transformación genética, surgen nuevas características ventajosas para la supervivencia (resistencia a los antibióticos) que pueden transferirse entre bacterias, incluso pertenecientes a especies diferentes (Jones 2013 y Baraibar 2012).

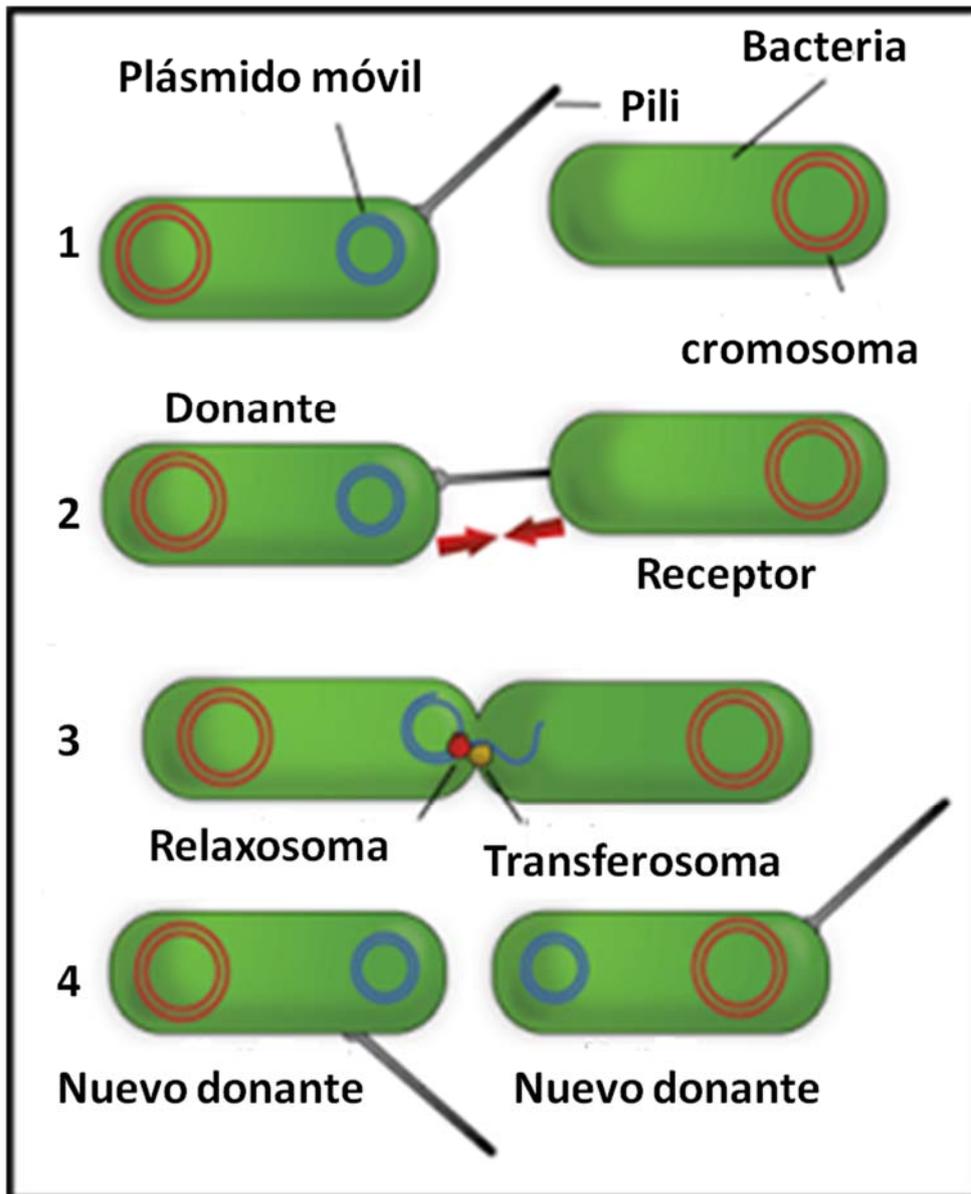


Figura 4. Esquema de la transferencia horizontal de la bacteria

2.3.2. Flagelos

Son orgánulos multi-proteínas filamentosas responsables de la motilidad bacteriana que se ensambla a partir de la proteína flagelina que se utiliza en el esquema de Kauffmann-White para la serotipificación en *Salmonella*. Los flagelos son los principales antígenos de la bacteria que conforman más de 50 genes involucrados en la formación flagelar y estos se encuentran en 3 regiones del cromosoma (I, II Y III)

El sistema flagelar en *Salmonella* tiene tres clases de promotores (los promotores son una especie de conmutador molecular que puede iniciar la expresión de los genes cuando son reconocidos por la ARN-polimerasa y una proteína especializada asociada llamada «factor sigma»). Estas tres clases de promotores son designados de manera bien simple como «Clase I», «Clase II» y «Clase III». Esta transcripción secuencial está vinculada con el proceso del ensamblaje del flagelo.

- Clase I contiene sólo dos genes en un operón (llamado *fthD* y *fthC*).
- Clase II consiste de 35 genes incorporados en ocho operones, involucrados en el ensamblaje del cuerpo basal del codo y de otros componentes del flagelo.
- Aparato de exportación y dos genes reguladores llamados «*fliA*» y «*flgM*») involucrados en la síntesis del filamento están controlados por los promotores de la Clase III. El factor sigma σ_{28} es necesario para activar los promotores de Clase III.

Los promotores de Clase III son responsables de la expresión de los monómeros de la flagelina, del sistema de quimiotaxis y de los generadores de fuerza motriz.

El ensamblaje del flagelo comienza en la membrana citoplasmática, progresa a través del espacio periplasmático y se extiende finalmente al exterior de la célula. Se compone de dos partes principales: el sistema de secreción y la estructura axial (Figura 5) (Jones 2013 y Baraibar 2012).

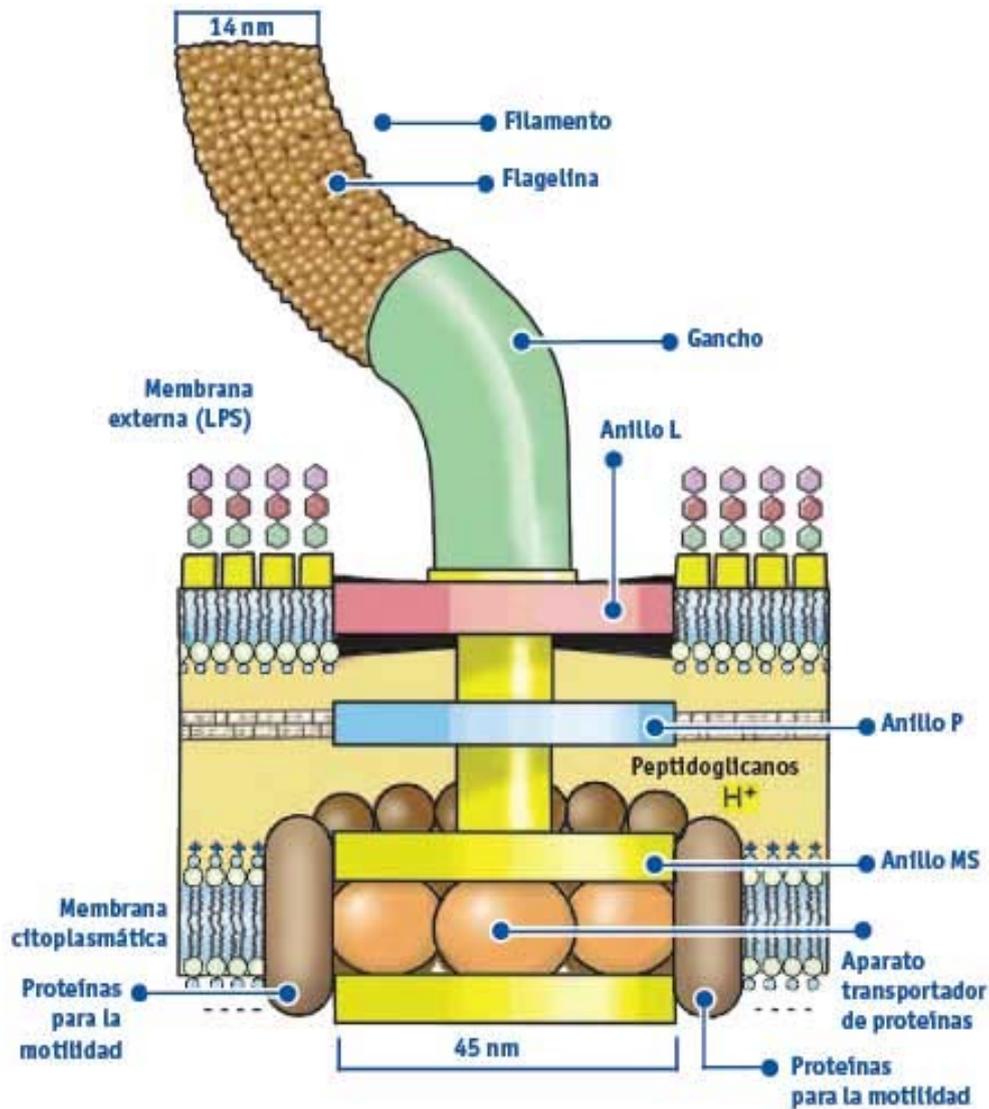


Figura 5. Esquema de la estructura del flagelo

2.4. Islas de patogenicidad

El término SPI fue utilizado inicialmente para describir dos grandes e inestables piezas de ADN cromosomal en *E. coli* enteropatógena, que codifica un número de proteínas reguladoras importantes para la virulencia. Desde su concepción el término ha evolucionado para incluir regiones de expresión de ADN cromosomal esencial para la patogenicidad que no parece ser propio (Sánchez *et al.*, 2010).

Contribuyen a la macroevolución, al desarrollar variantes patogénicas, mientras que el proceso de rearrreglo, delección y transferencia de islas de patogenicidad tiene fuerte impacto en la microevolución y adaptación de los microorganismos patógenos durante el proceso de infección (Ochoa y Rodríguez 2005).

Hasta el momento, 23 Islas de Patogenicidad han sido descritas y caracterizadas. Cinco SPI (SPI-1 a SPI-5) son comunes a todos los serovares de *Salmonella* enterica, mientras que el resto se distribuye entre diferentes serovares y / o cepas (Cuadro 1). Se cree que las islas de patogenicidad y por ende los sistemas tipo III fueron adquiridos horizontalmente a través de una bacteria facilitadora en un "salto cuántico evolucionario" en patogénesis bacteriana (Sánchez *et al.*, 2010, Espinoza *et al.* 2017).

Cuadro. 1 Islas de patogenicidad

Islas de patogenicidad	Función
ISP-1	Translocación de moléculas en el citoplasma
ISP-2	Supervivencia intracelular
ISP-3	Supervivencia intracelular en macrófago
ISP-4	Secreción de toxinas Adaptación a macrófagos
ISP-5	Reacción inflamatoria intestinal

(Ochoa y Rodríguez, 2005)

Salmonella contiene una isla conocida como isla de patogenicidad 1 (SPI-1). Esta isla es responsable de codificar tanto la estructura de proteínas necesarias para crear un complejo de agujas de secreción de tipo III Así como algunos de los efectores secretados responsables de la manipulación de las células huésped. Es requerida para el ingreso de *Salmonella* a la célula hospedera, que está localizada

en su centísoma 63 y en ella se encuentran genes implicados en su patogenicidad. Está dividida en dos grupos de genes que codifican la maquinaria de secreción para invadir la mucosa. Los genes de SPI 1 son expresados en forma máxima a 37°C y bajo condiciones de oxígeno limitado, además la expresión es óptima a pH neutro, a alta osmolaridad, y durante la última fase de crecimiento logarítmico (Baxter et al. 2015, Sánchez *et al.*, 2010).

Los genes de la SPI-1 se expresan principalmente en el Intestino durante las primeras etapas de la invasión, cuando disminuye la expresión de las SPI-1 aumenta la expresión de las SPI-2 dentro de las células epiteliales. La bacteria *Salmonella enterica* cruza el epitelio y reside en el macrófago y vacuolas.

A pesar de este patrón aparentemente recíproco de expresión en el transcurso de la invasión, ambas islas son reguladas por muchas de las mismas proteínas reguladoras globales (Cameron *et al.* 2012).

El T3SS permite que *Salmonella* sobreviva dentro de células eucariotas y se diseminan a órganos internos, como el hígado y el bazo. Ambos SST3 representan cada uno de los tipos de etiología y corresponden a los determinantes de virulencia más importantes en *Salmonella*. Sin embargo, los serotipos de *S. enterica* difieren de manera muy importante de la patogenicidad y la especificidad de los animales, lo que sugiere que los involucrados en la adaptación de diferentes serotipos a huéspedes específicos Y / o ambientes (Blondel *et al.*, 2013).

Las islas de patogenicidad se constituyen por un grupo de genes involucrados en codificar factores específicos de virulencia; su porcentaje de G-C difiere del promedio del genoma bacteriano.

Cuadro 2.

Genes de virulencia y cebadores de PCR para detectar en *Salmonella*

Gen	Secuencia de cebador (5' a 3')	Isla de patogenicidad	Función de genes	Acción
<i>prgH</i>	F:GCCCCGAGCAGCCTGAGAAGTTAGAAA R:TGAAATGAGCGCCCTTGAGCCAGTC	SPI-1	Aparato SST III	Invasión del macrófago
<i>sopB</i>	F:CGGACCGCCCAGCAACAAAACAAGAAGAAG R:TAGTGATGCCCGTTATGCGTCAGTGTATT	SPI-1	Efector Tipo III secreta proteína	Invasión del macrófago
<i>sopE</i>	F:TCAGTTGGAATTGCTGTGGA R:TCCAAAAACAGGAAACCACAC	SPI-1	Efector Tipo III secreta proteína	Invasión del macrófago
<i>invA</i>	F:CTGGCGGTGGGTTTTGTTGTCTTCTCTATT R:AGTTTCTCCCCCTTTCATGCGTTACCC	SPI-1	Aparato SST III	Invasión del macrófago
<i>sitC</i>	F:CAGTATATGCTCAACGCGATGTGGGTCTCC R:CGGGGCGAAAATAAAGGCTGTGATGAAC	SPI-1	Transporte de hierro	Invasión del macrófago/ adquisición de hierro
<i>spiC</i>	F:CGTGATAATGACTATTGAT R:AGTTTATGGTGATTGCGTAT	SPI-2	SST III	Supervivencia en el macrófago
<i>sifA</i>	F:TTTGCCGAACGCGCCCCACACG R:GTTGCCTTTTCTTGCGCTTCCACCCATCT	SPI-2	Efector Tipo III secreta proteína	Supervivencia en el macrófago
<i>misL</i>	F:GTCGGCGAATGCCGCGAATA R:GCGCTGTAAACGCTAATAGT	SPI-3	Supervivencia del macrófago	Supervivencia en el macrófago
<i>orfL</i>	F:GGAGTATCGATAAAGATGTT R:GCGCGTAACGTCAGAATCAA	SPI-4	Adhesión/Auto transporte	Supervivencia en el macrófago/ colonización
<i>pipD</i>	F:CGGCGATTGACTTTGAT R:CGTTATCATTCCGATCGTAA	SPI-5	SST III efector asociado SPP-1	Enteritis
<i>iroN</i>	F:ACTGGCACGGCTCGCTGTCGCTCTAT R:CGCTTACCAGCGTCTGCCACTGC	No identificado	Adquisición de hierro	Asociado con el uso del hierro
<i>pefA</i>	F:GCGCCGCTCAGCCGAACCAG R:CAGCAGAAGCCCAGGAAACAGTG	No identificado	Fimbrias	Movimiento

(Dione, 2011)

Salmonella presenta múltiples genes involucrados en la invasión, localizados en el centisoma 63 que forman la SPI-1; se trata de un segmento de 35-40 kb que contiene 31 genes que pueden ser divididos en categorías que incluyen: genes que codifican el SST3, denominados *invspa*, genes que codifican proteínas involucradas en la translocación de las moléculas efectoras dentro del citoplasma de la célula hospedero y genes que codifican las proteínas efectoras y sus chaperonas, algunas de las cuales se mencionaron anteriormente. A diferencia de otras islas de patogenicidad de *Salmonella* enterica, SPI-1 no está localizada inmediatamente adyacente a genes *tARN vaIV* (Ochoa y Rodríguez 2005).

La SPI-1 codifica determinantes que median: la invasión de células del hospedero no fagocíticas, apoptosis de macrófagos *in vitro* y activación de caminos MAP cinasas y factores de transcripción.

La SPI-2 funciona en los primeros estadios de la infección. Se localiza en el centisoma 31, situada inmediatamente adyacente al gen *tARN vaIV*, su tamaño es de 40 kb y tiene un porcentaje de G-C del 44.6%. Consta de 32 genes que regulan la supervivencia y replicación bacteriana en los compartimentos intracelulares de fagocitos y células epiteliales. Las funciones moleculares de la SPI-2 no han sido

caracterizadas con tanto detalle como las de la SPI-1. Las mutantes en dicha isla son severamente atenuadas en la infección sistémica al ser inoculada oral o intraperitonealmente. La SPI-2 está dividida en dos segmentos, los cuales se obtuvieron en diferentes eventos de transferencia horizontal: la porción más pequeña es de 14.5 kb, contiene un grupo de cinco genes *ttr* involucrados en la reducción del tetratoato y 7 ORFs con función desconocida, parece que no interviene significativamente en la infección sistémica (Ochoa y Rodríguez 2005).

La SPI-3 es acelular en macrófagos, provee productos esenciales para el crecimiento en condiciones limitadas de Mg^{2+} . Su tamaño es 17 kb y tiene un porcentaje de G-C del 39.8-49.3%, está localizada en el centisoma 82 inmediatamente adyacente al gen *tARN selC*. Está transcripcionalmente controlada por PhoP/PhoQ. Alberga 10 ORFs organizados en 6 unidades transcripcionales, incluye al operón *mgtCB* que codifica la proteína MgtC (intramacrophage survival protein) y el transportador de Mg^{2+} de alta afinidad MgtB. (Ochoa y Rodríguez 2005).

La SPI-4 codifica un supuesto sistema de secreción tipo I (SSTI) que media la secreción de toxinas y se cree que participa en la adaptación de *Salmonella* al ambiente intracelular en los macrófagos, es de 27 kb y está compuesta por 18 genes localizados en el centisoma 92.

