

## DETECÇÃO MOLECULAR DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUTORA DE TOXINA DE SHIGA EM ALIMENTOS

(*Molecular detection of Shiga Toxin-producing Escherichia coli in foods*)

Mayra Garcia Maia COSTA\*; Ticiane Coelho Abreu de OLIVEIRA; Sônia Coelho Abreu de OLIVEIRA; Cyntia Ladyane Alves de MOURA; Márcia Helena Portela LIMA; Jackson de Queiroz MALVEIRA

Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará. Rua Rômulo Proença s/n, Pici, Fortaleza/CE. CEP: 60.440-552. \*E-mail: [mayra.costa@nutec.ce.gov.br](mailto:mayra.costa@nutec.ce.gov.br)

### ABSTRACT

*Culture-independent methods are proposed as a tool for detecting pathogenic microorganisms in food. Escherichia coli strains that produce Shiga Toxin lead to diseases such as bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome by causing damage to the intestine and releasing the toxin into the body. Serological differentiation methods investigate the cell wall antigens, characteristic of each group of E. coli, however they are not efficient when it comes to a more accurate investigation of associated virulence factors. Thus, molecular methods are based on the search for specific genes related to the mechanisms of invasion and damage to the epithelium, as they are protein complexes. The present study was designed with the objective of carrying out a brief literature review about molecular methods as a detection tool for Shiga toxin-producing Escherichia coli. The methodology used dealt with a systematic review in the following databases Web of Science, Science Direct and PUBMED.*

**Keywords:** *Escherichia coli, Shiga Toxin, molecular assays, PCR, STEC.*

### INTRODUÇÃO

*Escherichia coli*, membro da família *Enterobacteriaceae*, é parte normal do trato gastrointestinal humano e de uma variedade de animais. Dentro da família *Enterobacteriaceae* estão os mais importantes micro-organismos patogênicos como *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia*. Apesar da maioria dos isolados de *E. coli* serem comensais do intestino humano, alguns grupos são patogênicos e causam doenças graves, incluindo diarreia sanguinolenta e síndrome hemolítico-urêmica (SHU). Os isolados de *E. coli* são classificados em seis categorias, de acordo com seus fatores de virulência: enterotoxigênica (ETEC), enteropatogênica (EPEC), enteroinvasiva (EIEC), enteroagregativa (EAEC), *E. coli* de aderência difusa (DAEC) e produtora de toxina de Shiga (STEC) (APHA, 2015).

A detecção e quantificação de micro-organismos em alimentos normalmente é realizada por métodos dependentes de cultivo, entretanto além desses métodos serem laboriosos e demorados tem a limitação de não detectar células de crescimento lento ou no estado viável, porém não cultivável. No final da década de 1990 surgiram os métodos independentes de cultivo: técnicas baseadas na Reação em Cadeia da Polimerase, bem como os métodos de sequenciamento do DNA. A pesquisa e detecção de STEC vem sendo otimizada através do uso das ferramentas moleculares. STEC são classificadas em dois grandes grupos de acordo com a presença do denominado “*locus of enterocyte effacement*” (LEE), consideradas ilhas de patogenicidade (WASIEWKA *et al.*, 2022). Métodos moleculares para detecção de STEC em alimentos têm utilizados a elementos genéticos

associados a mecanismos específicos de invasão do epitélio por estes patógenos. O presente estudo teve o objetivo realizar uma breve revisão sobre métodos moleculares como ferramenta de detecção de *Escherichia coli* produtora de Toxina de Shiga.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo trata-se de uma revisão sistemática realizada entre setembro e novembro do ano de 2022. Foram selecionados 7 trabalhos indexados nas seguintes bases de dados Web of Science, Science Direct e PUBMED. Para a seleção dos trabalhos foi utilizado a estratégia de busca com descritores: *Escherichia coli* entorotoxigênica; Toxina de Shiga; ensaios moleculares; PCR; STEC.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em análises de tipificação são usados anticorpos específicos (anti-soro) que auxiliam na identificação de antígenos presentes nas células bacterianas. Para antígenos solúveis, como toxinas, pode-se aplicar técnicas de difusão em gel. Para outros antígenos, a diferenciação de subtipos de *E. coli* pode ser realizada com base em métodos de aglutinação, os quais confirmam a presença de algumas estruturas celulares, tais como a presença de antígeno somático “O”, este é parte do lipopolissacarídeo (LPS) que compõe a membrana externa da parede bacteriana. É constituído pelo polissacarídeo C, que juntamente com o lipídeo A e a porção de ancoramento constituem o LPS completo. O polissacarídeo C é composto por uma cadeia de açúcares que se projeta para o espaço extracelular, apresentando composição extremamente variável mesmo dentro de uma mesma espécie bacteriana. A identificação do antígeno somático é realizada por meio de provas de aglutinação com antissoros padrões que determinam os diferentes sorogrupos em uma mesma espécie (MAGALHÃES *et al.*, 2007).

