

PREVALÊNCIA DE *Escherichia coli* SHIGA-TOXIGÊNICA EM CORTES DE CARNES E MIÚDOS DE SUÍNOS ABATIDOS NO OESTE DE SANTA CATARINA

PREVALENCE OF SHIGA-TOXIGENIC *Escherichia Coli* IN PORK CUTS AND OFFAL FROM SLAUGHTERED PIGS IN THE WEST OF SANTA CATARINA STATE.

Autores: Larissa Rafaeli IZOLAN, Adriana BALBINOT, Marcella Zampoli TRONCARELLI, Diogenes DEZEN.

Identificação autores: Bolsista PIBIT/CNPq do curso de Medicina Veterinária; Mestranda do PPGPSA/IFC; Docente IFC – Campus Concórdia, Orientador IFC – Campus Concórdia.

RESUMO

Escherichia coli Shiga Toxigênica (STEC) é um patógeno emergente importante na saúde pública e as cepas potencialmente zoonóticas apresentarem os genes *stx* e *eae*. O objetivo deste estudo foi verificar a presença destes genes em cortes e miúdos suínos. Para isto, 740 amostras foram submetidas à PCR em tempo real, as amostras positivas foram cultivadas e os isolados foram submetidas novamente à PCR em tempo real para detecção dos genes. Destas, 140 amostras foram positivas, as quais em 71 foi possível isolar cepas de *E. coli*, Das cepas isoladas, apenas sete apresentaram algum gene de virulência.

Palavras-chave: Suinocultura, *E. coli*, STEC, prevalência.

ABSTRACT

Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) is an important emerging pathogen in public health, and potentially zoonotic strains have the *stx* and *eae* genes. This study aimed to verify the presence of these genes in pork cuts and offal. For this, 740 samples were submitted to real-time PCR, positive samples were cultured, and the isolates were submitted to real-time PCR for gene detection. Of these, 140 samples were positive, which in 71 isolates of *E. coli* strains. Of the isolated strains, only seven had virulence genes.

Keywords: Pig farming, *E. coli*, STEC, prevalence.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A suinocultura é uma atividade de grande importância para a economia mundial. O Brasil é o quarto maior produtor e exportador de carne suína do mundo, sendo o Estado de Santa Catarina o maior produtor do país. As exportações de carne suína brasileira alcançaram um volume de 732,9 mil toneladas incluindo

produtos *in natura* e processados, sendo os principais mercados a Rússia, Hong Kong e China (ABPA, 2016).

Entre os patógenos de importância na suinocultura e na segurança alimentar está a *Escherichia coli* (*E. coli*), uma bactéria Gram-negativa da família *Enterobacteriaceae*, não esporulada, anaeróbica facultativa, fermentativa, em sua maioria móvel. A excreção desta bactéria ocorre através das fezes dos animais e de maneira direta ou indireta pode vir a contaminar os equipamentos dentro dos abatedouros, o que pode levar contaminação de carcaças sadias e conseqüentemente ao produto final destinado ao consumo humano.

Dentre os principais patótipos de *E. coli* causadores de síndromes em suínos e humanos, destaca-se a *E. coli* shiga toxigênica (STEC), um dos patótipos mais importantes para saúde pública devido ao alto grau de infectividade para seres humanos mesmo em baixas quantidades de alimento ingerido (PIGATTO, 2008). Embora sua maior característica seja a produção da Shiga toxina, ela é atribuída a algumas doenças veiculadas aos alimentos, principalmente produtos cárneos, sendo capaz de colonizar o epitélio intestinal (CADONA et al., 2013).

As cepas STECs são caracterizadas pela presença dos genes da toxina Shiga, Stx1, Stx2 e/ou suas variantes (Stx1c-d, Stx2c-g) (SCHMIDT, 2001, FRIEDRICH et al., 2002). As Stx(s) atuam como ribotoxinas que interrompem a síntese proteica dentro da célula e induzem a apoptose, mas também podem estimular a alteração da expressão de genes/proteínas em células epiteliais, endoteliais, mesangiais e monócitos (MELTON-CELSA, 2014). Outro marcador de virulência adicional é o gene *eae*, comum a outras categorias patogênicas de *E. coli*, mas para STEC está relacionado a sua capacidade de causar doenças graves em seres humanos. Este gene codifica uma proteína de membrana chamada Intimina, a qual media o ataque ao enterócito (PIGATTO, 2008).

A identificação de STEC é realizada principalmente pela Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) um dos principais métodos moleculares empregados para detectar a presença dos genes para *stx* e *eae*, seguido da identificação dos sorogrupos (ISO/TS 13136, 2012).

A preocupação com a saúde dos seres humanos e os impactos causados pela presença de STEC em alimentos fez com que alguns países, como a exemplo da África do Sul, tornassem obrigatório no Certificado Internacional de Exportação (CSI) a análise liberatória para *E. coli* patogênica, as STECs, para produtos de origem suína.

Diante disto, o objetivo deste estudo foi detectar a presença de *E. coli* patogênica em cortes e miúdos suínos em uma planta frigorífica no Oeste de Santa Catarina e determinar os sorogrupos prevalentes.