Finalmente, la SPI-5 es de 7.5 kb se encuentra localizada en el gen *tARN serT*, centisoma 20; su porcentaje de GC es de 43.6%. (Figura 6). Codifica proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, como SopB (SigD) que además de estimular la secreción de cloro, se encuentra involucrada en el flujo de macrófagos, para su secreción utiliza el SSTIII de la SPI-1.22 Otras proteínas codificadas en esta isla son: MarT con secuencia similar a ToxR, proteína reguladora de *V. cholerae*, las mutantes se ven afectadas en su capacidad para producir salmonelosis entérica pero no salmonelosis sistémica y PipA que es secretada y translocada vía el SSTIII de SPI-2. *sopB*, *pipC*, *pipB* y *pipA*, están contenidos dentro de la misma unidad transcripcional cuya expresión es regulada por SsrAB. Ninguna de las mutantes en la SPI-5 se alteró en su crecimiento *in vitro* o en su capacidad de invadir células Hela comparada con la cepa silvestre (Ochoa y Rodríguez 2005).

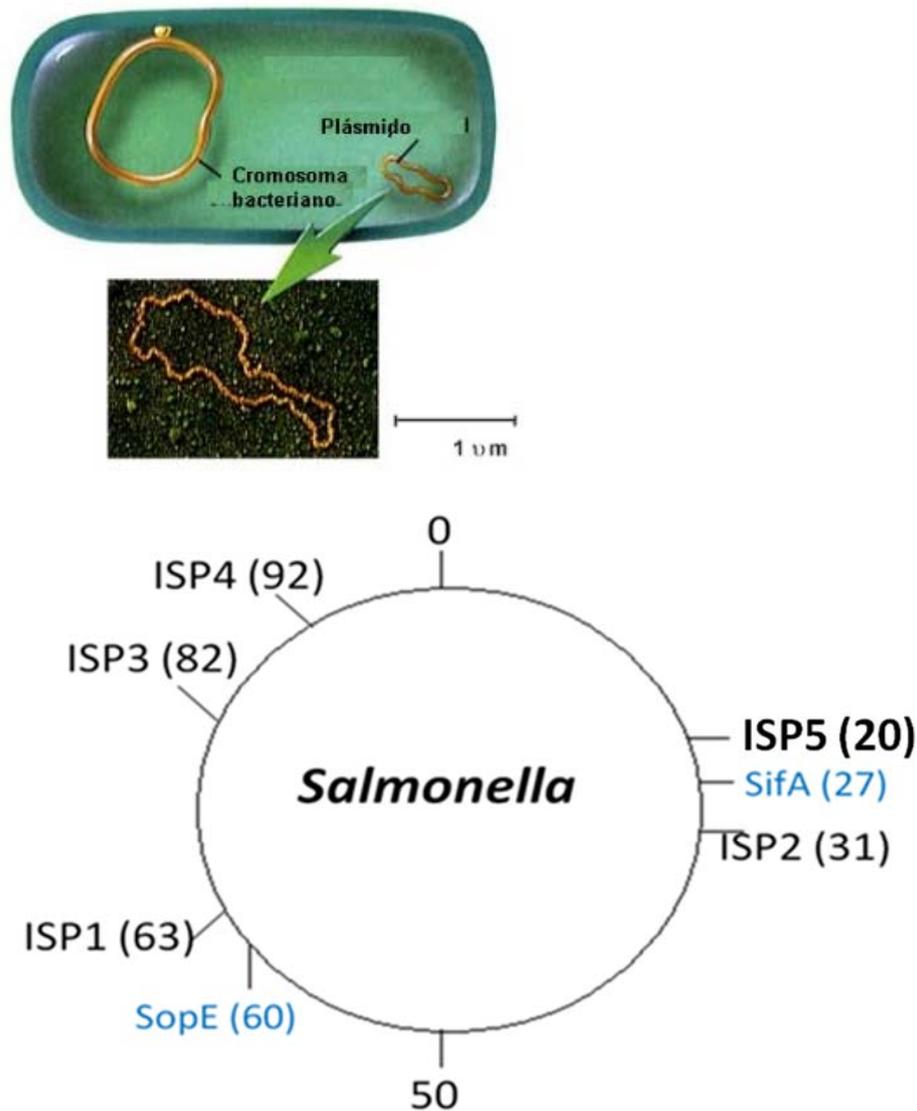


Figura 6. Esquema del genoma de *Salmonella* y su localización de las islas de patogenicidad en el cromosoma (Ochoa y Rodríguez 2005).

2.5. Vías de señalización celular

Existen diferentes propuestas sobre las vías de señalización inducidas por proteínas inyectadas por *Salmonella* que provocan rearrreglo del citoesqueleto de la célula eucariótica e internalización de la bacteria.

Una vía es la propuesta por Brett Finlay y colaboradores quienes proponen que la *Salmonella* inyecta en la célula eucariótica las proteínas SopE y SptP transportadas por el sistema de secreción tipo III e inyectadas por el complejo en aguja en la célula eucariótica, donde SopE activa las proteínas CDC42, que están en forma inactiva en el citoplasma de la célula eucariótica ligando GDP, al activarse esta proteína CDC42

liga GTP, aumentando la fosfolipasa G y por medio de los segundos intermediarios inositol trifosfato y diacil glicerol aumenta la concentración de calcio permitiendo el re arreglo del citoesqueleto. La proteína SptP estaría implicada en la fosforilación de los residuos de tirosina de receptores ubicados al nivel de la membrana de la célula eucariótica, produciéndose así también la disrupción del citoesqueleto y el *ruffling* de membrana.

La otra vía de señalización propuesta es la del grupo de trabajo del Dr. Jorge Galán, quien dice que la *Salmonella* inyecta por medio del complejo en aguja proteínas transportadas por medio del sistema de secreción tipo III como SopE, SopB que al ingresar en la célula eucariótica activan las proteínas Cdc42 y Rac1 que ligan GDP que se encontraban inactivas pasando el GDP a GTP.

Estando Cdc42 y Rac 1 activadas induce la activación de la kinasa p21 que a su vez activa a la protein kinasa activada por mitógenos iniciándose una cascada de señalización de segundos mensajeros como P38, Jan kinasa e inositol kappa beta, kappa alfa que inducen el factor nuclear kappa beta y el inositol kappa beta, toda esta señalización produce la activación de respuesta nuclear en la célula eucariótica. Se cree que las proteínas Cdc42 y Rac1 también podrían activar la proteína del síndrome de Wiscot Aldrich que estaría involucrada en el rearreglo del citoesqueleto de actina. Otra vía señalizada por Cdc42 y Rac1 es por medio de la fosfolipasa A2 que degrada el ácido araquidónico en varios compuestos por intermedio de la 5 lipooxigenasa produciendo leucotrienos A4, C4 y D4 que se cree, aumentan la permeabilidad de la membrana celular eucariótica permitiendo la entrada de calcio y produciendo el rearreglo del citoesqueleto o *ruffling* de membrana que permite la entrada de *Salmonella* sin que la célula eucariótica oponga resistencia.

Estas dos vías presentan elementos en común y son muy aceptadas para explicar cómo sucede la entrada de *Salmonella* a las células epiteliales del intestino delgado. Estas señales inducidas por *Salmonella* son de vida corta. Después de la infección bacteriana las células hospederas retoman su morfología normal. Este fenómeno es mediado por la proteína SptP que también es liberada por el sistema de secreción tipo III y vuelve a su estado inactivo a las proteínas Cdc42 y Rac 1.

El entendimiento de las vías de transducción de señales de la célula hospedera que son activadas por *Salmonella*, los determinantes bacterianos responsables de activar estas vías de señalización, y los mecanismos por los cuales la bacteria estimula la respuesta celular por el contacto cercano con las células hospederas, son el punto

de partida para desarrollar estrategias a mediano y largo plazo de prevención de las infecciones producidas por *Salmonella*, como por ejemplo vacunas, mediante el bloqueo de genes como los descritos anteriormente que están involucrados en el proceso de invasión (Sánchez *et al.*, 2010).

Como las células dendríticas (DC). Estas células comprenden las células Compartimento que une la inmunidad innata y adaptativa, debida A su capacidad única de: capturar patógenos en el sitio de Infección, migrar a los ganglios linfáticos y procesar eficientemente las proteínas antígenos para presentación sobre moléculas de MHC a células T. Después de detectar los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) expresadas por bacterias, DCs periféricas (es decir, intestinales Y mucosas respiratorias) se activan y sufren cambios funcionales durante la maduración. De la saturación, los DCs requieren una capacidad presentes en las moléculas de MHC yup-regula la superficie expresión de moléculas coestimuladoras, incluyendo CD80, CD86 y CD40. Además, el aumento de la expresión superficial de complejos de péptido-MHC (pMHC) y co-estimulación las moléculas pueden ser más eficaces.

La capacidad de los estados Infección por enfermedad de la glándula mamaria Las bacterias patógenas tienen evolucionó estrategias moleculares para evitar la activación de las células T por los países en desarrollo, en relación con la presión impuesta por lo que se cree que estos atributos bacterianos son *Salmonella typhimurium*, Subespecie I, es una de las especies bacterianas más estudiadas. Patógenos que pueden difundirse sistemáticamente desde el sitio Infección (Bueno *et al.* 2007).

2.6. Patogenia

Salmonella debe de encontrar y adherirse a uno o más tipos de células del tejido intestinal. Algunos mecanismos de adhesión pueden involucrar varios tipos de fimbrias o pili, que ayuden a la bacteria a conseguir contacto cerrado con las células hospederas y además a permitir la interacción de factores que estimulan la migración transepitelial de neutrófilos (Sánchez Jiménez 2003).

Después de la ingestión, la bacteria resiste el ambiente ácido del estómago y seguidamente coloniza el intestino delgado, penetra las células epiteliales y migra a la lámina propia de la región ileocecal, se multiplica en los folículos de la región linfoide presentándose hiperplasia e hipertrofia reticuloendotelial. Los

polimorfonucleares neutrófilos son estimulados y la infección se limita, en el caso de enteritis, a nivel del tracto gastrointestinal. Si son serotipos productores de fiebre entérica no son retenidas a este nivel sino que migran a hígado y bazo por circulación hemática (Sánchez Jiménez 2003).

Cuando la bacteria se acerca a la superficie epitelial, las microvellosidades circundantes empiezan a degenerarse con elongación, edema y crecimiento en un proceso llamado *ruffling* (rizado). *Salmonella* invade las células del hospedero por un mecanismo conocido como disparo (*trigger*) (Ochoa y Rodriguez 2005).

Salmonella envía señales a las células epiteliales que inducen rearrreglos del citoesqueleto dando lugar a la formación de ondulamiento (*ruffling*) en su superficie, como respuesta al contacto. Se reconocen proteínas efectoras de la SPI-1, involucradas en los rearrreglos del citoesqueleto: SopE y SopB.

Aquí, los efectores interactúan con las proteínas de la célula hospedera para rearrreglar el citoesqueleto de actina e inducir cambios morfológicos que en últimas causan que estas células, normalmente no fagocíticas, internalicen la bacteria en un proceso llamado invasión.

Las interacciones entre especies de *Salmonella* y células hospederas son íntimas y complejas. Esta bacteria es hábil en explotar las funciones celulares pre existentes del hospedero y usar estas funciones para su propio beneficio. Esto se ha visto durante la invasión, cuando *Salmonella* utiliza las señales de transducción del hospedero, lo cual afecta el re arreglo del citoesqueleto y proteínas superiores de membrana produciendo *ruffling* de membrana y la invasión bacteriana. También ocurre cuando *Salmonella* está dentro de una vacuola ligada a la membrana tanto en células epiteliales como macrófagos (Sánchez y Jiménez 2003).

SopE se comporta como GEF (guanine exchange factor) en las proteínas RhoGTPasas: CDC42 y Rac induciendo *ruffling* de la membrana, que permite la internación de *Salmonella* además estimula MAP cinasas (Mitogen-activated protein), Erk (quinasa reguladora por señales extracelulares), JNK (quinasa terminal) y es codificada por un fago temperado defectuoso de la familia P2, localizado en el centisoma 60 del cromosoma de *Salmonella* (figura 7) (Ochoa y Rodriguez 2005).

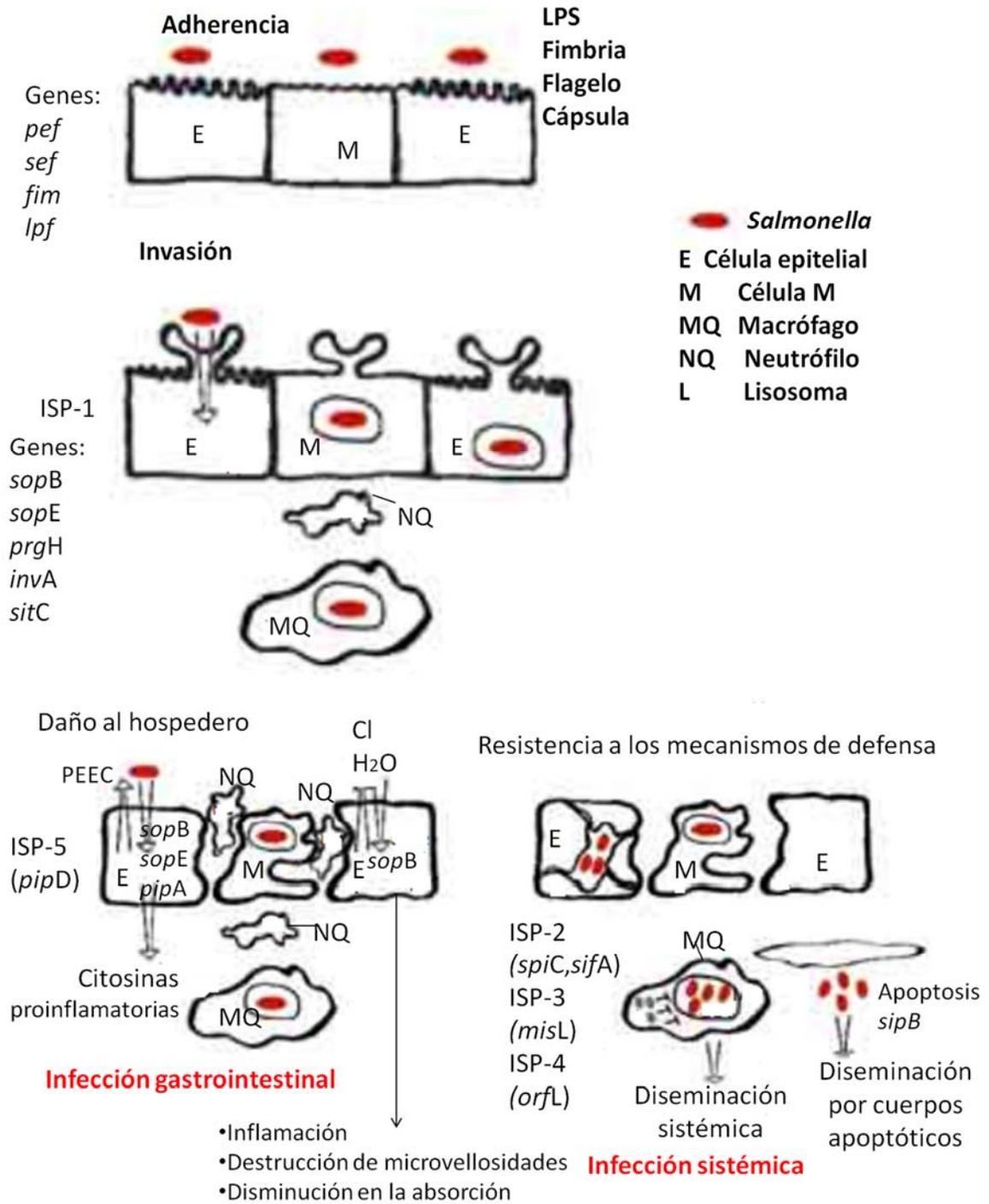


Figura 7. Modelo de los eventos en la patogénesis de la infección de Salmonella y genes de virulencia asociados (Ochoa y Rodríguez 2005).

La respuesta inflamatoria desencadena moléculas efectoras secretadas por SSTIII de SPI I y II, así como la detección extracelular e intracelular del patrón molecular asociado a patógeno (PAMPS) de las bacterias que incluyen: LPS, peptidoglicano y flagelina. Los LPS se detectan por proteínas CD14, MD-2 y el receptor tipo Toll (TLR)-4. Peptidoglicano, se detecta por TLR-2 por proteínas del dominio de unión de nucleótidos y oligomerización (NOD) y receptor NLRs. Flagelina se detecta por TLR-5. La proteína IPAF es IL-1 β de conversión de la enzima proteasa factor activador. Activan la caspasa-1 en respuesta a *Salmonella* typhi. Esta señalización del receptor NLR induce la expresión de citoquinas pro inflamatorias (IL-1 β y IL-18). Estas citoquinas junto con IL-23, dan como resultado una cascada inmune de la activación de la participación de células T inducida por IL-17 en IFN- γ resulta un mecanismo de defensa intestinal. *Salmonella* destruye las células M y la invasión de enterositos adyacentes inducen la apoptosis en el macrófago activado y fagocitosis inducida en macrófagos no activados y así diseminarse en el organismo (Figura 8) (Ahmer *et al.* 2011).

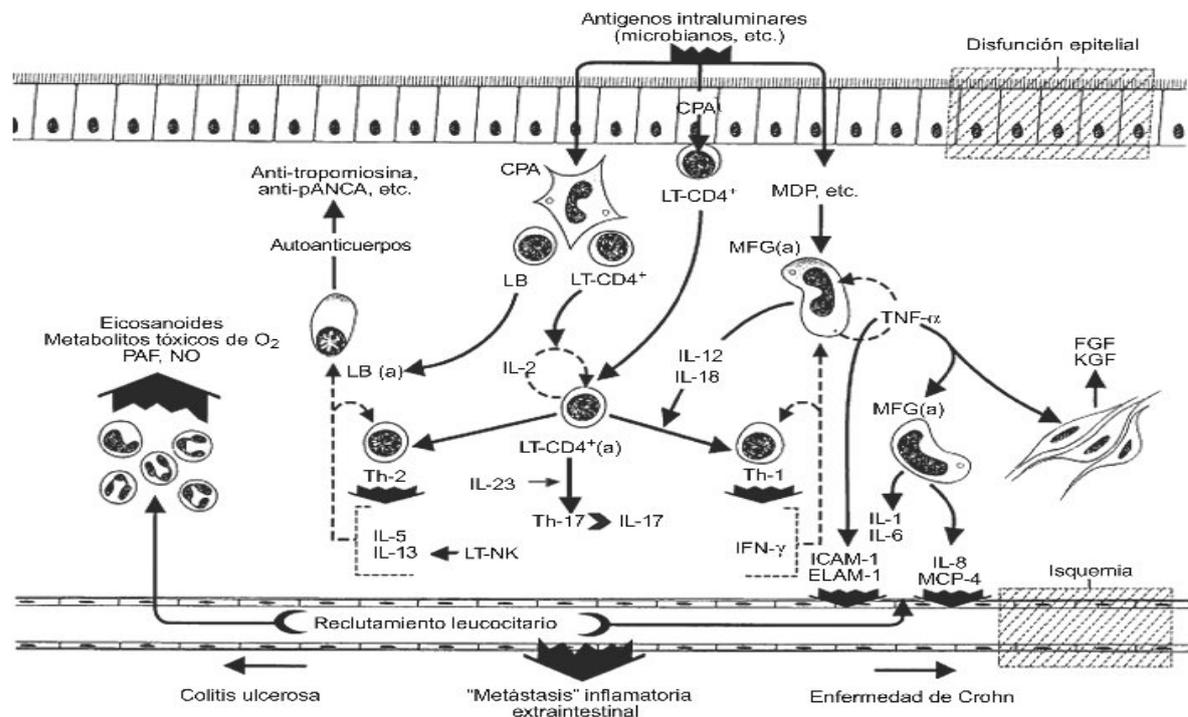


Figura 8. Esquema del mecanismo de inflamación (Barthel *et al.*, 2003).