A *Escherichia coli* produtora de toxina de Shiga (STEC) é responsável por causar diarreia e colites hemorrágicas em humanos, sendo considerada um importante grupo de bactérias patogênicas emergentes. As STEC são classificadas em sorogrupos, de acordo com o antígeno somático “O”. Dentre as STEC, o sorogrupo O157 tem sido o principal, devido ao seu envolvimento em surtos de doença transmitida por alimentos, entretanto, há mais de 50 outros sorogrupos que podem causar doença (STEC, 2017).

As STEC são encontradas em várias espécies de animais domésticos e selvagens, possíveis portadores assintomáticos. No entanto, os ruminantes, e em especial os bovinos, são considerados os principais reservatórios de STEC, incluindo o sorotipo mais importante do grupo, o O157:H7. A toxina produzida por STEC demonstra similaridade com a toxina produzida pelo bacilo *Shigella dysenteriae* tipo 1, causador da disenteria bacilar (MENG *et al.*, 2007). Essas citotoxinas são potentes inibidoras da síntese proteica e são codificadas pelos genes – stx1 e stx2. Os genes stx, que codificam a toxina, estão localizados no genoma de um bacteriófago que se integra ao cromossomo das STEC.

Colello *et al.* (2019) investigaram ensaios de PCR para detecção de subtipos de adesinas em cepas de STEC que apresentaram resultados negativos para LEE. O estudo dos autores demonstrou que as cepas STEC negativas para LEE frequentemente tinham um ou dois

genes da adesina *Iha* investigada. Os autores sugerem que mais estudos são necessários para esclarecer o real papel da adesina *Iha* na patogênese de STEC, bem como para entender como a combinação de diferentes genes determinam a virulência desta cepa.

## CONCLUSÕES

Estudos utilizando métodos tracionais para diferenciação de *E. coli* em alimentos, utilizam ferramentas de investigação de antígenos específicos componentes nas células dessas bactérias. Métodos moleculares que são aplicados a investigação de STEC, utilizam especificidades genéticas para conclusão de uma investigação mais acurada. Por se tratar de uma cepa com alto potencial patogênico, cada vez mais se aplica para investigação em alimentos. O método de PCR tem se demonstrado eficiente para essa diferenciação, pois se baseia em zonas específicas e genes que expressam a patogenicidade do micro-organismo em questão.

## REFERÊNCIAS

- APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 5. ed., 2015.
- STEC. Centers For Disease Control and Prevention. National Enteric Disease. **Surveillance: Shiga toxin-producing *E. coli*** - Annual Report, 2017. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ecoli/surv2017/index.html>. Acesso em: 10 out. 2022.
- COLELLO, R.; KRUGER, A.; VELEZ, M.V.; CANTO, F.D.; ETCHEVERRÍA, A.I.; VIDAL, R.; PADOLA, N.L. Identification and detection of *iha* subtypes in LEE-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from humans, cattle and food. **Heliyon**, v.5, p.1-6, 2019.
- MAGALHÃES, P.O.; LOPES, A.M.; MAZZOLA, P.G.; RANGEL-YAGUI, C.; PENNA, T.C.V.; PESSOA, A.JR. Methods of Endotoxin Removal from Biological Preparations: A Review. **Journal of Pharmaceutic. Science**, v.10, p.388-404, 2007.
- MENG, J.; DOYLE, M.P.; ZHAO, S. Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R. **Food Microbiology: Fundamentals and frontiers**. 3. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, cap.12, 2007. p.249-269.
- WASIEWSKA, L.A.; DIAZ, F.G.; SHAO, H.; BURGESS, C.M.; DUFFY, G.; O'RIORDAN, A. Highly sensitive electrochemical sensor for the detection of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) using interdigitated micro-electrodes selectively modified with a chitosan-gold nanocomposite, **Electrochimica Acta**, v.426, p.1-11, 2022.