METODOLOGIA

A presença dos genes da toxina Shiga (*stx1* ou *stx2*) e um marcador adicional de virulência (gene *eae*) foi determinada utilizando um ensaio de PCR em tempo real [iQ-Check® STEC VirX (Bio-Rad®, Hercules, California)], seguindo instruções do fabricante. Foram utilizadas 740 amostras de cortes e miúdos de suínos, abatidos em

uma planta frigorífica do Oeste Catarinense. Amostras positivas para pelo menos um dos genes citados foram semeadas em ágar MacConkey com Sorbitol (Smac). As colônias obtidas foram repicadas para ágar Eosina azul de metileno (EMB), onde as que apresentaram aspecto verde metalizado foram submetidas à identificação segundo as características morfo-tintórias e bioquímicas (MARKEY et al., 2013). Após a confirmação da presença de *E. coli*, os isolados foram criopreservados em caldo BHI, e posteriormente foram submetidos a técnica de PCR para comprovar a presença dos genes pesquisados.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Das 740 amostras de cortes e miúdos suínos, 140 apresentaram algum fator de virulência. Destas, foi possível recuperar 71 isolados de *E. coli*, porém em apenas sete isolados foi possível detectar um dos genes de virulência pesquisados.

A baixa taxa de recuperação dos isolados de *E. coli*, que apresentaram fatores de virulência, pode ser devido à heterogeneidade da população das cepas contidas nas amostras. Além disso, a divergência dos resultados entre PCR e isolamento bacteriológico, reflete as diferenças intrínsecas às metodologias empregadas, na qual a PCR é uma técnica mais sensível.

Contudo, a detecção dos genes *stx1*, *2* e/ou *eae*, sugere a presença do patógeno na amostra, o que implica na contaminação dos produtos cárneos devido às falhas no processo de produção (SOUZA et al., 2016). Esse resultado indica que é necessário reforçar a importância do programa de boas práticas de fabricação durante todo o processo na indústria.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho traz evidências relevantes e importantes contribuições para serem levadas em consideração na revisão da frequência de análises para STEC e no desenvolvimento de ações que visem minimizar as contaminações cruzadas dentro do ambiente fabril. As perspectivas de continuidade de pesquisa, estão relacionadas com a caracterização fenotípica e genotípica das amostras isoladas e sua capacidade de formação de biofilmes, uma vez que a associação de tais estruturas contribui para a recontaminação de produtos de origem animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2018**. Disponível em: < <http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf> >.

BUVENS, G.; PIÉRARD, D. **Low prevalence of STEC autotransportador contibunting to biofilm (Sab) in verocytotoxin-producing Escherichia coli isolates of humans and raw meats**. European Journal of Clinical Microbiology e Infectious Diseases [online], Wiesbaden, v.31, n.7, p.1463- 1465, 2012. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10096-011-1464-y>

CADONA, J. S.; BUSTAMANTE, A. V.; PARMA, A. E.; LUCCHESI, P. M. A.; SANSO, A. M. **Distribution of additional virulence factors related to adhesion and toxicity in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from raw products in Argentina.** *Applied Microbiology*, Washington, v.56, n.1 p.449- 455, 2013.

COURA, F. M; LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B.; Patotipos de *Escherichia coli* causadores de diarreia em bezerros: uma atualização. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v. 34, n. 9, p. 811-818, set. 2014. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v34n9/v34n9a01.pdf>>.

DIRECTOR, LABORATORY QUALITY ASSURANCE STAFF. **Detection and isolation of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from meat products and carcass and environmental sponges.** v. 5, FSIS laboratories, USDA, 29. Jun. 2014.

FAIRBROTHER, J. M.; NADEAEU, E. *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals. **Food Science and Technology.** v. 25, n. 2, p. 555-569, 2006. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17094697>>.

FRIEDRICH, A.W.; BIELASZEWSKA, M.; ZHANG, W.L.; PULZ, M.; KUCZIUS, T.; AMMON, A.; KARCH, H. *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. **Journal of Infectious Diseases.** 185(1), 74–84, 2002.

GUERREIRO, M. G. et al. **Bacteriologia especial com interesse em saúde animal e saúde pública.** 1. Ed. Porto Alegre: Editora Sulina, 1984.

ISO/TS13136. **Microbiology of food and animal feed — Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens — Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups.** 1ed. Nov. 2012.

KOLLING, L. **Classificação filogenética e caracterização patotípica de isolados de *Escherichia coli* patogênicos e comensais de Suínos da região Sul do Brasil.** 2009. 58 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp082379.pdf>>.

MACHADO, L. A. P. et al. Prevalência e genotipagem de *Escherichia coli* patogênica em carcaças de suínos abatidos em frigoríficos comerciais na Região Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.** v.8, n.1, p. 128 – 145, jan - mar. 2014.

MARKEY, B.; LEONARD, F.; ARCHAMBAULT, M.; CULLINANE, A.; MAGUIRE, D.

Clinical Veterinary Microbiology. 2nd Edition. Maryland Heights, MO: Mosby Ltd., 2013. 920p.

MELTON-CELSA, A. R. Shiga Toxin (Stx) Classification, Structure, and Function Angela. **Microbiol Spectrum**. v.2, n.2, p.1–21, 2014.

OLIVEIRA, S. J. D. **Guia bacteriológico prático: microbiologia veterinária**. 1. ed. Canoas: Editora ULBRA, 2000, 240p.

PIGATTO, C. P. **Caracterização fenotípica e genotípica de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) isoladas de bovinos de corte do Estado do Paraná**. 2008. 98f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Faculdade De Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jaboticabal, São Paulo. Disponível em: < <http://javali.fcav.unesp.br/sgcd/Home/download/pgtrabs/mvp/d/2705.pdf>>.

SCHMIDT, H. Shiga-toxin-converting bacteriophages. **Research in Microbiology**. v.152, n.8, p.687–695, 2001.

SOUZA, C.O.; MELO, T.R.B.; MELO, C.S.B.; MENEZES, E.M.; CARVALHO, A.C.; MONTEIRO, L.C.R. *Escherichia coli* enteropatogênica: uma categoria diarreio gênica versátil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. v.7, n.2, p.79-91, 2016.

TENG, L. J. et al. Genetic detection of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from children with sporadic diarrhea. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**. v. 37, p. 327-334, jun. 2004. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15599464>>.