2.7. Genes de patogenicidad

2.7.1. Gen *sopB*

Proteína: Fosfatasa de fosfato de inositol SopB

Aminoácidos: 561

Pb: 1,683

KDa: 61.9

Función: SopB por su actividad de inositol fosfato fosfatasa, también reorganiza el citoesqueleto de actina. Promueve reordenamientos de actina subcortical y fisión de membrana durante la entrada bacteriana (Ochoa y Rodriguez 2005, Barthel *et al.*, 2003).

Es esencial en el establecimiento y replicación intracelular de *Salmonella*, al estar involucrado en la formación de las SCV; mantiene altos niveles de fosfatidilinositol trifosfato en la membrana de las mismas, lo que evade la unión con los lisosomas y permite la unión con otras SCV (Ahmer *et al.* 2011).

Taxonomía

```

1 atgcaaatac agagcttcta tcaactcagct tcaactaaaaa cccaggaggc tttttaaagc
61 ctacaaaaaa cttatacaa cggaaatgcag attctctcag gccagggcaa agcgccggct
121 aaagcgcccc acgctcgccc ggaaattatt gtctctgcag aacctggcgc gacatggggg
181 aattatctac agcatcagaa gacgtctaac cactcgcctgc ataacctcta taacttacgg
241 cgcgatcttc ttacggctcg ggcaaccgtt ctgggtaaac aagaccgggt tctaacttca
301 atggcaaacc aaatggagtt agccaaagt aaagcggacc ggccagcaac aaaacaagaa
361 gaagccgcyg caaaagcatt gaagaaaaat cttatcgaac ttattgcagc acgcactcag
421 cagcaggatg gcttacctgc aaaagaagct catcgctttg cggcagtagc gtttagagac
481 gctcaggaca agcagcttaa taaccagccc tggcaaacca taaaaatac actcacgcat
541 aacgggcatc actataccaa cagcagctc cctgcccagc agatgaaaat cggcgcaaaa
601 gatattcttc ccagtgccta tgagggaaag ggcgatgca gttgggatac caagaatatt
661 catcacgcca ataatttgtg gatgtccacg gtgagtgctc atgaggacgg taaagataaa
721 acgcttttct ggggatacgc tcatggcgtg ctttccccct atcatgaaaa agatccgctt
781 ctgctgcagg tcggcgtga aaacaaagcc aaagaagtat taactgcggc actttttagt
841 aaacctgagt tgcttaacaa agccttagcg ggcgaggcgg taagcctgaa actggtatcc
901 gtgggggttac tcaccgcgctc gaataatttc ggcaaagagg gaacgatggt cgaggatcaa
961 atgcgcgcat ggcaatcgtt gaccagccg ggaaaaatga ttcatttaa aatccgcaat
1021 aaagatggcg atctacagac ggtaaaaata aaaccggcgc tgcgccatt taatgtgggt
1081 gttaatgagt tggcgctcaa gctcggcttt ggccttaagg catcggatag ctataatgcc
1141 gaggcgctat atcagttatt aggcaatgat ttacgcctg aagccagacc aggtggctgg
1201 gttggcgaat ggctggcaca ataccggat aattatgagg tcgtcaatac attagcgcgc
1261 cagattaagg atatatggaa aaataaccaa catcataaag atggcgccga accctataaa
1321 ctgcgacaac gccttgccat gttagcccat gaaattgacg cggtagccgc ctggaattgt
1381 aaaagcggca aagatcgtac agggatgatg gattcagaaa tcaagcgaga gatcatttcc
1441 ttacatcaga cccatagtgt aagtgcgcct ggcagctctc cggatagcgg tggacagaaa
1501 attttccaaa aagtattact gaatagcggg aaccctggag attcagaacc aaatacgggc
1561 gggcggggaa acaaagtaat gaaaaattta tgcgccagag tgctcaatct ttcctatcaa

```

1621 aaacgagttg gggatgaaaa tatttggcag tcagtaaaag gcatttcttc attaatacaca
 1681 tcttga
 (Miroid *et al.*, 2001).

2.7.2. Gen *prgH*

Proteína: proteína PrgH

Aminoácidos: 392

Pb: 1,176

KDa: 44,460

Funcion: Requerido para la invasión de células epiteliales

Taxonomía

```

1 atgatgaata aagaaaatga ccatgtaacg ctgtaccagg atgggtctcgt actccgattg
61 ctcaacgggt tgctgaaagg ctgcgaatat cgcctcaatg cccccgtaac cttatttgtc
121 gcaagcgatg cggcgcaggg cgaacggcgg catgagccgc cgttcctacc gccggagacg
181 attttcattc cccatctgca gggcggcgtg aattttgaaa tagttattga ttttgtggcg
241 ccgcacaaaa gcgcgctgcg cgttttagtc gatggcggca tcagtgaaac cccctgggtc
301 accaatcggg tgttgaccgc cgggccgcag gcggttgggg tgagaccggc agcggcggcg
361 tgggatgata cgattttgaa ctttcaggag atgccggcgc ccgccatgac gacgcagcga
421 cgacgcaggg gctccatggt cctgctgtcg ctgatgggtac tggttggcgc gggttacctg
481 ctgcaaaaact acgcgatccc cgggcatgag gatgccgccg ccttgggcaa acagctcacc
541 ggtgcacaag gtaagtttca tctttgccc ggcaaagacg ggagcctgta catgctggcc
601 agcagcgagc gtgatgctgc cttgggccgt cagtcgctgg tgcgtcatcc caccgccgcg
661 gtgaagggtg tgagctgtga tgacgagcgc agggcgggtg acgaatggct cggacgggtac
721 tatccctggc tagggcttca tcgcatccac atcgacgatc cgtccgcgcc ccagctgatt
781 ctcagccgac agcgagccgt cctctctcca gcggagcggg agcggttgag cgcggcgtg
841 ctggacatac tgccctatgc gcggcaaatc tcgttcggcc acttggatga cgacgccgtg
901 gcaagcgatg ccgaaaatgg tttacggcaa ttggcgatcg gctatgcgcg cgtcgatcac
961 cccgacagcg tcaactttgt gataaacggt gccttggagg atggtgagcg ccagcggatc
1021 cgccgctacc tggaggcttt caagcagcgg tggagcagca actatgtgca gtttaccgtc
1081 gaactcaggg atgaccctat agcgggaaaa tcttttctct atggtcagca gaactttgtc
1141 aaaccaacg ccgggcaactg gtatttcacc ccgtcgtcat ctcaactga

```

(Shah *et al.*, 2005).

2.7.3. Gen *sopE*

Proteína: Factor de intercambio de nucleótidos de guanina SopE

Aminoácidos: 240

Pb: 720

KDa: 26,636

Función: Activador para CDC42 y RAC1 acoplado directamente a Rho GTP asos y actuando como potente factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF). Esta activación resulta en reordenamientos de citoesqueleto de actina y estimula el arrugamiento de la membrana, promoviendo la entrada bacteriana en células no fagocíticas. También activa MAPK8, indicando que es capaz de estimular vías de señalización que pueden conducir a respuestas nucleares. Chaperone InvB es necesaria para la secreción y translocación de SopE.

El gen *sopE* también activa las cinasas NF- κ B, p38 y ERK, que se sabe están implicadas en la inducción de la expresión de IL-8. Chaperone InvB es necesaria para la secreción, translocación y estabilización de los niveles intracelulares de *sopE2* (Hardt *et al.*, 1998 y Friebel *et al.*, 2001).

Taxonomía

```

1 atgacaaaaa taactttatt tccccataac tttagaatcc aaaaacagga agccacacca
61 ctaaaagaaa aatcaaccga gaaaaattct ttagcaaaaa gtattctcgc agtaaaaaat
121 cacttcatca aattaaattc aaaattatcg gaacgtttta tttcgcataa gaacactgaa
181 tcttctgcaa cacactttca ccgaggaagc gcatctgagg gccgggcagt gttgacaaat
241 aaagtcgtta aaaactttat gcttcaaacg ctccatgata tagatattag aggtagcgcg
301 agtaaagacc ccgcatacgc cagccagacc cgtgaagcta tactatcggc agtttacagc
361 aagtataaaag atcagtattg taacttgctc atcagcaaag gaatcgacat agcgcctttt
421 cttaaggaaa ttggcgaggc tgcgcaaaat gcaggtctgc ccggagcaac caagaatgac
481 gtttttagcc caagcggcgc aggagccaat cttttataa ctccgttgat tacatcagca
541 tacagtaagt atccacatat gtttaccagt caacatcaga aggcatcctt taacatctat
601 gcggagaaga tcattatgac agaagttgta ccgctgttta atgagtgtgc tatgccgact
661 ccacagcaat tccaacaaat actagaaaac attgctaata aatatatcca aaacactccc
721 tga

```

(Wood *et al.*, 1996).

2.7.4. Gen *invA*

Proteína: Proteína invasora InvA

Aminoácidos: 685

Pb: 2,055

KDa: 76,055

Función: El gen *invA* (gen de la proteína de invasión de *Salmonella*). *invA* es un gen de virulencia situado en la isla de patogenicidad *Salmonella*1. Involucrado en la invasión de las células del epitelio intestinal. Podría estar involucrado en la translocación de la proteína InvE (Hassena et al 2015).

Taxonomía

```

1 atgctgcttt ctctacttaa cagtgcctcg ttacgacctg aattactgat tctggtacta
61 atggtgatga tcatttctat gttcgtcatt ccattaccta cctatctggg tgatttctcg
121 atcgcactga atatacgtact ggcgatattg gtgtttatgg ggtcgttcta cattgacaga
181 atcctcagtt tttcaacggt tcttgccggt ctgttaatta ccacgctctt tctgctggca
241 ttatcgatca gtaccagtcg tcttatcttg attgaagccg atgccggtga aattatcgcc
301 acgttcggggc aattcgttat tggcgatagc ctggcgggtg gttttgttgt cttctctatt
361 gtcaccgtgg tccagtttat cgttattacc aaaggttcag aacgtgtcgc ggaagtgcgc
421 gcccgatttt ctctggatgg tatgcccggt aaacagatga gtattgatgc cgatttgaag
481 gccggtatta ttgatgcgga tgccgcgcgc gaacggcgaa gcgtactgga aagggaaagc
541 cagctttacg gttcctttga cggtgcatg aagtttatca aaggtgacgc tattgccggc
601 atcattatta tctttgtgaa ctttattggc ggtatttcgg tggggatgac tcgccatggt
661 atggatttgt cctccgccct gtctacttat accatgctga ccattggtga tggctctgtc
721 gccagatcc ccgcattgtt gattgcatg agtgccggtt ttatcgtgac ccgcgtaaat
781 ggcgatcacg ataatatggg gcggaatatc atgacgcagc tgttgaacaa cccatttghta
841 ttggttggtta cggctatttt gaccatttca atgggaactc tgccgggatt cccactgccg
901 gtttttggtta ttttatcggg ggttttaagc gtactcttct attttaaat ccgtgaagca
961 aaacgtagcg ccgcaaacc taaaaccagc aaaggcgagc agccgctcag tattgaggaa
1021 aaagaagggg cgtcgttagg actgattggc gatctcgata aagtctctac agagaccgta
1081 ccgttgatata tacttgtgcc gaagagccgg cgtgaagatc tggaaaaagc tcaacttgcg
1141 gagcgtctac gtagtcagtt ctttattgat tatggcgtgc gcctgccgga agtattgtta
1201 cgagatggcg agggcctgga cgataacagc atcgtattgt tgattaatga gatccgtggt
1261 gaacaattta cggctctattt tgatttgatg cgagtggtaa attattccga tgaagtcgtg
1321 tcctttggta ttaatccaac aatccatcag caaggtagca gtcagtattt ctgggtaacg
1381 catgaagagg gggagaaaact ccgggagcct ggctatgtgt tgccggaacgc gcttgatgag
1441 ctttaccact gtctggcggg gaccgtggcg cgcaacgtca atgaatattt cggatttcag
1501 gaaacaaaac atatgctgga ccaactggaa gcgaaatttc ctgatttact taaagaagtg
1561 ctacagacatg ccacgtaca acgtatatct gaagttttgc agcgtttggt aagcgaacgt
1621 gtttcctggt gtaaatatgaa gtttaattat gaagcgcctc cattgtgggc gccaaagaaa
1681 aaagatgtca ttaaccttgt ggagcatatt cgtggagcaa tggcgcgtta tatttgtcat
1741 aaattcgcca atggcggcga attacgagca gtaatggtat ctgctgaagt tgaggatggt
1801 attcgcaaaag ggatccgtca gacctctggc agtaccttc tcagccttga cccggaagcc
1861 tccgctaatt tgatggatct cattacactt aagttggatg atttattgat tgcacataaa
1921 gatcttgtcc tccttacgtc tgtcgatgct cgtcgattta ttaagaaaat gattgaaggt
1981 cgttttccgg atctggaggt tttatctttc ggtgagatag cagatagcaa gtcagtgaat
2041 gttataaaaa caatatga

```

(Galan *et al.*, 1992).

2.7.5. Gen *sitC*

Proteína: Proteína de membrana SitC

Aminoácidos: 286

Pb: 858

KDa: 30,865

Taxonomía

```

1 atgaactggc ttggtgagcc gtttggctac cagtatatgc tcaacgegat gtgggtctcc
61 gcgatgggtg gcggtctgtg cgcgtttctc tctgctatt tgatgctcaa aggctggctg
121 ctcatggcg atgcgctatc tcaactctatt gtgcctggcg tcgctggcgc ctggatgta
181 gggctgccct tctcgctcgg cgcgtttctt tccggcggac tggcggcagg cagtatgctc
241 tttcttaacc aacgctcacg cctgaaagaa gacgcgatta tcgggcttat cttctcctct
301 ttttttggcg tcggcctttt tatggtgtcg ctcaatccga tgtcggtgaa tatccagacg
361 attattctcg gcaacgtgct ggcgatcgca ccagcggata ttgcgcaact ggcgattatc
421 ggcgagctct cgctgacgat tctgctgtta aagtggaaag atctgatggt cgtctttttc
481 gatgaaaccc atgcgcgctt tatcgggctt aatccgggtc gactaaagct gttgtttttc
541 actctattgt ccgtctctac cgtggcggcc ctgcaaaccg ttggggcggt cctgggtgatc
601 tgtctcgctg tcacgccggg cgcgacggcc tggttactca ccgaccgttt tccacgtctg
661 ctcatgattg ccgtcgtgat tggcagcctg accagttttc tgggcgcatg gcttagctac
721 tggctggatg gcgccacggg tggattatt gtcgtcatgc aaaccttact gttcatcaca
781 gcctttatth tcgccccgaa acacggtctg ttagccaacc gtcgacgcgc ccgctgcag
841 aaggagccga catgttctta a

```

(Zhou *et al.*, 1999).

2.7.6. Gen *spiC*

Proteína: Proteína 2 de la isla de patogenicidad 2 de *Salmonella*

Aminoácidos: 133

Pb: 399

KDa: 14,656

Función: Proteína de virulencia que juega un papel central en la infección por macrófagos de mamíferos, al inhibir la fusión fagosoma-lisosoma y el tráfico celular, inhibiendo la fusión de SCV con los lisosomas. Puede actuar interrumpiendo la función de la proteína HOOK3 de mamífero, una proteína implicada en el tráfico celular. También se requiere para la actividad de actina ADP-ribosilasa SpvB.

Se transloca al citosol de los macrófagos a través del sistema de secreción tipo III de la (SPI-2) que funciona intracelularmente para translocar proteínas a través de la membrana fagosomal (Ochoa y Rodriguez 2005, Uchiya et al. 1999 y Browne et al. 2008).

Taxonomía

```

1 atgtctgagg agggattcat gctggcagtt ttaaaaggca ttccattaat tcaggatatac
61 agggccgaag gtaatagccg atcctggata atgactattg atgggcatcc tgccagagga
121 gaaatthtct cagaagcatt ttctatthtct ttgttcttaa atgacctgga aagcttacct
181 aagccttgte ttgcctatgt gacactactg cttgcagcac acccggacgt ccatgattat
241 gctatacagc tcacagcggg tgggggatgg ttaaaccggtt attataccac aagtagtagc
301 tctgagctta ttgctattga gatagaaaaa cacctggctt taacttgcat tttaaaaaat
361 gtaatacgcg atcaccataa actthtattcg ggtgggggat aa
(Ochman et al., 1996).

```

2.7.7. Gen *sifA*

Proteína: Proteína efectora secretada

Aminoácidos: 336

Pb: 1,008

KDa: 38,498

Función: Las proteínas efectoras funcionan para alterar la fisiología de la célula huésped y promover la supervivencia bacteriana en los tejidos del huésped. Esta proteína es necesaria para la tubulación endosomal y la formación de filamentos inducidos por *Salmonella* (Sifs), que son estructuras filamentosas que contienen glicoproteínas de membrana lisosómicas dentro de las células epiteliales (Brumell *et al.*, 2002, Boucrot *et al.*, 2005 y Ohlson *et al.*, 2008).

Taxonomía

```

1 atgccgatta ctatagggaa tggthtthtta aaaagtgaag tacttatcaa tccccaggg
61 aatacgaag aaacatggtg caaagthtta tgggaagaa ttaaagactt cthtthtct
121 actggcaag caaaagcaga ccgttgctca catgagatgt tgttgccga tgcaccccc
181 acacgagagc ggcttacaga gathtthttht gagttgaagg cattagcctg cgcacgcaa
241 agagatagat ttcaggttca taatcctcat gaaaatgatg ccaccattat tcttcgtatc
301 atggatcaaa acgaagagaa cgaattgta cgtatcactc aaaataccga tacctthtagc
361 tgtgaagtca tggggaaggt ctathtthtta atgaaagatc gcccgatat tthaaatcg
421 catccacaaa tgacggccac gattaagaga agatatagcg aaatcgtaga ttacccctc
481 cthtgcacat tatgtctcaa tcttgctggc gcgccgacat tatcggttc attagacaac
541 atagagggat atthtatattc tgaatggaga aaaggaattt tagatgagtg gaaaacgcaa
601 gaaaaggtaa cctacctggc agcgaatatt cagtctggga ttgaaaagac aacgcgcatt
661 ttacagcatg cgaatatatc cgaagtact cagcaaacg cattthttaga aacaatggcg
721 atgtgtggat taaaacagct tgaataacca ccaccgtata cccacatacc tattgaaaaa
781 atggtaaaag aggtthtthtact ggcggataag gcgthttagc cgthtctcgt aacggatccc
841 agcaccagcc aaagtatgtt agctgagata gtcgaagcca tctctgataa ggtthtthcac
901 gccathttht gaatagacc ccaggctata caaaaatgg cgaagaaca gthaaccagc
961 ctacaggttc gctcagaaca acaaagcggc tgtthttagt gthtthtata a
(Beuzón et al. 2000).

```

2.7.8. Gen *misL*

Proteína: Proteína de autotransporte MisL

Aminoácidos: 955

Pb: 2,865

KDa: 101,216

Taxonomía

```

1 atgccaaactc cccaaaatta ctcattcatc gccatagcgg tatcagcagc attagcctct
61 atgggtatttc cctcccaggc ggcctgggtt gacgttgata gtctgccatc cagtgggctg
121 gtcagtcagt tgccgccgga attacaggct attattcccg ctcaggccag taccggtttc
181 accaaagtcg ggaccatgcc caactacggt tatcagtgga acaccggcac catcccggtt
241 tatggcaatg gcctcacgct taatggggccg ggcgcggagg cgtttgaaca cactgtcacg
301 gttattcaaa acagcggggac gggaaagtccg ggcgtgattt ttggcaacga cctgaccatt
361 cggacgcagt cggcgaatgc cgcaataat ggtagagacg tcgatggcat ccgtactcac
421 ggcgcgaata ctccggataa cccggtattt attattaccg gtgaccgtac ccgcatctac
481 gtggatggtc aggatgggtga cggtattaac gccgatata actcactggg ccagggttgg
541 accggatcgg ccaatattta cgtcggcgac gatctgtata tcaaaacgac cggtagccag
601 ggacgtggca ttacagccaa cgccatgcgg gatgcgtcac gtgccaaaaa tacgattgtc
661 gtcggcaatc gtgcgcataat tgttactacc ggcgacagtt cggaggggct gcgtaccgga
721 caaagcgggt cgttgattcg tctgggtgac gatgcaacta tcgaaacatc cggcgcaccc
781 tcaacgggga tttacgcagc atcctcctcc agaaccgagc ttggcaacaa cgctactatt
841 acggtgaacg gtgccagcgc acacgcggta tatgcaacta acgctaccgt taatttggga
901 gagaatgcca ctattagcgt taacagcggc agtaaggctg catcctatag taaagcccct
961 gccggtttat acgccctctc ccgaggcgcc attaactctg caggcgggtg ggctattact
1021 atggcggggcg ataacagtag cgaagtac gccatcagca cggagactgg cggcattggt
1081 gacggttctt caggaggtcg tttcgtcatc gacggtgata ttcgtgctgc tggcgccacc
1141 gctgccagcg gtacgctacc gcagcagaac agtacgatta agctcaatat gacggacaac
1201 tcgcatggg acggggcgtc gtacatcacc agcgtacgg cgggcacagg cgttatctct
1261 gtacaaatga gcgatgcgac ctggaatatg accagcagct caacgctcac tgacctgacg
1321 ctgaatagtg gcgcaaccat taacttcagc catgaagatg gcgaaccatg gcaaacgctc
1381 accatcaatg aagattatgt aggcaacggc ggtaagctgg tctttaatac tgtgctcaac
1441 gatgatgatt ccgaaacgga caggctgcag gttctcggca aacttcagg caacacattt
1501 gttgcagtaa ataatttggg aggagccggg gcgcaaacca ttgaaggatg tgaattggtt
1561 aacgttgctg gcaattccaa cgtacttctc gaaaaagcaa gccgtattgt tgccggagcc
1621 tatgactaca acgtggtgca gaaaggtaaa aactggtatc tgaccagcta cattgagccg
1681 gacgaaccga ttattcctga tccagtagac cctggtatcc ctgaccctgt cgttcccgat
1741 ccggtggacc ctgatccagt agaccgggtt atccctgacc ctgtgattcc cgatccgggt
1801 gaccctgatc cagtagacc tggaccagta gaccgggtca tcctgatcc gacaattcct
1861 gacatagggc aatctgacac accgccgata acagaacatc agttccgtcc ggaagtgggc
1921 agctatcttg ccaacaacta tgccggcaaat acgctgttca tgacgctct ccatgaccgt
1981 ctgggtgaaa cccagtacac cgacatgctg acgggtgaga agaaggcac cagcctgtgg
2041 atgcgtaacg tcggcgccca tactcgcttc aacgatggca gcgggcagct aaaaaccgca
2101 atcaacagct atgtgttaca actgggaggc gatctggcac agtggagcac tgaccggtctt
2161 gaccggtggc atattggtgc aatggcaggc tatgcccaaca gccagaaccg cacgctgtcg
2221 tccgtgagtg actatcattc ccgtggtcaa gtcaccgggt acagcgtcgg cctttacggc
2281 acctgggatg ctaacaatat cgatcggtct ggggcttatg tggatacctg gatgctgtac
2341 aactggtttg ataacaagt catgggtcag gatcaggccg ctgagaaata taaatccaaa
2401 ggaattaccg cctcggttga agccgggttac agcttcaggc taggtgaaag cgcgcatcaa
2461 agctactggg tgcagcccaa agcgcagggt gtatggatgg gcgtgcaggc tgaccgacaat

```

2521 cgccaagcca atggtaccct cgtcaaggat gataccgccg gtaatctgct aaccgcgatg
 2581 ggcgtaaaaag cctatattaa cggccacaat gctattgata acgataaatc tcgagagttc
 2641 cagccattcg tggaaagcga ctggatccat aatacgcagc ctgccagcgt gaagatggac
 2701 gatgtcagca gcgatatgcy tggtagaag aatattggag aactgaaagt gggattgaa
 2761 ggacaagtta ccccgccct gaacgtatgg ggtaacgtgg cgcaacaggt gggtagacaca
 2821 ggttatagtg atacccaagg aatgctgggg atgaaataga gtttctga
 (Tükel *et al.*, 2007).

2.7.9. Gen *orfL*

Proteína: ABC transportador ATP-proteína de unión

Aminoácidos: 240

Pb: 720

KDa: 26,576

Taxonomía

1 atgaccgcgt cgaactctca tctgctggaa gcaagtggac tgcaagcggc gtatgggtcg
 61 agccatgtcc tcttcggcat cgatctcaag atccagcgag gccaggtcgt gaccttgctc
 121 gggcgcaatg gaatgggtaa gaccacgagc atcaggagcc ttgtcggcgc gttgccgttg
 181 aaaggcggca ccatacgatt caacgggcgg gagacgcaag cttgcgcgc ggacgcggtc
 241 gcgcgactcg gcgtggcgat cgtgcccag gggcgccatt gctttccgaa tctcacggtg
 301 gaggaacacc tcattgcgtt tgccagcgtg cgcaatgaac aggccgaacc gtggaccgtt
 361 ccaaggctct atgaattgtt tccgcgcctg aaagcacggg cgcgcaactt cggcaaccag
 421 ctgtcggggg gagagcagca gatgctggcc atcgcccgtg cgctgtcgac gaatcctcgc
 481 ttgctgatcc tcgacgagc caccgaaggt ctcgcgccga tcctgcgcca ggagatctgg
 541 cactgcctgg aactgctcag gaaggcgggc cagacgatcc tcatcgtgga caagtacgtc
 601 gagcggctcc tgaagcttgc cgaccgccac ctcacgtgg agcgcggcaa ggtggctctgg
 661 gaaggaagct cgtcggccct ggaccgcgat cgggcgctgt ggaccgccta cctgggcgtt
 721 tag
 (Ogawa y Miyashita 1999).

2.7.10. Gen *pipD*

Proteína: Dipeptidasa

Aminoácidos: 489

Pb: 1,467

KDa: 55,148

Taxonomía

1 atgaaaaagt atcttgcatt cgccgttacg ctgctgggta tgggtaaagt catcgcctgt
 61 actacccttt tcgtaggcaa tcaggcttcg gctgacggct cttcattat cgcgcgcaac

121 gaagatggct cggcaaataa cgccaagcat aaggttattc atccccgtcgc gtttcatcaa
 181 caaggcgagt ataaagcaca tgcgaacaat tttagctggc cgcttccgga gacagcgatg
 241 cgctatacgg cgattcatga ctttgatact aacgataacg ccatgggtga agccggtttc
 301 aattcggcgg gcgtcggaaat gagcgcgaacg gaaaccattt ataacggcag agcggcgctg
 361 gctgccgatc cttacgtgac aaaaacagga atcacggaag acgccattga gtccgtgatc
 421 ctgccagtgg cgcaatcggc gcgtcagggc gccaaattac tgggagacat tattgaacaa
 481 aaaggcgcgg gcgaaggttt cggcgtcgcg tttattgata gcaaagagat atggatctg
 541 gagacgggaa gcggtcatca atggctggca gtacgacttc cggcagatag ctatttcggt
 601 tccgccaatc agggacgttt acgccattac gatccgaatg ataacgcgaa ttatatggcg
 661 tcaccaacgt tagtaagctt tgcgaaaaag cagggattat atgatccggc ccgcggcgaa
 721 ttcgactttc atcaagccta ttcacaggat aacaaaaacg ataccaccta taattatccg
 781 cgcgtctgga cgctacaaca ccagtttaat ccgcatctgg atacggctcg tagcccaggg
 841 gaaacatttc ccgttttttt aacgccaata acgaagatca gcgtggccgc agtaaaaaac
 901 gcgttacgca atcactatca gggaaacgtc cagcaccctt atgccagtca taatccacaa
 961 gaaccatggc gacctatata cgtttttcgt acccaggagt cacatatttt acaggtcaga
 1021 ccgaaattac cgcaggctat cggcaacgta gaatacatcg cctatggaat gccatctctt
 1081 agcgtctatc tcccctatta tcaggggatg cgtcattatc aaccgggaga tgataaagga
 1141 ccgatcgggc gagcaacgac tctacctact ggacattccg cacgctgcaa acgctggtta
 1201 tgcaggacta caatgcgttt gcgccagatg tgcaacacgc ctgcaaaaaca tttgaacagc
 1261 aaacagctaa gcagcagtat aagatggagc agagctatct ga

(Galvov *et al.*, 1997 y Wood *et al.*, 1998).

2.7.11. Gen *iron*

Proteína: Receptor férrico de la enterobactina

Aminoácidos: 725

Pb: 2,175

KDa: 79,135

Taxonomía

1 tcagaatgat gcgtaactc cggcatagta agcccggcct ggctcgttat aggtattcgc
 61 cccttcagaa gatcgggaaga tctgtttatt gaggatatta ctgacgccga cattaagacg
 121 cagattttta ttaatatcgt aattgaagt cgtccccacc agtgaataag cgcccagctc
 181 tttacctgac agaccgccag tatcttcaact gcgggtttcc gcatgagtac gcggtttttg
 241 tctgccatat aacgtccagt tgacgctggc agaaaacgcc tgggtgatgg tccagttaag
 301 cgagttattg atagtatatt tccggatgac cgacagagga ttaccgggtg ctttttgctc
 361 cgaagtgatc atccatgtgg cattggtatt ccagttcaga cgatctttca ccagtggtaa
 421 agacatactg gcttcgatac cgtccaccag agctttcccg ccattctgcc acttgaggat
 481 atatgcgcct gaagcggttt gccctataac gttatccccg gccacgatct tattctggta
 541 atcattgcgg aagtaggtca cacttgctg gtaatcttcc caggtgaact ccagtccaat
 601 ttctttattg aactgattt ccggatcgag atctttatta ccgatcaggt agcaccgcc
 661 tgatgtaata tcttttgac agccattgcc tttcgagtag agcagatagc cttcactgga
 721 ttgatacagg tttggggcct taaaggttcg ggcaaccct gctttgactt tgaataatc
 781 gcccaattcc tgcgaaagat tcagactggg gctgaagtcc ccgccggagt cgctgagata
 841 atcaaagcgc aggccgggaa tgatattcgt gccaggaacc ggctcaatgt tatcttcaat
 901 atacagcgca ctgatttgag aatgattttt actgctgcga tccgcagcag agccagaaat
 961 accgctgata tctctgtcat tcaccgtcag gctggtagag gaaggatcat cgagcttatc
 1021 gcggttccac tctgcaccaa cggtcagcgt ttgatcaacc atcacattca aaggaatatt
 1081 aagctcaccg ctggttcgcc aggaactcag gcgattggtc gtaaactttt caccgcgtaa

1141 aatacgtcct tcaccaccgc cggataatcc ttcattcatg cgggtattat tggttttctc
 1201 gtaataaaca ccaaagcgac tttgtcccca gtcccagata ccattatgcg taatgccata
 1261 attctgtcgg tacaggcggg tcgtctcttt gccggatfff gccaggcttt cggtaactgc
 1321 actggaagaa ctgttctgcg tatcgcccgc atagatattc cctggeggec tatatccggc
 1381 ttcgaaatcg agaatctgct gcggatttaa tttccacgag ataacgccgt taatatcttt
 1441 gttacgtacc cttcatgcc cggctgcggt tttcgtaccg accggagaat taatatccca
 1501 actgtcagca tccgttttat tcaggttacc atacaaacgc gtggtaagag catcaccagc
 1561 cagaggccca ctaaggctga aattggcgcg acgcgtagcg ccctcttcgc tactttccgg
 1621 ctggttgggtg tataacgaca gcgaaccgtg ccagtcggtg gtgggacggt tggtaatgat
 1681 gttcaccacc cccccggcgg cccccgaacc gttagcgcgc gccgcagggc cgcggatcac
 1741 ttcaatacgc tcaacctgtt ccgggtggcac ccagttgggtg tcaccgcggg tatcacgctc
 1801 cccacgccag ctataacgca cggagttacg tgacgtcacc ggtacacat caattaaat
 1861 taagggtgtt tccggcccca taccacgaat atcgatctgg cggttattac cgcgtgtgcc
 1921 cgaggcgcta ttgccggtaa gattgacacc aggcatfita cgaataatat ctgaaaggtc
 1981 gtttaccgga ggggtctttt taatatcctc gctggtaata acgacacgcc cgggctgctg
 2041 ttttaatacc tgctcagcgg tggcttccac caccatagtc tcgtcattat catcgtcggg
 2101 gtatttggct actgatattc ggctattcaa cccaaccagg agcacagtta gcgaccagag
 2161 gattttgtta atttctcat

(Mills y Payne 1995).

2.7.12. Gen *pefA*

Proteína: fimbrias principales codificadas por plásmidos de la subunidad fimbrial

Aminoácidos: 172

Pb: 516

KDa: 17,241

Taxonomía

1 atgaaaaaga gcattattgc ttccattatt gcactgggtg ttctgggcgg gactgcacac
 61 gctgccaatg aagtaacttt cctgggttca gtaagcgcaa caacctgtga cctgaccact
 121 tctgtcaacg gcgccgctca gccgaaccag gttgttcagc tgggtaccgt tcaggctaac
 181 cagccgggta attttgttga cttcgccatg aaaccgggtg acccgaatgc acagggttgt
 241 gcaaactctg ctcagaaaac ggccactggt tcttgggctt ctgctgcctt ggatggcgaa
 301 ggctttgggg caaccagcgg tacagctact gatgccaaag tactggttga aagcgtgaac
 361 tccaaaaaac cgggggctgt aaacgctaac gccagcacgg ttgactttga aggtgccaaag
 421 ctgaccaccg acggcctgca gttcaaagcc aagctgaaag gtgggtgcgac cgaaggtgac
 481 ttcaagtctg tggcatcttt cgcagtggct taaaa

(Yue y Schifferli 2014).

III. HIPÓTESIS

Existe la presencia de genes (*prgH*, *sopB*, *sopE*, *invA*, *sitC*, *spiC*, *sifA*, *misL*, *orfL*, *pipD*, *iroN* y *pefA*) de patogenicidad en cepas de *Salmonella enterica enterica* en fauna silvestre en cautiverio del estado de Sinaloa.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Identificar los genes de patogenicidad en cepas de *Salmonella enterica enterica* aisladas de fauna silvestre en cautiverio del estado de Sinaloa.

4.2. Objetivo específico

Identificar los genes de patogenicidad (*prgH*, *sopB*, *sopE*, *invA*, *sitC*, *sipC*, *sifA*, *misL*, *orfL*, *pipD*, *iroN* y *pefA*) en los serovares:

- Albany
- Oranienburg
- Weltevreden
- Sandieg
- Derby
- Braenderup
- 3, 10, H:r:-
- 6,7,H:en x:-
- Poona
- Saintpaul
- Panama
- Pomona
- Newport
- Enteritidis
- Javiana
- Give
- Agona

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Lugar de estudio

Esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Patología (sección Patología Molecular) en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Autónoma de Sinaloa, a partir de cepas de *Salmonella* spp. aisladas previamente de albergues, alimento y heces de animales silvestres en cautiverio del zoológico de Culiacán y acuario de Mazatlán de estado de Sinaloa.

5.2. Tamaño de la muestra

La investigación se realizó a partir de 83 cepas de *Salmonella enterica enterica* obtenidas del zoológico de Culiacán y acuario de Mazatlán, Sinaloa, clasificadas en distintos géneros:

Cuadro 3. Clasificación de serovares en cepas de *Salmonella*.

LUGAR	SEROVAR	ALBERGUE
Zoológico	Albany	Heces <i>Leopardus pardalis</i> , heces <i>Panthera leo</i> , heces <i>Felis concolor</i> , heces <i>Panthera tigris sumatrae</i> , heces <i>Panthera tigris tigris</i> , heces <i>Lynx rufus</i> , heces <i>Ursus americanus</i> , heces <i>Hipopotamus amphibius</i> , heces <i>Ara macao</i> , heces <i>Carassius auratus</i> , aquatic birds-heces, aquatic bird-soil, heces <i>Rattus</i> spp., <i>Periplaneta americana</i> , <i>Musca domestica</i> , pollo crudo
	O: E2 H:r.-	Heces <i>Hipopotamus</i>

		<i>amphibius</i> , heces <i>Bassariscus astutus</i> , heces aves acuáticas, agua aves acuáticas, <i>Cebus paella</i>
	O: C1 H: en x:-	Heces <i>Hipopotamus</i> <i>amphibius</i> , heces <i>Crocodylus acutus</i>
	Weltevreden	Heces <i>Columba</i> <i>flavirostris</i> , heces <i>Columba fasciata</i> , heces <i>Sus scrofa domestica</i> , heces aves acuáticas, tierra aves acuáticas,
	Braenderup	Heces <i>Mephitis</i> <i>macroura</i> , heces <i>Felis</i> <i>concolor</i> , heces <i>Panthera tigris</i> , heces <i>Procyon lotor</i> , heces <i>Ateles geoffroyi</i>
	San Diego	Heces aves acuáticas, tierra aves acuáticas, heces <i>Python regius</i> , heces <i>Rattus rattus</i>
	Oranienburg	Heces <i>Urocyon</i> <i>cinereoargenteus</i> , heces <i>Saimiri sciureus</i>
	Derby	Heces <i>Cebus apella</i> , heces <i>Panthera onca</i> , heces <i>Panthera tigris</i> , heces <i>Rattus rattus</i>
Acuario	Poona	Heces <i>Psittaciformes</i> <i>birds</i> , heces <i>Rattus rattus</i>

	Saintpaul	Heces aves acuáticas,
	Panama	Heces <i>Crocodylus acutus</i> , heces <i>Rana</i> spp.
	Pomona	Heces <i>Ramphastos sulfuratus</i> , Filtro biológico
	Newport	Heces aves acuáticas,
	Enteriditis	Heces <i>Psittaciformes birds</i>
	Javiana	Heces <i>Rana</i> spp.
	Give	Heces <i>Iguana iguana</i>
	Agona	Heces <i>Ara</i> spp.
	sp	Suelo aves acuáticas, heces <i>Crocodylus acutus</i>

5.3. Procesamiento de las muestras

5.3.1. Oligonucleótidos

Para este análisis e identificación de genes mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR del inglés **P**olimerase **C**hain **R**eaction) se utilizó la metodología utilizada por (Biswas *et. al.* 2011) para el procedimiento del PCR Mix se utilizó para cada microtubo 5µL de ADN (diluido 1 en 10), y los siguientes oligonucleótidos:

prgH. F: GCCCGAGCAGCCTGAGAAGTTAGAAA, R:
TGAAATGAGCGCCCCTTGAGCCAGTC

sopB F: CGGACCGCCCAGCAACAAAACAAGAAGAAG

R: TAGTGATGCCCGTTATGCGTCAGTGTATT

sopE F: TCAGTTGGAATTGCTGTGGA R: TCCAAAACAGGAAACCACAC

invA F: CTGGCGGTGGGTTTTGTTGTCTTCTCTATT R:
AGTTTCTCCCCCTCTTCATGCGTTACCC,

sitC F: CAGTATATGCTCAACGCGATGTGGGTCTCC R:
CGGGGCGAAAATAAAGGCTGTGATGAAC

spiC F: CCTGGATAATGACTATTGAT R: AGTTTATGGTGATTGCGTAT

sifA F: TTTGCCGAACGCGCCCCACACG R:
 GTTGCCTTTTCTTGCGCTTTCCACCCATCT
misL F: GTCGGCGAATGCCGCGAATA R: GCGCTGTAAACGCTAATAGT
orfL F: GGAGTATCGATAAAGATGTT R: GCGCGTAACGTCAGAATCAA
pipD F: CGGCGATTCATGACTTTGAT R: CGTTATCATTCCGGATCGTAA
iroN F: ACTGGCACGGCTCGCTGTCGCTCTAT R:
 CGCTTTACCGCCGTTCTGCCACTGC
pefA F: GCGCCGCTCAGCCGAACCAG R: CAGCAGAAGCCCAGGAAACAGTG.

1 µL de oligonucleótido “forward”, 1µL de oligonucleótido “reverse” (Hughes *et al.*, 2008).

5.3.2. Reacción en cadena de la polimeraza PCR

Se complementó con: 12.5 µL de PCR super Mix, 1.5 µL de Cloruro de Magnesio y 4 µL de agua para uso molecular. Una vez realizada la mezcla en los microtubos, se colocaron en el termociclador mismo que se programo con las siguientes condiciones de amplificación: desnaturalización 94°C por 5 min seguido de 30 ciclos de desnaturalización (94°C por 1 min), alineamiento (50°C por 45 s) y extensión (72°C por 1 min), con una extensión final (72°C por 5 min), con una duración de 2hr 15min.

5.3.3. Electroforesis

Los productos de amplificación se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% teñidos con Gel red, se observaron en un fotodocumentador y se fotografiaron para su análisis. Cada procedimiento se realizó utilizando material estéril y con la inclusión de un control negativo en cada una de las reacciones.

5.4. Análisis estadístico

Se determino a partir de la frecuencia de presencia de genes de acuerdo a la fórmula citada por Thursfield. Para determinar si existe diferencia estadística significativa entre los diferentes serovares examinados, se analizaron los resultados mediante prueba de ji cuadrada con el programa de análisis epidemiológico de datos tabulados Epidat (versión 3.1), con un valor de $p < 0.05$.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Gen *prgH*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 43.3% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 756pb del gen *prgH* de *Salmonella* (Fig. 9).

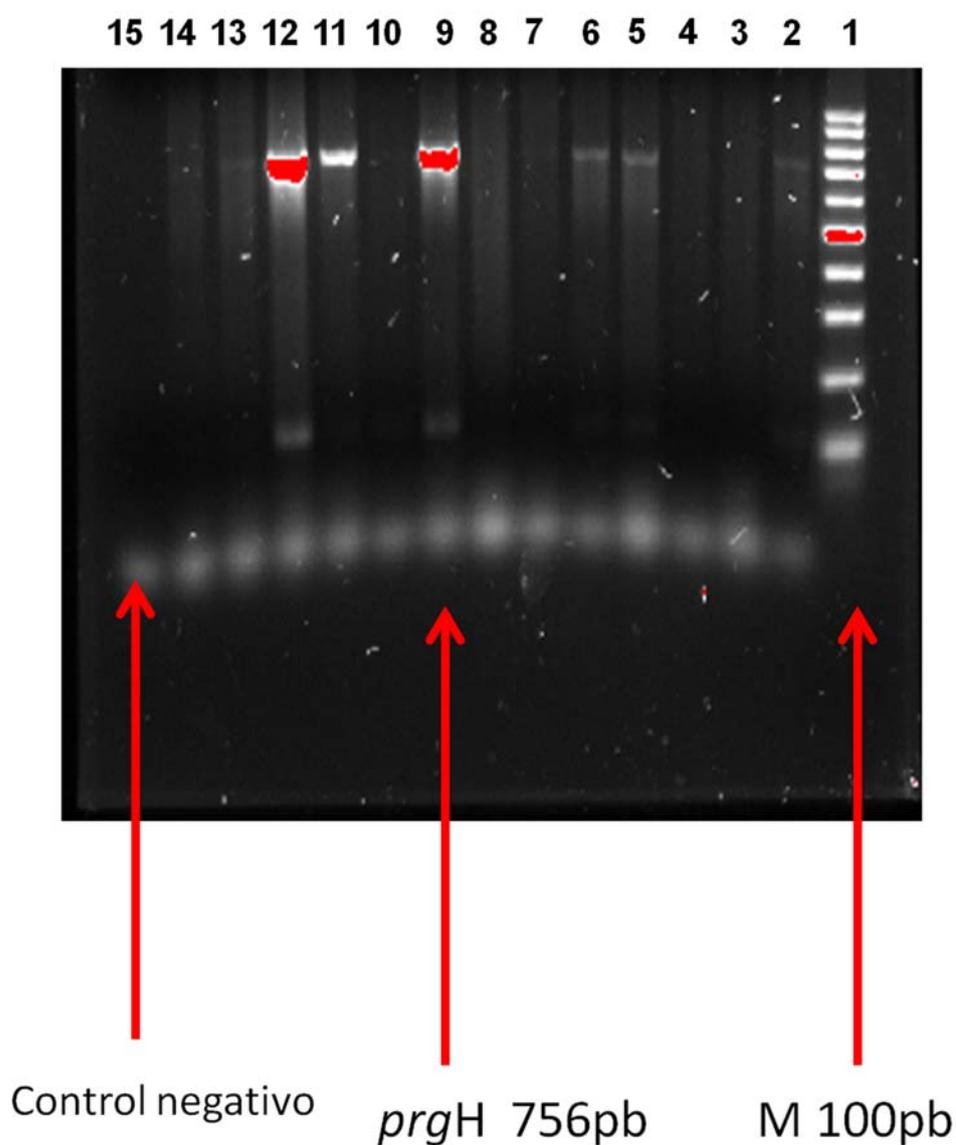


Figura 9. Amplificación del fragmento del gen *prgH*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 14 están las

muestras analizadas con un tamaño esperado de 756pb; y finalmente el carril número 15 se encuentra el control negativo.

Cuadro 4. GEN *prgH* 756pb

Muestras positivas 36 con un 43.3%

NUMERO	NUMERO DE MUESTRA	SEROVAR	ORIGEN
Zoológico			
1	15.2	Albany	heces <i>Lynx rufus</i>
2	16.2	Albany	heces <i>Leopardus pardalis</i>
3	20.2	Albany	heces <i>Panthera leo</i>
4	51	Albany	heces <i>Leopardus pardalis</i>
5	87.1	Albany	heces <i>Hipopotamus amphibius</i>
6	105.1	Albany	Pollo crudo
7	30.2	Albany	<i>aquatic birds-heces</i>
8	120	Albany	<i>Musca domestica</i>
9	140	Albany	heces <i>Ursus americanus</i>
10	144	Albany	heces <i>aquatic bird-soil</i>
11	10	Albany	heces <i>Ara macao</i>
12	59.2	Albany	heces <i>Carassius auratus</i>
13	45	Albany	<i>Musca domestica</i>
14	47.2	Albany	<i>Musca domestica</i>
15	24	Albany	<i>aquatic birds-heces</i>
16	119	Albany	<i>Periplaneta americana</i>
17	115	Albany	<i>Periplaneta americana</i>
18	53	Derby	heces <i>Panthera tigris</i>
19	69	Derby	heces <i>Panthera onca</i>
20	144.4	Weltevreden	tierra aves

			acuáticas
21	92	Weltevreden	heces aves acuáticas
22	89.1	Weltevreden	heces <i>Columba flavirostris</i>
23	144.5	Sandiego	tierra aves acuáticas
24	44.1	Sandiego	heces aves acuáticas
25	68	Braenderup	heces <i>Panthera tigris</i>
26	143	Braenderup	heces <i>Ateles geoffroyi</i>
27	20	Braenderup	heces <i>Panthera tigris</i>
28	4	Oranienburg	heces <i>Saimiri sciureus</i>
29	64	Oranienburg	heces <i>Urocyon cinereoargenteus</i>
30	133	O: E2 H:r.-	heces <i>Bassariscus astutus</i>
31	22.7	O: E2 H:r.-	heces aves acuáticas
32	87.4	O: C1 H: en x:-	heces <i>Hipopotamus amphibius</i>
Acuario			
33	20.3	Sp	heces <i>Rattus</i>
34	22.1	Poona	Heces <i>Psittaciformes birds</i>
35	25.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
36	70	Pomona	Filtro biológico

6.2. Gen *sopB*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 100% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 220pb del gen *prgH* de *Salmonella* (Fig. 10).

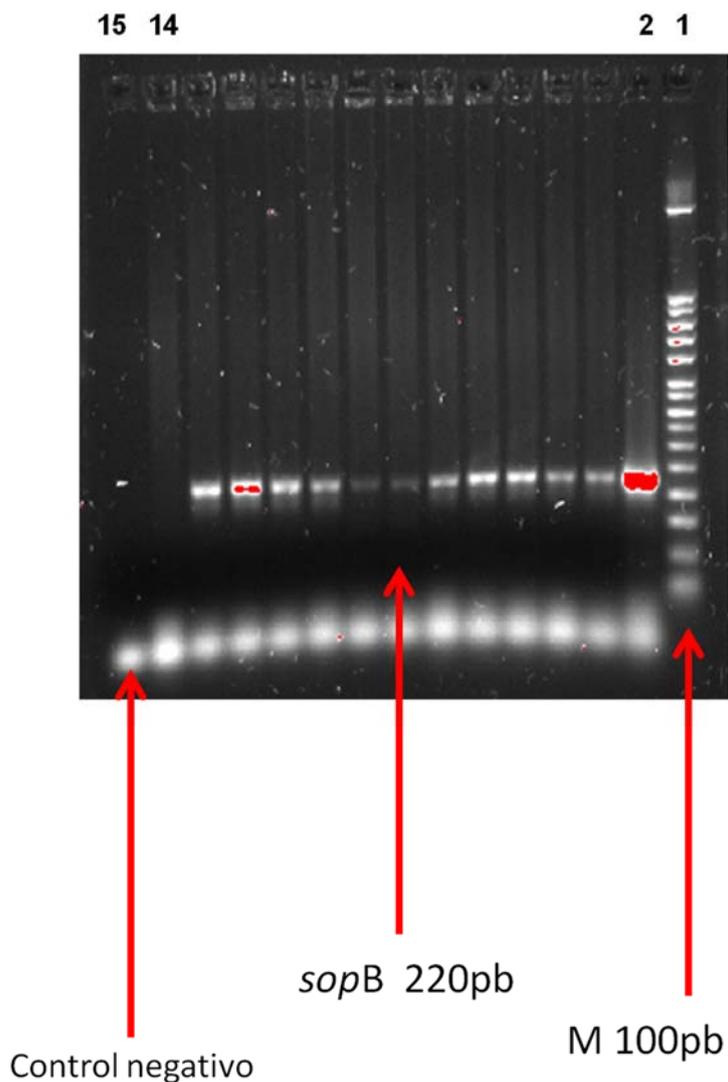


Figura 10. Amplificación del fragmento del gen *sopB*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 14 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 220pb; y finalmente el carril número 15 se encuentra el control negativo.

6.3. Gen *sopE*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 28.9% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 652pb del gen *sopE* de *Salmonella* (Fig. 11).

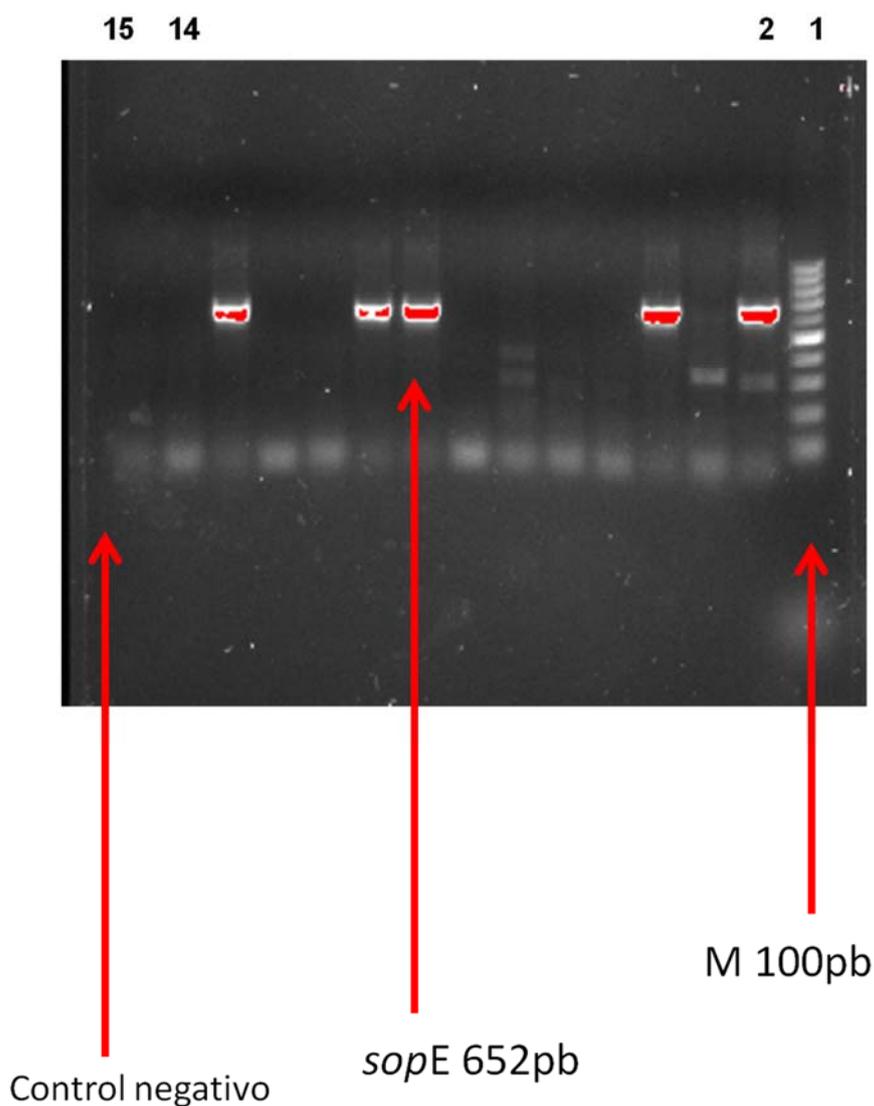


Figura 11. Amplificación del fragmento del gen *sopE*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 14 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 652pb; y finalmente el carril número 15 se encuentra el control negativo.

Cuadro 5. Gen sopE 652pb

Muestras positivas 24 con un 28.9%

NUMERO	NUMERO DE MUESTRA	SEROVAR	Origen
Zoológico			
1	87.1	Albany	heces <i>Hipopotamus amphibius</i>
2	41.2	Albany	<i>Periplaneta americana</i>
3	45	Albany	<i>Musca domestica</i>
4	24	Albany	aquatic birds-heces
5	115	Albany	<i>Periplaneta americana</i>
6	7	O: E2 H:r.-	<i>Cebus paella</i>
7	76	O: C1 H: en x:-	heces <i>Crocodylus acutus</i>
8	69	Derby	heces <i>Panthera onca</i>
9	53	Derby	heces <i>Panthera tigris</i>
10	11	Derby	heces <i>Cebus apella</i>
11	134	Braenderup	heces <i>Procyon lotor</i>
12	68	Braenderup	heces <i>Panthera tigris</i>
13	92	Weltevreden	heces aves acuáticas
14	89.1	Weltevreden	heces <i>Columba flavirostris</i>
Acuario			
15	27.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
16	43.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
17	21.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
18	25.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
19	22.1	Poona	heces

			<i>Psittaciformes birds</i>
20	29.3	Panamá	heces <i>Rana spp</i>
21	22.3	Enteriditis	heces <i>Psittaciformes birds</i>
22	70	Pomona	Filtro biológico
23	56	Give	heces <i>Iguana iguana</i>
24	29.3 (ranario)	Javiana	heces <i>Rana spp</i>

6.4. Gen *invA*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 100% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 282pb del gen *invA* de *Salmonella* (Fig. 12).

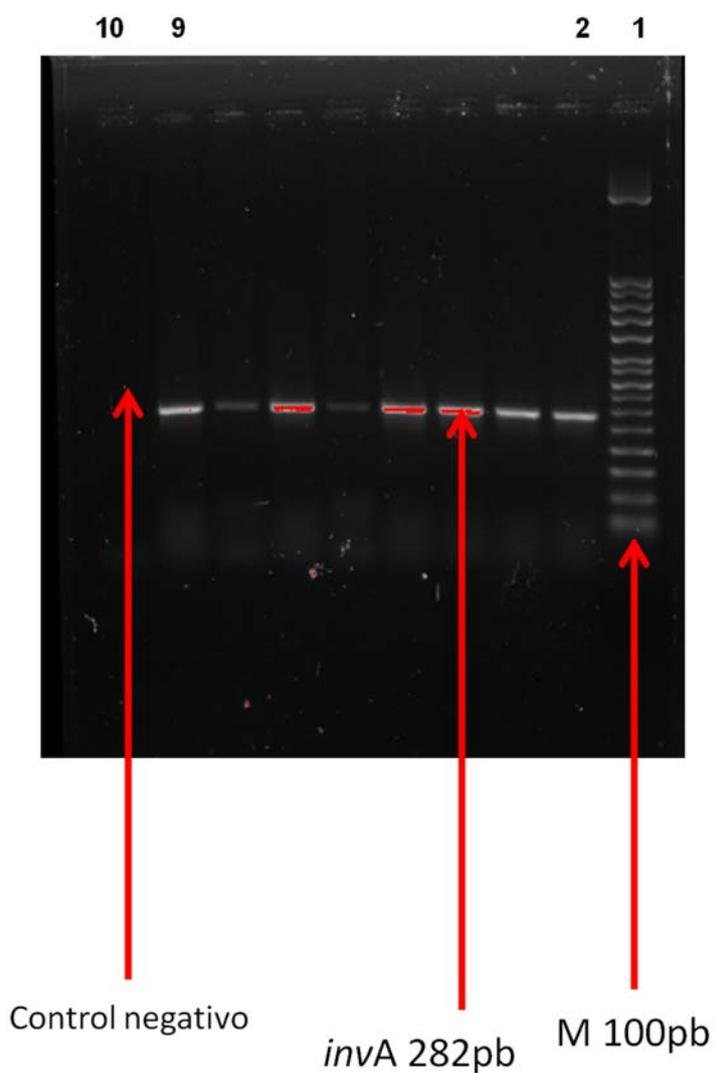


Figura 12. Amplificación del fragmento del gen *invA*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 9 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 282pb; y finalmente el carril número 10 se encuentra el control negativo.

6.5. Gen *orfL*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 96.4% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 332pb del gen *orfL* de *Salmonella* (Fig. 13).

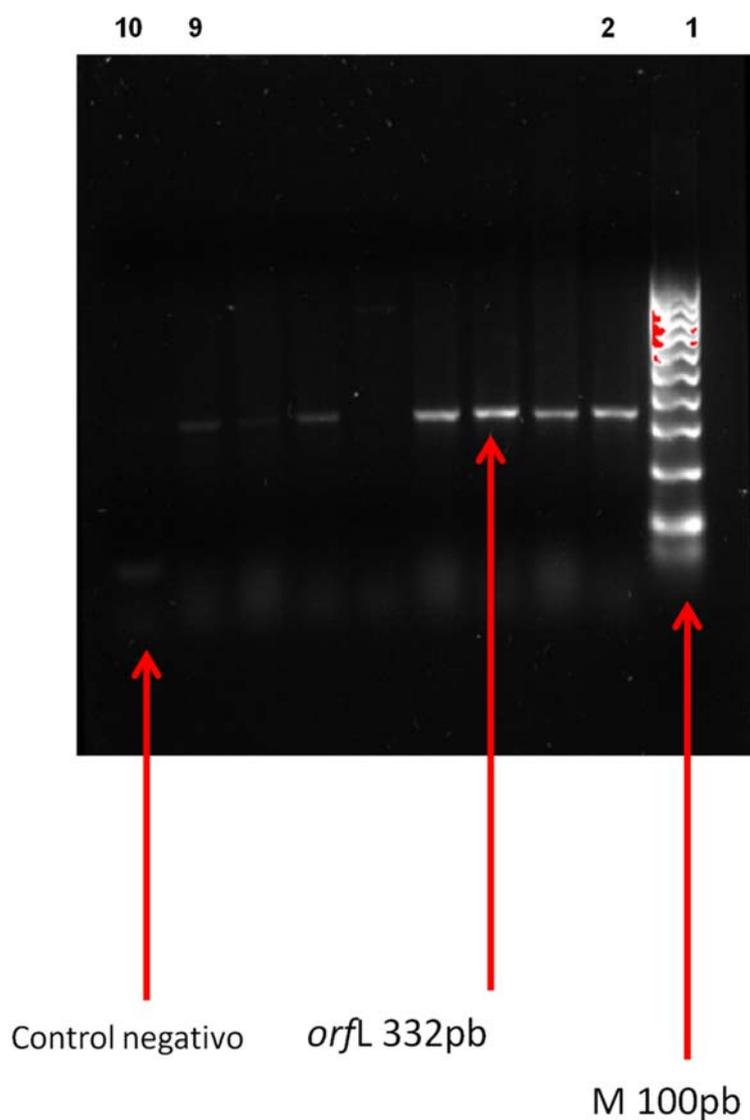


Figura 13. Amplificación del fragmento del gen *orfL*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 9 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 332pb; y finalmente el carril número 10 se encuentra el control negativo.

Cuadro 6. Gen *orfL* 332pb

Con un 96.4% de muestras positivas

Muestras negativas 3

NUMERO	NUMERO DE MUESTRA	SEROVAR	Origen
Zoológico			
1	135	Weltevreden	heces <i>Sus scrofa domestica</i>
2	105	Albany	Pollo crudo
Acuario			
3	20.3	Sp	heces <i>Rattus rattus</i>

6.6. Gen *sitC*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 96.4% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 768pb del gen *sitC* de *Salmonella* (Fig. 14).

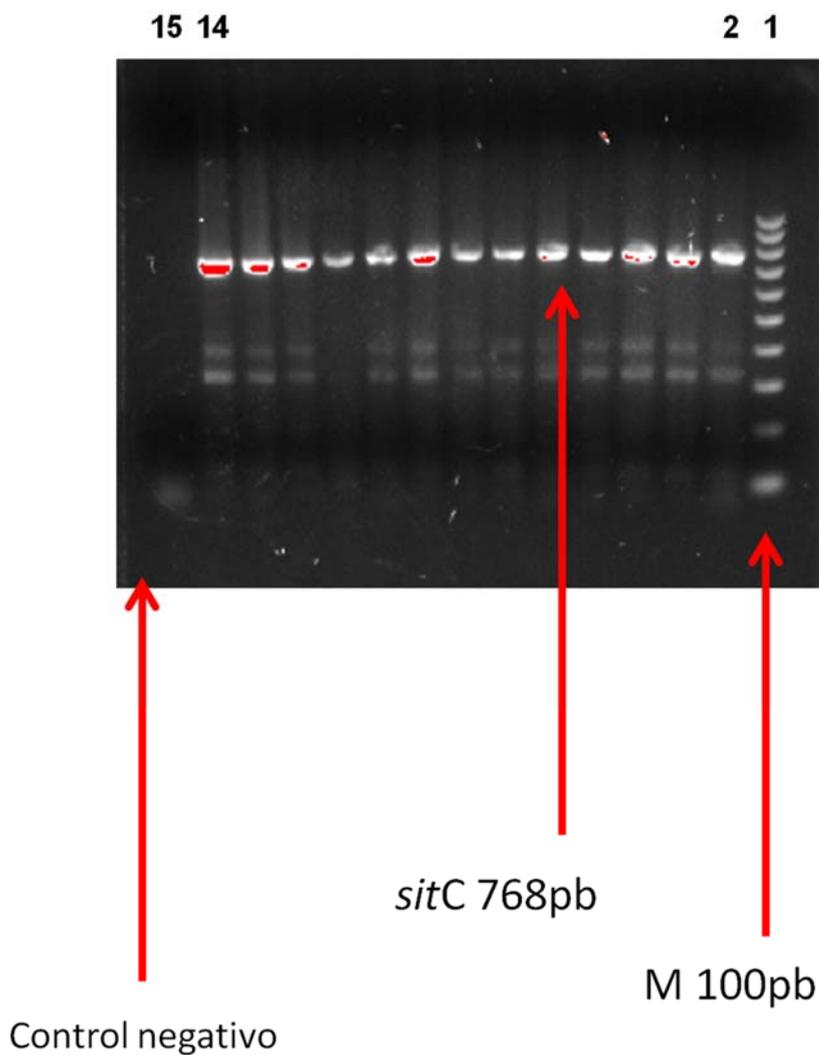


Figura 14. Amplificación del fragmento del gen *sitC*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 14 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 768pb; y finalmente el carril número 15 se encuentra el control negativo.

Cuadro 7. Gen *sitC* 768pb

Con un 96.4% de muestras positivas

Muestras negativas 3

NUMERO	NUMERO DE MUESTRA	SEROVAR	Origen
Zoológico			
1	138	Sandiego	heces <i>Python regius</i>
2	105	Albany	Pollo crudo
Acuario			
3	20.3	Sp	heces <i>Rattus rattus</i>

6.7. Gen *spiC*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 100% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 301pb del gen *spiC* de *Salmonella* (Fig. 15).

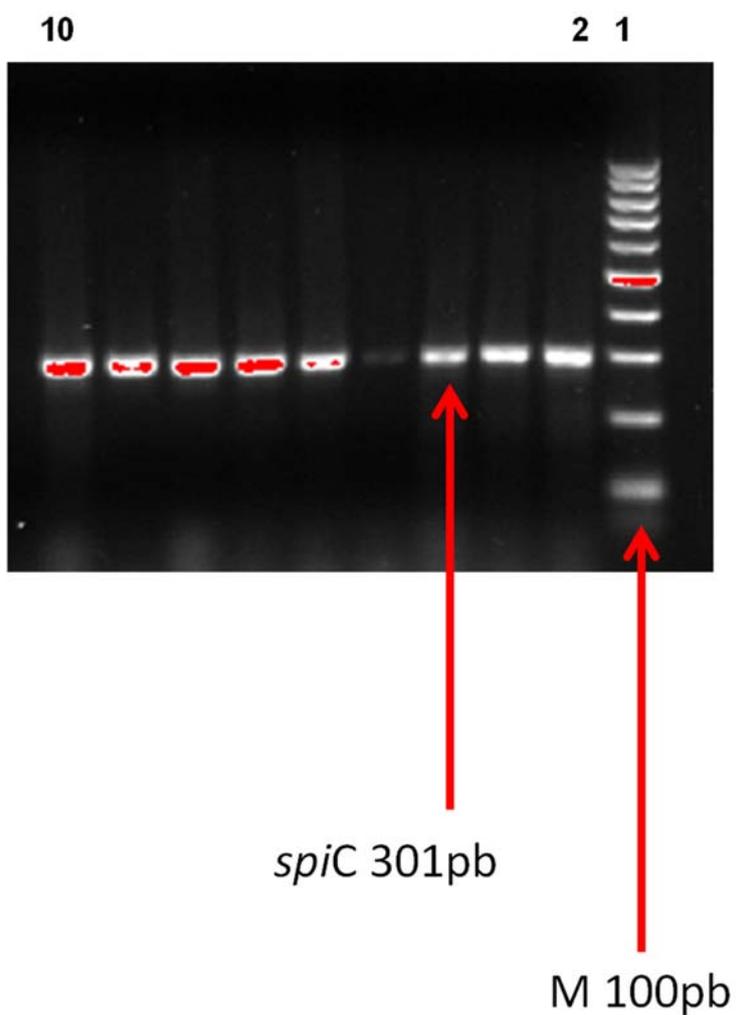


Figura 15. Amplificación del fragmento del gen *spiC*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 10 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 301pb.

6.8. Gen *sifA*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 100% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 449pb del gen *sifA* de *Salmonella* (Fig. 16).

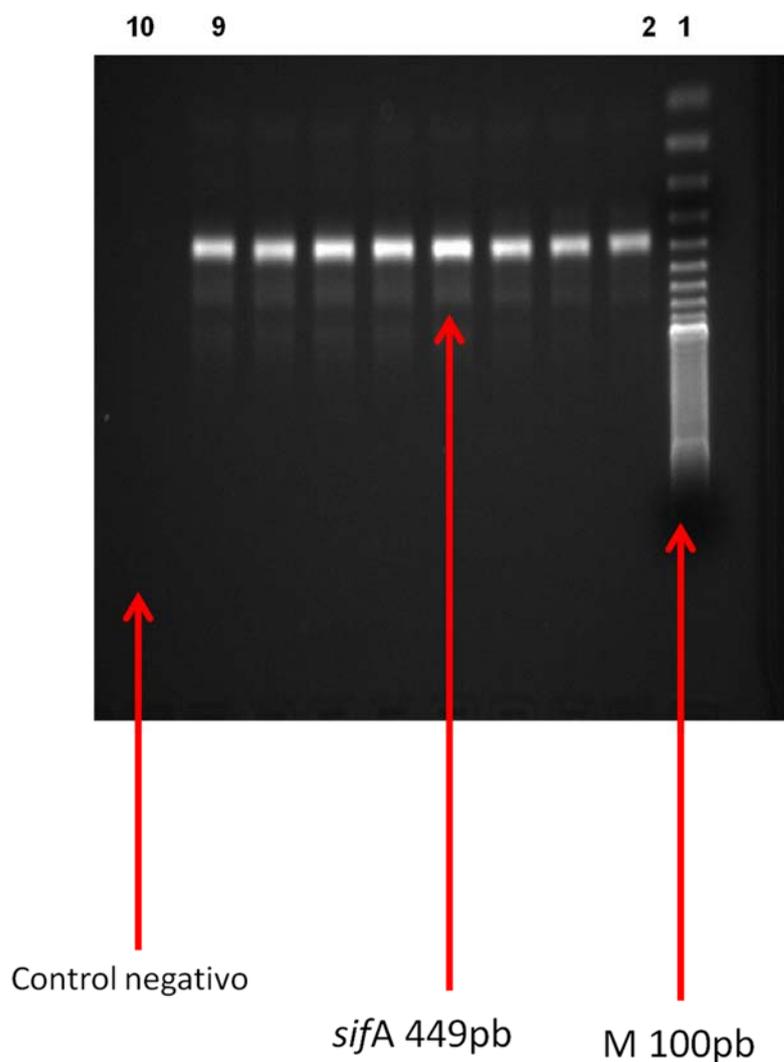


Figura 16. Amplificación del fragmento del gen *sifA*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 9 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 449pb; y finalmente el carril número 10 se encuentra el control negativo.

6.9. Gen *misL*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 94% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 561pb del gen *misL* de *Salmonella* (Fig. 17).

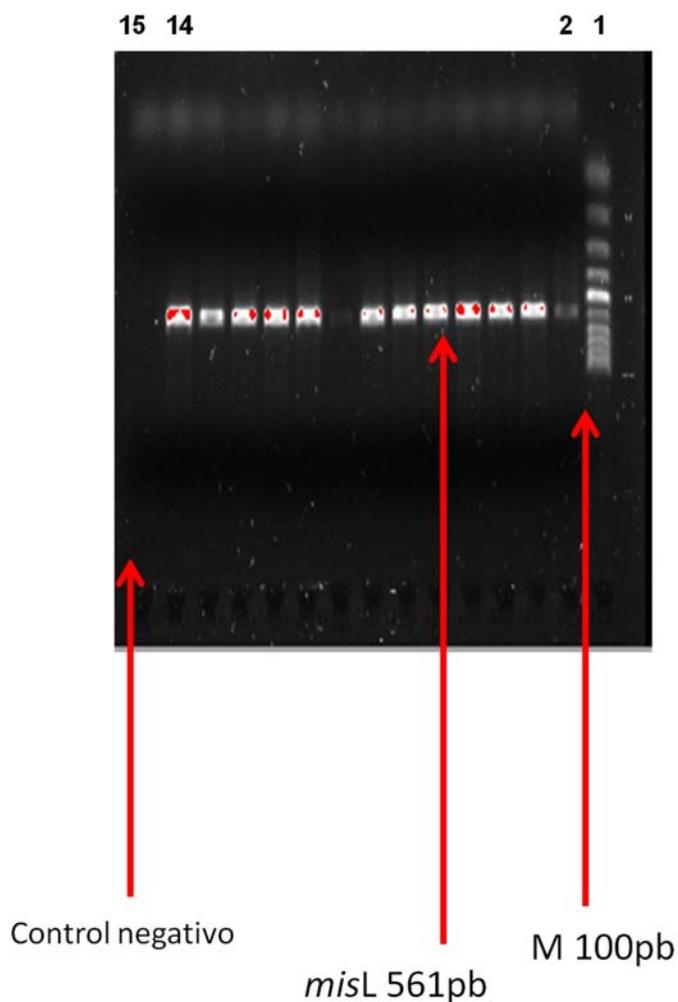


Figura 17. Amplificación del fragmento del gen *misL*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 14 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 561pb; y finalmente el carril número 15 se encuentra el control negativo.

Cuadro 8. Gen *misL* 561pb

Con un 94% de muestras positivas

Muestras negativas 5

NUMERO	NUMERO DE MUESTRA	SEROVAR	ORIGEN
Zoológico			
1	58	Sandiego	heces <i>Python regius</i>
2	138	Sandiego	heces <i>Python regius</i>
3	135	Weltevreden	heces <i>Sus scrofa domestica</i>
Acuario			
4	43.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
5	56	Give	heces <i>Iguana iguana</i>

6.10. Gen *pipD*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 100% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 399pb del gen *pipD* de *Salmonella* (Fig. 18).

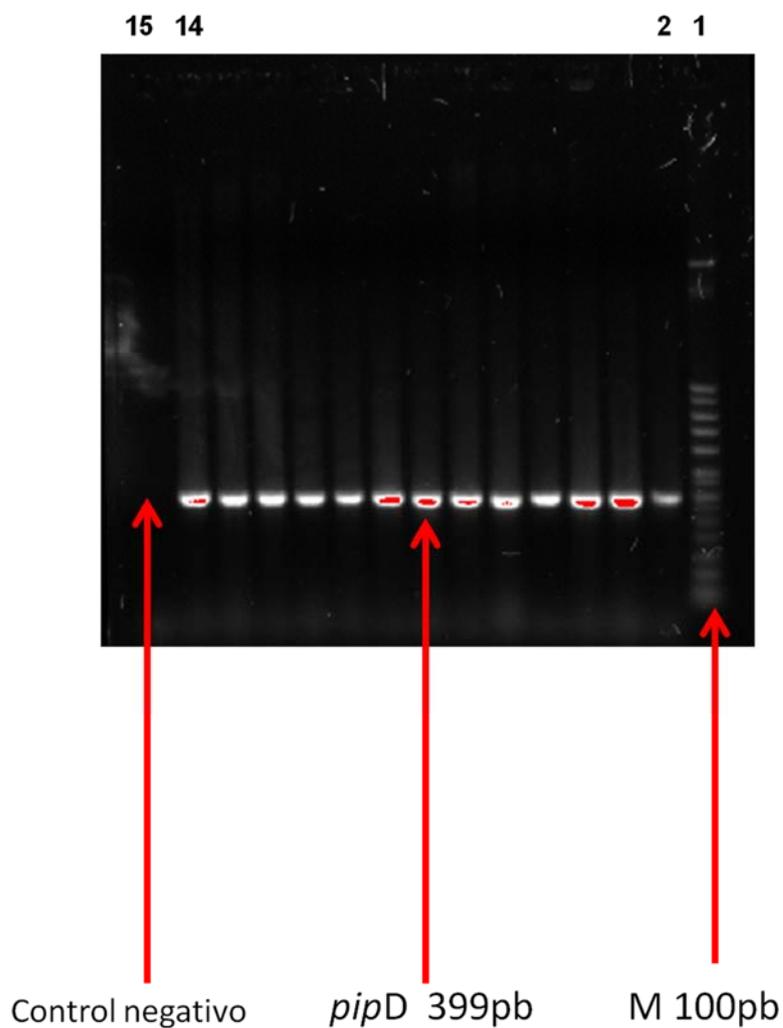


Figura 18. Amplificación del fragmento del gen *pipD*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 14 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 399pb; y finalmente el carril número 15 se encuentra el control negativo.

6.11. Gen *iroN*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 96.4% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 1,205pb del gen *iroN* de *Salmonella* (Fig. 19).

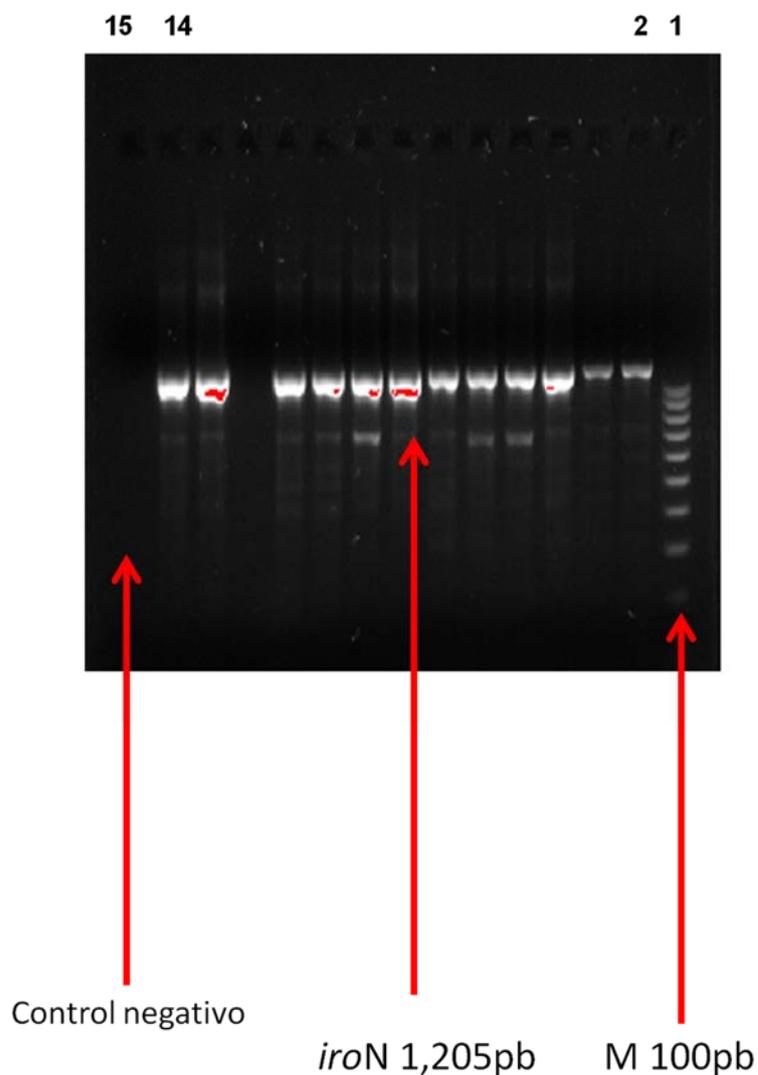


Figura 19. Amplificación del fragmento del gen *iroN*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 14 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 1,205pb; y finalmente el carril número 15 se encuentra el control negativo.

Cuadro 9. Gen *iroN* 1,205pb

Con un 96.4% de muestras positivas

Muestras negativas 3

NUMERO	NUMERO DE MUESTRA	SEROVAR	ORIGEN
Zoológico			
1	135	Weltevreden	heces <i>Sus scrofa domestica</i>
2	138	Sandiego	heces <i>Python regius</i>
3	105	Albany	Pollo crudo

6.12. Gen *pefA*

Se analizaron 83 muestras provenientes del Zoológico de Culiacán y el Acuario de Mazatlán, con un total de 22.8% de muestras positivas; observándose la amplificación del fragmento de 156pb del gen *pefA* de *Salmonella* (Fig. 20).

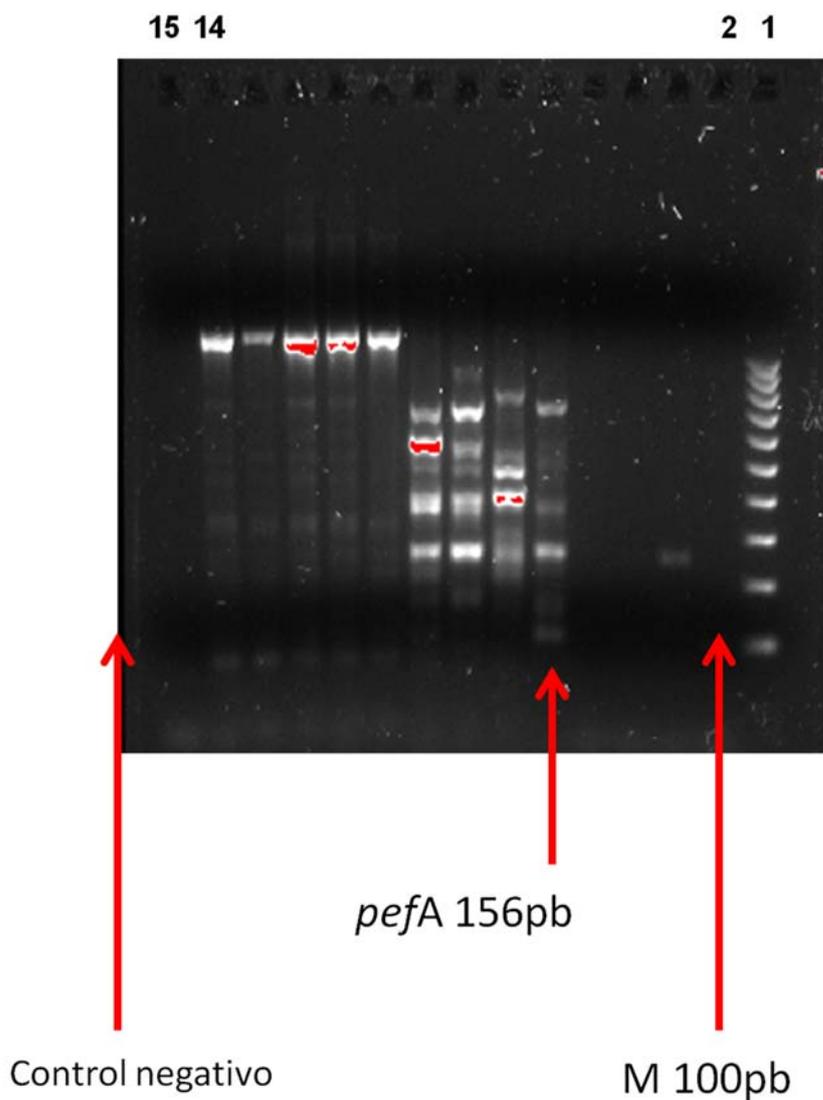


Figura 20. Amplificación del fragmento del gen *pefA*. El carril número 1 se encuentra el marcador de 100pb, del carril número 2 al número 14 están las muestras analizadas con un tamaño esperado de 156pb; y finalmente el carril número 15 se encuentra el control negativo.

Cuadro 10. Gen *pefA* 156pb

Muestras positiva 19 con un 22.8%

NUMERO	NUMERO DE MUESTRA	SEROVAR	Origen
Zoológico			
1	15.2	Albany	heces <i>Lynx rufus</i>
2	16.2	Albany	Heces <i>Leopardus pardalis</i>
3	51	Albany	Heces <i>Leopardus pardalis</i>
4	119	Albany	<i>Periplaneta americana</i>
5	115	Albany	<i>Periplaneta americana</i>
6	27.2	O: E2 H:r.-	heces aves acuáticas
7	89.1	Weltevreden	heces <i>Columba flavirostris</i>
8	4	Oranienburg	heces <i>Saimiri sciureus</i>
9	64	Oranienburg	heces <i>Urocyon cinereoargenteus</i>
Acuario			
10	23.2	Sp	suelo aves acuáticas
11	27.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
12	43.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
13	21.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
14	25.1	Saintpaul	heces aves acuáticas
15	22.1	Poona	heces <i>Psittaciformes birds</i>
16	29.3	Panamá	heces <i>Rana spp</i>
17	10	Agona	heces <i>Ara spp</i>
18	22.3	Enteriditis	heces <i>Psittaciformes birds</i>
19	56	Give	heces <i>Iguana iguana</i>

6.13. Serovares

- Todos los genes amplificaron en el serovar Albany en su mayor totalidad, a excepción de los genes *sitC*, *orfL* y *iroN* con un 96.2% , el gen *prgH* con un 65.3%, *sopE* con un 19.2% y *pefA* con un 19.2%.
- Oranienburg amplifico todos los genes en un 100% a excepción del gen *sopE* que no amplifico en el serovar.
- Weltevreden amplifico en un 75% el gen *prgH*, *misL*, *orfL* y *iroN*, un 50% en *sopE* y 25% *pefA*.
- San Diego amplifico un 83.3% los genes *sitC* y *iroN*, un 66.6% el gen *misL*, 33% el gen *prgH*, mientras que los genes *sopE* y *pefA* no amplificaron.
- Derby amplifico en un 100% todos los genes a excepción del gen *prgH* con un 66.6%, mientras que el gen *pefA* no amplifico.
- Braenderup amplifico con un 50% el gen *prgH* y un 33.3% el gen *sopE*. El gen *pefA* no amplifico en el serovar.
- 3, 10, H:r:- amplifico en un 28.5% el gen *prgH*, 14.2% *sopE* y *pefA*.
- 6,7,H:en x:- amplifico los genes *prgH* y *sopE* en un 33.3%, mientras que el gen *pefA* no amplifico en el serovar.
- Poona amplifico en un 25% los genes *prgH*, *sopE* y *pefA*,
- Saintpaul amplifico todos los genes en un 100% a excepción del gen *prgH* con un 25% y *misL* 75%
- Panama todos los genes amplificaron a excepción del gen *prgH* que no amplifico en el serovar.
- Pomona amplifico un 50% los genes *prgH* y *sopE*, mientras que el gen *pefA* no amplifico.
- Newport no amplifico los genes *prgH*, *sopE* y *pefA*
- Enteritidis no amplifico el gen *prgH*
- Javiana no amplifico los genes *prgH* y *pefA*
- Give no amplifico los genes *prgH* y *misL*
- Agona no amplifico los genes *prgH* y *sopE*

6.14. Discusión

En este estudio, encontramos que los genes *sopB*, *invA*, *spiC*, *sifA* y *pipD*, eran comunes en los serovares aislados del zoológico de Culiacán y el acuario de Mazatlán, donde se obtuvo un 100% de muestras positivas. Genes que se ha demostrado que desempeñan un papel en la patogénesis que pueden tener una asociación específica del serovar. Una serie de genes implicados en virulencia de las ISP que codifica un sistema de secreción tipo III requerido para la invasión de células epiteliales (Chan *et al.* 2003).

El gen *invA* de 282pb codifica en la ISP-1 para una proteína en el interior y la membrana externa, que es esencial para la invasión de células epiteliales, amplifico en todos los serovares (Dione 2011).

El gen *sopB* de 220pb que se encuentra en la ISP-2 se conoce por su actividad de inositol fosfato fosfatasa, también reorganiza el citoesqueleto de actina. Promueve reordenamientos de actina subcortical y fisión de membrana durante la entrada bacteriana (Ochoa y Rodriguez 2005, Barthel *et al.*, 2003).

Los genes *spiC* de 301pb y *sifA* de 449pb se encuentran en la ISP-2 que contribuyen en la supervivencia dentro del macrófago, *spiC* juega un papel central en la infección por macrófagos de mamíferos, al inhibir la fusión fagosoma-lisosoma y el tráfico celular. También se requiere para la actividad de actina ADP-ribosilasa SpvB. Se transloca al citosol de los macrófagos a través del sistema de secreción tipo III de la (SPI-2) que funciona intracelularmente para translocar proteínas a través de la membrana fagosomal (Uchiya *et al.* 1999 y Browne *et al.* 2008). El gen *sifA* funciona para alterar la fisiología de la célula huésped y promover la supervivencia bacteriana en los tejidos del huésped. Esta proteína es necesaria para la tubulación endosomal y la formación de filamentos inducidos por *Salmonella* (*Sifs*), que son estructuras filamentosas que contienen glicoproteínas de membrana lisosómicas dentro de las células epiteliales (Brumell *et al.* 2002, Boucrot *et al.* 2005 y Ohlson *et al.* 2008).

Gen *pipD* de 399pb ubicado en la ISP-5 que contribuye a la enteritis se presento en todos los serovares estudiados. Un estudio realizado por Dione *et al.* 2012 se identificaron 12 genes de virulencia (*prgH*, *sopB*, *sopE*, *invA*, *sitC*, *spiC*, *sifA*, *misL*, *orfL*, *pipD*, *iroN* y *pefA*) con una prevalencia de Brancaster S., S. Agona,

Goelz S., S. Kentucky, Javiana. (> 70%) a excepción de los genes *sopE* y *pefA* que ocurrió en un 33% y 44% de los aislamientos respectivamente. El gen *invA* fue más frecuente con un (99,5%) observada.

En los genes *sitC*, *orfL*, *iroN* y *misL*, presentaron cierta similitud con las muestras que no amplificaron, en los serovares Albany muestra de pollo crudo, San Diego muestra de una pitón y Weltevreden muestra de un cerdo vietnamita, lo que sugiere que no todos los serovares van a presentar los mismos genes, esto se puede ver relacionado por la transferencia horizontal, que es una conjugación bacteriana para transferir material genético, a partir de la fimbria que interconecta dos bacterias de la misma especie o de especie diferente construyendo un puente entre ambos citoplasmas permitiendo la transferencia de plásmidos entre las bacterias a través de este mecanismo de transformación genética, para nuevas características ventajosas para la supervivencia (resistencia a los antibióticos) que pueden transferirse entre bacterias, incluso pertenecientes a especies diferentes (Jones 2013 y Baraibar 2012).

El gen *sopE* de 652pb ubicado en la ISP-1 amplificó un 28.9%. el gen es un activador para CDC42 y RAC1 acoplado directamente estas Rho GTPasas y actuando como potente factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF). Esta activación resulta en reordenamientos de citoesqueleto de actina y estimula el arrugamiento de la membrana, promoviendo la entrada bacteriana en células no fagocíticas. También activa MAPK8, indicando que es capaz de estimular vías de señalización que pueden conducir a respuestas nucleares. Las cepas de *S. typhimurium* que expresan SopE se asocian con epidemias severas (Hardt *et al.* 1998 y Friebel *et al.* 2001).

Cuadro 11. Genes amplificados

Gen	Muestras positivas (%)
<i>prgH</i>	43.3
<i>sopB</i>	100
<i>sopE</i>	28.9
<i>invA</i>	100
<i>sitC</i>	96.4
<i>spiC</i>	100
<i>sifA</i>	100
<i>misL</i>	94
<i>orfL</i>	96.4
<i>pipD</i>	100
<i>iroN</i>	96.4
<i>pefA</i>	22.8

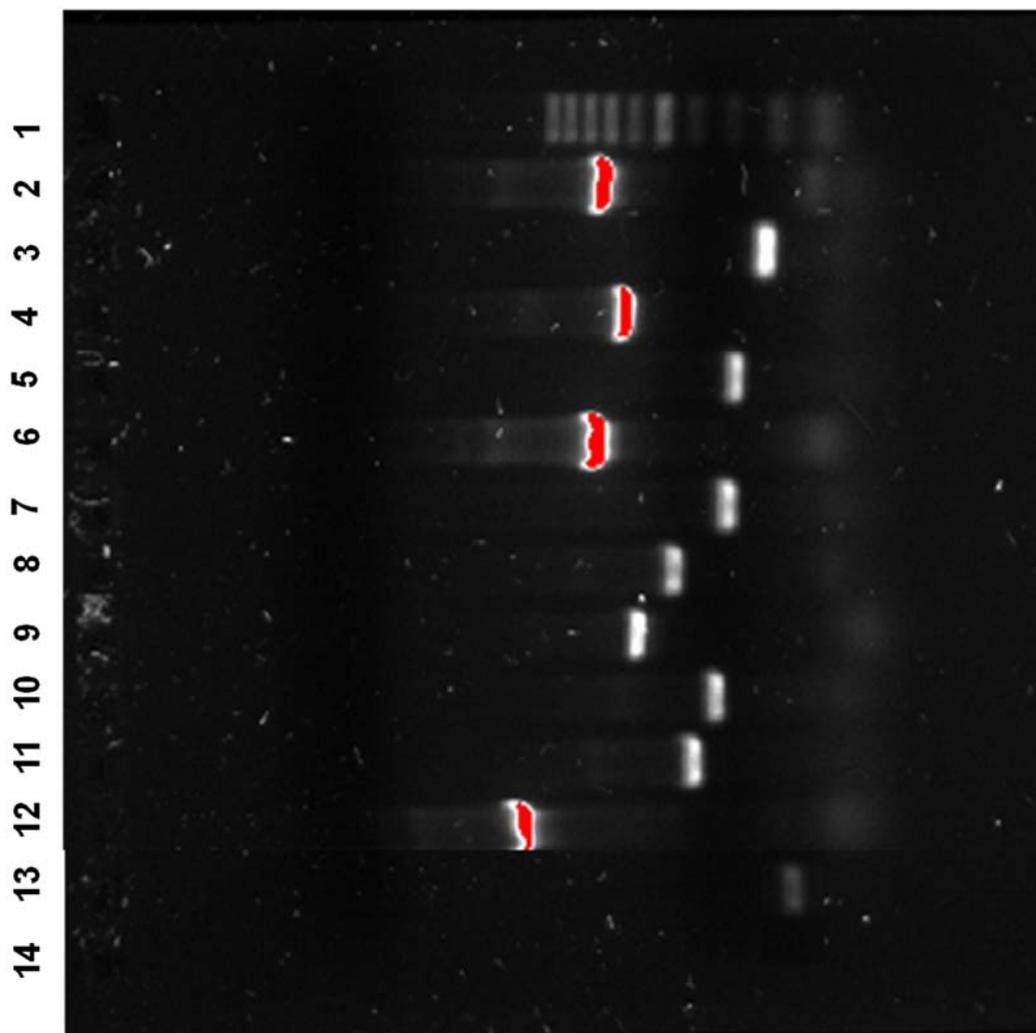


Figura 21. Amplificación de genes de patogenicidad. En el carril °N 1 se encuentra el marcador de peso molecular de 100pb, carril °N 2 la amplificación del fragmento del gen *prgH* de 756pb, en el carril °N 3 esta la amplificación del fragmento del gen *sopB* de 220pb, en el carril °N4 se encuentra la amplificación del fragmento del gen *sopE* de 652pb, en el carril °N5 esta la amplificación del fragmento del gen *invA* de 282pb, del carril °N6 esta la amplificación del fragmento del gen *sitC* de 768pb, el carril °N7 esta la amplificación del fragmento del gen *spiC* de 301pb, en el carril °N8 esta la amplificación del fragmento del gen *sifA* de 449pb, en el carril °N9 esta la amplificación del fragmento del gen *misL* de 561pb, en el carril °N 10 esta la amplificación del fragmento del gen *orfL* de 332pb, en el carril °N 11 esta la amplificación del fragmento del gen *pipD* de 399pb, en el carril °N 12 se encuentra la amplificación del fragmento del gen *iroN* de 1,205pb, en el carril °N 13 esta la amplificación del fragmento del gen *pefA* de 156pb, y finalmente en el carril °N14 esta el control negativo.

VII. CONCLUSIÓN

El número de serovares, indica relativamente una alta incidencia de ciertos genes tales como *invA*, *sopB*, *sipC*, *sifA* y *pipD*, lo que sugiere que las fuentes animales y fauna nociva albergaban genes de virulencia. Animales como portadores asintomáticos. A pesar de que la transmisión de animal a hombre aún no ha sido elucidado, estos resultados sugieren que los animales podrían desempeñar un papel importante en la epidemiología.

El gen *invA*, siendo un gen altamente conservado en *Salmonella* como se muestra en varios estudios, permanece como una herramienta molecular adecuada para diagnosticar *Salmonella* en humanos, así como en animales y productos de origen animal.

Los serovares analizados, amplificaron con menor porcentaje en los genes de patogenicidad de *pefA*, *sopE* y *prgH*, lo que sugiere que predominan otros genes con la misma función, para la invasión del macrófago y supervivencia dentro de la célula huésped, en las muestras analizadas.

Los resultados han demostrado las importantes implicaciones de *Salmonella* con respecto a la propagación y la persistencia de genes de resistencia y virulencia en *Salmonella* y al uso juicioso de agentes antimicrobianos en humanos y animales.

VIII. LITERATURA CITADA

- Ahmer, B. M., & Gunn, J. S. 2011. Interaction of *Salmonella* spp. with the intestinal microbiota. *Frontiers in microbiology*, 2.
- Anjum M. F., Thomson N. R. 2013. 4 Characterizing *Salmonella* Genomes. *Salmonella in Domestic Animals*, 58.
- Baraibar, V. 2012. Rol de fimbrias y flagelos en la formación y desarrollo de biofilms de *Proteus mirabilis* uropatógeno.
- Barthel, M., Hapfelmeier, S., Quintanilla-Martínez, L., Kremer, M., Rohde, M., Hogardt, M., ... & Hardt, W. D. 2003. Pretreatment of mice with streptomycin provides a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium colitis model that allows analysis of both pathogen and host. *Infection and immunity*, 71(5), 2839-2858.
- Bäumler A. J., Gilde A. J., Tsolis R. M., Van Der Velden A. W., Ahmer B. M., and Heffron F. 1997. Contribution of horizontal gene transfer and deletion events to development of distinctive patterns of fimbrial operons during evolution of *Salmonella* serotypes. *Journal of bacteriology*, 179(2), 317-322.
- Baxter, M. A., & Jones, B. D. 2015. Two-component regulators control hilA expression by controlling fimZ and hilE expression within *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Infection and immunity*, 83(3), 978-985.
- Beuzón, C. R., Méresse, S., Unsworth, K. E., Ruíz-Albert, J., Garvis, S., Waterman, S. R., ... & Holden, D. W. 2000. *Salmonella* maintains the integrity of its intracellular vacuole through the action of SifA. *The EMBO journal*, 19(13), 3235-3249.
- Biswas R., Agrawal R. K., Bhilegaonkar K. N., Kumar A., Nambiar P., Rawat S., Singh M. 2011 Cloning and sequencing of biofilm-associated protein (*bapA*) gene and its occurrence in different serotypes of *Salmonella*. *Lett Appl Microbiol*. 52 (2):138-43.
- Blondel, C. J., Jiménez, J. C., Leiva, L. E., Álvarez, S. A., Pinto, B. I., Contreras, F., ... & Contreras, I. 2013. The type VI secretion system encoded in *Salmonella* pathogenicity island 19 is required for *Salmonella enterica*

- serotype Gallinarum survival within infected macrophages. *Infection and immunity*, 81(4), 1207-1220.
- Boucrot, E., Henry, T., Borg, J. P., Gorvel, J. P., & Méresse, S. 2005. The intracellular fate of *Salmonella* depends on the recruitment of kinesin. *Science*, 308(5725), 1174-1178.
- Brankatschk, K., Kamber, T., Pothier, J. F., Duffy, B., & Smits, T. H. 2014. Transcriptional profile of *Salmonella* enterica subsp. enterica serovar Weltevreden during alfalfa sprout colonization. *Microbial biotechnology*, 7(6), 528-544.
- Braukmann, M., Methner, U., & Berndt, A. 2015. Immune reaction and survivability of *Salmonella* typhimurium and *Salmonella* infantis after infection of primary avian macrophages. *PloS one*, 10(3), e0122540.
- Browne, S. H., Hasegawa, P., Okamoto, S., Fierer, J., & Guiney, D. G. 2008. Identification of *Salmonella* SPI-2 secretion system components required for SpvB-mediated cytotoxicity in macrophages and virulence in mice. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 52(2), 194-201.
- Brumell, J. H., Goosney, D. L., & Finlay, B. B. 2002. SifA, a Type III Secreted Effector of *Salmonella* typhimurium, Directs *Salmonella*-Induced Filament (Sif) Formation Along Microtubules. *Traffic*, 3(6), 407-415.
- Bueno, S. M., González, P. A., Schwebach, J. R., & Kalergis, A. M. 2007. T cell immunity evasion by virulent *Salmonella* enterica. *Immunology letters*, 111(1), 14-20.
- Cameron, A. D., & Dorman, C. J. 2012. A fundamental regulatory mechanism operating through OmpR and DNA topology controls expression of *Salmonella* pathogenicity islands SPI-1 and SPI-2. *PLoS genetics*, 8(3), e1002615.
- Chan, K., Baker, S., Kim, C. C., Detweiler, C. S., Dougan, G., & Falkow, S. 2003. Genomic comparison of *Salmonella* enterica serovars and *Salmonella* bongori by use of an *S. enterica* serovar Typhimurium DNA microarray. *Journal of bacteriology*, 185(2), 553-563.

- Costerton J. W. 1995. Overview of microbial biofilm. *J. Indus Microbiol.* 15: 137-140.
- Cubillos D. A. P. 2009. Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias.
- Darwin K. H., Miller V. L. 1999. Molecular basis of the interaction of *Salmonella* with the intestinal mucosa. *Mol Microbiol Rev.*
- De Jong, H. K., Parry, C. M., van der Poll, T., & Wiersinga, W. J. 2012. Host–pathogen interaction in invasive salmonellosis. *PLOS pathog*, 8(10), e1002933.
- Dione M. M., Ikumapayi U., Saha D., Mohammed N. I., Adegbola R. A., Geerts S., and Antonio M. 2011. Antimicrobial resistance and virulence genes of non-typhoidal *Salmonella* isolates in The Gambia and Senegal. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 5(11), 765-775.
- Espinoza, R. A., Silva-Valenzuela, C. A., Amaya, F. A., Urrutia, Í. M., Contreras, I., & Santiviago, C. A. 2017. Differential roles for pathogenicity islands SPI-13 and SPI-8 in the interaction of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhi with murine and human macrophages. *Biological research*, 50(1), 5.
- Friebel, A., Ilchmann, H., Aepfelbacher, M., Ehrbar, K., Machleidt, W., & Hardt, W. D. 2001. SopE and SopE2 from *Salmonella* typhimurium activate different sets of RhoGTPases of the host cell. *Journal of Biological Chemistry*, 276(36), 34035-34040.
- Galan, J. E., Ginocchio, C., & Costeas, P. 1992. Molecular and functional characterization of the *Salmonella* invasion gene *invA*: homology of *InvA* to members of a new protein family. *Journal of bacteriology*, 174(13), 4338-4349.
- Galyov, E. E., Wood, M. W., Rosqvist, R., Mullan, P. B., Watson, P. R., Hedges, S., & Wallis, T. S. 1997. A secreted effector protein of *Salmonella* Dublin is translocated into eukaryotic cells and mediates inflammation and fluid secretion in infected ileal mucosa. *Molecular microbiology*, 25(5), 903-912.

- Hapfelmeier, S., Stecher, B., Barthel, M., Kremer, M., Müller, A. J., Heikenwalder, M., ... & Hardt, W. D. 2005. The *Salmonella* pathogenicity island (SPI)-2 and SPI-1 type III secretion systems allow *Salmonella* serovar typhimurium to trigger colitis via MyD88-dependent and MyD88-independent mechanisms. *The Journal of Immunology*, 174(3), 1675-1685.
- Hapfelmeier, S., Stecher, B., Barthel, M., Kremer, M., Müller, A. J., Heikenwalder, M., ... & Hardt, W. D. 2005. The *Salmonella* pathogenicity island (SPI)-2 and SPI-1 type III secretion systems allow *Salmonella* serovar typhimurium to trigger colitis via MyD88-dependent and MyD88-independent mechanisms. *The Journal of Immunology*, 174(3), 1675-1685.
- Haraga, A., Ohlson, M. B., & Miller, S. I. 2008. *Salmonella* interplay with host cells. *Nature Reviews Microbiology*, 6(1), 53-66.
- Hardt, W. D., Chen, L. M., Schuebel, K. E., Bustelo, X. R., & Galán, J. E. 1998. *S. typhimurium* encodes an activator of Rho GTPases that induces membrane ruffling and nuclear responses in host cells. *Cell*, 93(5), 815-826.
- Hassena, A. B., Barkallah, M., Fendri, I., Grosset, N., Neila, I. B., Gautier, M., & Gdoura, R. 2015. Real time PCR gene profiling and detection of *Salmonella* using a novel target: the *siiA* gene. *Journal of microbiological methods*, 109, 9-15.
- Hughes L. A., Shopland S., Wigley P., Bradon H., Leatherbarrow A. H., Williams N. J., Bennett M., de Pinna E., Lawson B., Cunningham A. A., Chantrey J. 2008. Characterisation of *Salmonella* enteric serotype Typhimurium isolates from wild birds in northern England from 2005 -2006. *BMC Vet Res* 4: 4.
- Jones, M. A. 2013. Fimbriae and Flagella of *Salmonella* enterica. *Salmonella in Domestic Animals*, 38.
- Mahajan R.K., Khan D., Chandel S., Kumar N., Hans C. y Chaudhry R. 2003. Fatal case of *Salmonella* enteric subsp. *Arizonae* gastroenteritis in an infant with microcephaly. *Journal of Clinical Microbiology*. 41: 5830-5832.
- Miao E. A., Rajan J. V. 2011. *Salmonella* and caspase-1: a complex interplay of detection and evasion. *Frontiers in microbiology*, 2.

- Miller I. S., Hohmann E. L., Pegues D. A. 2013. *Salmonella* (Including *Salmonella typhi*). In: Mandel, Douglas and Bennett, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed., Churchill Livingstone, New York.
- Mills, M., & Payne, S. M. 1995. Genetics and regulation of heme iron transport in *Shigella dysenteriae* and detection of an analogous system in *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Bacteriology*, 177(11), 3004-3009.
- Miroid, S., Ehrbar, K., Weissmüller, A., Prager, R., Tschäpe, H., Rüssmann, H., & Hardt, W. D. 2001. *Salmonella* Host Cell Invasion Emerged by Acquisition of a Mosaic of Separate Genetic Elements, Including *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI1), SPI5, and sopE2. *Journal of bacteriology*, 183(7), 2348-2358.
- Molina-Quiroz, R. C., Silva, C. A., Molina, C. F., Leiva, L. E., Reyes-Cerpa, S., Contreras, I., & Santiviago, C. A. 2015. Exposure to sub-inhibitory concentrations of cefotaxime enhances the systemic colonization of *Salmonella* Typhimurium in BALB/c mice. *Open biology*, 5(10), 150070.
- Ochman, H., Soncini, F. C., Solomon, F., & Groisman, E. A. 1996. Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* survival in host cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(15), 7800-7804.
- Ochoa I. M. F., Rodríguez, A. V. 2005. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 47(1-2), 25-42.
- Ogawa, N., & Miyashita, K. 1999. The chlorocatechol-catabolic transposon Tn5707 of *Alcaligenes eutrophus* NH9, carrying a gene cluster highly homologous to that in the 1, 2, 4-trichlorobenzene-degrading bacterium *Pseudomonas* sp. Strain P51, confers the ability to grow on 3-chlorobenzoate. *Applied and environmental microbiology*, 65(2), 724-731.
- Ohlson, M. B., Huang, Z., Alto, N. M., Blanc, M. P., Dixon, J. E., Chai, J., & Miller, S. I. 2008. Structure and function of *Salmonella* SifA indicate that its interactions with SKIP, SseJ, and RhoA family GTPases induce endosomal tubulation. *Cell host & microbe*, 4(5), 434-446.
- Perrett C. A., Zhou D. 2011. Type three secretion system effector translocation: one step or two. *Frontiers in microbiology*, 2.

- Sánchez-Jiménez M. M., Cardona-Castro N. M., Canu N., Uzzau S., Rubino S. 2010. Distribution of pathogenicity islands among Colombian isolates of *Salmonella*. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 4(09), 555-559.
- Sanderson K. E., Nair S., Barrow P. A., Methner U. 2013. Taxonomy and species concepts in the genus *Salmonella*. *Salmonella in Domestic Animals*, 2, 1-19.
- Shah D. H., Lee M. J., Park J. H., Lee J. H., Eo S. K., Kwon J. T., Chae J. S. 2005. Identification of *Salmonella* gallinarum virulence genes in a chicken infection model using PCR based signature-tagged mutagenesis. *Microbiology*, 151(12), 3957-3968.
- Shimizu K. 2013. Metabolic regulation of a bacterial cell system with emphasis on *Escherichia coli* metabolism. *ISRN biochemistry*.
- Silva-Hidalgo G., López-Moreno H. S., Ortiz-Navarrete V. F., Juárez-Barranco F., López-Valenzuela M. 2012. Excreción fecal de *Salmonella* Albany, su aislamiento en la ración alimenticia y repercusión en el estado de salud de un ocelote (*Leopardus pardalis*) en cautiverio. *Veterinaria México*, 43(1), 59-69.
- Silva-Hidalgo G., López-Valenzuela M., Juárez-Barranco F., Montiel-Vázquez E., Valenzuela-Sánchez B. 2014. *Salmonella* serovars and antimicrobial resistance in strains isolated from wild animals in captivity in Sinaloa, Mexico. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 62(3), 129-134.
- Stanchi O. 2007. *Microbiología Veterinaria*. Primera Edición. Editorial Intermedica. Buenos Aires, Republica Argentina. 210 – 214 p.
- Sterzenbach T., Crawford R. W., Winter S. E., Bäuml A. J. 2013. 5 *Salmonella* Virulence Mechanisms and their Genetic Basis. In *Salmonella in Domestic Animals* (p. 80). CABI Publishing Wallingford, England.
- Suter E. 1956. Interaction between phagocytes and pathogenic microorganisms. *Bacteriology reviews*. 20:94-132.
- Terragno R., Caffer M., Bruna S., Binsztejn N. 2003. *Manual de Procedimientos. Salmonella: Parte I. Aislamiento, Identificación y Serotipificación*. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Global Salm – Surv y CDC. Buenos Aires Argentina.

- Tükel, C., M. Akçelik, M.F. de Jong, O. Simsek, R.M. Tsolis, and A.J. Bäuml. 2007. MarT activates expression of the MisL autotransporter protein of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *J. Bacteriol.* 189: 3922-3926. 17351045
- Uchiya, K. I., Barbieri, M. A., Funato, K., Shah, A. H., Stahl, P. D., & Groisman, E. A. 1999. A *Salmonella* virulence protein that inhibits cellular trafficking. *The EMBO Journal*, 18(14), 3924-3933.
- Wee, D. H., & Hughes, K. T. 2015. Molecular ruler determines needle length for the *Salmonella* Spi-1 injectisome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(13), 4098-4103.
- Wood, M. W., Jones, M. A., Watson, P. R., Hedges, S., Wallis, T. S., & Galyov, E. E. 1998. Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* enteropathogenicity. *Molecular microbiology*, 29(3), 883-891.
- Wood, M. W., Rosqvist, R., Mullan, P. B., Edwards, M. H., & Galyov, E. E. 1996. SopE, a secreted protein of *Salmonella* Dublin, is translocated into the target eukaryotic cell via a sip-dependent mechanism and promotes bacterial entry. *Molecular microbiology*, 22(2), 327-338.
- Yue, M., & Schifferli, D. M. 2014. Allelic variation in *Salmonella*: an underappreciated driver of adaptation and virulence. *Frontiers in microbiology*, 4, 419.
- Zhou, D., Hardt, W. D., & Galán, J. E. 1999. *Salmonella* typhimurium encodes a putative iron transport system within the centisome 63 pathogenicity island. *Infection and immunity*, 67(4), 1974-1981.