

# *Escherichia coli* DIARREICOGÊNICA - EPEC E SHIGATOXIGÊNICA - STEC EM SISTEMAS AQUACULTURAIS NO ESTADO DE SÃO PAULO

Fabiana GARCIA<sup>1</sup>; Fabiana PILARSKI<sup>2</sup>; Katia Suemi GOZI<sup>2</sup>, Daiane Mompean ROMERA<sup>3</sup>, Reinaldo José da SILVA<sup>4</sup>, Laryssa Freitas RIBEIRO<sup>5</sup> e Luiz Augusto do AMARAL<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Pesca – APTA/SAA, Centro do Pescado Continental, São José do Rio Preto, SP [fgarcia@apta.sp.gov.br](mailto:fgarcia@apta.sp.gov.br)

<sup>2</sup>Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, Jaboticabal, SP

<sup>3</sup>Instituto Agronômico de Campinas, Votuporanga, SP

<sup>4</sup>IBB – Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, SP

<sup>5</sup>FCAV - Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, SP

\*Apoio Financeiro: Projeto FAPESP, processo n.º 2013/50504-5

**Palavra Chave:** saúde pública; *Oreochromis niloticus*; tanques-rede

## INTRODUÇÃO

Embora *Escherichia coli* seja a bactéria anaeróbia facultativa predominante na mucosa intestinal dos mamíferos saudáveis, coexistindo sem causar danos ao hospedeiro, várias cepas, ao adquirir fatores de virulência específicos e tornar-se potencialmente danosas. O termo “EPEC” deve ser empregado para espécies de *Escherichia coli* diarreicogênicas que não produzem nenhuma enterotoxina, mas que causam a lesão histopatológica característica determinada pela ligação íntima nas microvilosidades dos enterócitos que leva a uma pronunciada disfunção na absorção intestinal. As EPEC são a principal causa de diarreia bacteriana infantil, nos países em desenvolvimento, sendo a doença responsável por altas taxas de mortalidade (cerca de 1.000.000 de crianças-caso/ano no mundo).

*E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) está relacionada a um amplo espectro de doenças humanas, que compreende desde diarreias leves à colite hemorrágica e a síndrome hemolítico-urêmica, cuja possível seqüela mais grave é, possivelmente, a falência renal em seres humanos. Humanos podem ser infectados por STEC ao ingerir alimentos de origem animal contaminados, principalmente a carne bovina. Embora as graves doenças humanas associadas a STEC tenham sido pouco descritas no Brasil, há significativa ocorrência destas cepas nos rebanhos bovinos. O bovino é o principal reservatório de STEC, eliminando-as pelas fezes as quais, de maneira direta ou indireta, atingem a cadeia alimentar dos seres humanos podendo causar doença.

## MATERIAL E MÉTODOS

Em três épocas distintas (verão e primavera de 2016 e verão de 2017), foram coletados cinco tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus* saudáveis e cinco espécimes moribundos em fase final de cultivo (800 g) provenientes de seis pisciculturas em sistema de criação em tanque-rede: Nova Avanhandava 1 (NA 1), Nova Avanhandava 2 (NA 2), Nova Avanhandava 3 (NA 3), Ilha Solteira 1 (IL 1), Ilha Solteira 2 (IS 2) e Chavantes (C). Todos os exemplares foram coletados de um único tanque por piscicultura e acondicionados individualmente em sacos plásticos estéreis. Além dos peixes, 50 ml da água do tanque também foi coletada em frasco estéril. Todas as amostras foram mantidas refrigeradas até o momento das análises em laboratório.

Para cada amostra de água do tanque, uma alíquota de 10 ml foi retirada e adicionada em 100 ml de caldo Brain Heart Infusion (BHI) contidos em frascos estéreis.

A obtenção de bactérias da microbiota superficial dos peixes ocorreu com a água de lavado. Com o peixe ainda acondicionado no saco plástico, 100 ml de água peptonada estéril a 0,1% foi vertido para dentro do saco. Friccionou-se todo o conteúdo do saco no peixe por 1 minuto e 2 ml da água do lavado foram adicionados em 5 ml de caldo BHI armazenados em tubos de ensaio estéreis.

Em todos os dez peixes de cada piscicultura, uma janela de acesso foi realizada na região lateral e todo o conteúdo intestinal foi colhido e armazenado em 100 ml de BHI acondicionado em frascos estéreis.

A identificação das cepas de bactérias *Escherichia coli* diarreicogênica EPEC e shigatoxigênica STEC foi realizada por *primers* específicos, sendo para STEC *stx1* (5'-AGAGCGATGTTACGGTTTG 3' e 5'-TTGCCCCCAGAGTGGATG-3'), *stx2* (5'-TGGGTTTTTCTTCGGTATC-3' e 5'-GACATTCTGGTTGACTCTCTT-3') e para EPEC *eae* (5'-AGGCTTCGTCACAGTTG-3' e 5'-CCATCGTCACCAGAGGA-3') cujos fragmentos são de 388, 807 e 507pb, respectivamente (China et al., 1996). Na PCR multiplex com os *primers stx1, stx2 e eae* utilizou-se a cepa de *E. coli* padrão edl933 (Unifesp).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram encontradas *E. coli* EPEC e STEC nas amostras de água coletas nas pisciculturas. EPEC foram encontradas nas fezes das tilápias das três pisciculturas localizadas no reservatório de Nova Avanhandava, sendo em 40% dos peixes sadios

avaliados da piscicultura NA 1 na primavera de 2016, 40 % dos peixes sadios avaliados e 20 % dos peixes moribundos avaliados da piscicultura NA 2 no verão de 2017 (Tabela 1).

Foram encontradas cepas de STEC somente nas amostras coletadas no verão de 2016. Esta bactéria foi encontrada no muco de 20 % dos peixes sadios da piscicultura NA 3, nas fezes de 40 % dos peixes moribundos da piscicultura NA 2 e nas fezes de 60 % dos peixes sadios da piscicultura C (Tabela 1).

O entorno dos reservatórios onde as pisciculturas estão instaladas é composto por pastagens de criação de bovinos e, exceto no reservatório de Chavantes, a ausência de mata ciliar é notada em quase a totalidade das margens dos demais reservatórios. Sendo o rebanho bovino considerado como a principal fonte das STECs, justifica-se a presença dessas cepas no trato intestinal e muco dos peixes avaliados, constituindo preocupação à saúde pública.

Tabela 1 – Prevalência (%) de *Escherichia coli* EPEC e STEC na água de cultivo, muco e fezes de tilápias do Nilo sadias e moribundas de seis pisciculturas em três épocas distintas.

		verão 2016						primavera 2016						verão 2017						
		NA 1	NA 2	NA 3	IS 1	IS 2	C	NA 1	NA 2	NA 3	IS 1	IS 2	C	NA 1	NA 2	NA 3	IS 1	IS 2	C	
<i>E. coli</i> STEC	Água	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P (%)	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muco	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	P (%)	S	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	40	0	0	0	0
<i>E. coli</i> EPEC	Fezes	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0
	Água	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P (%)	S	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Muco	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i> EPEC	P (%)	S	0	0	0	0	0	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Fezes	M	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nota: P (%) – Prevalência; S – peixes sadios; M – Peixes moribundos; NA1 – piscicultura 1 localizada no reservatório de Nova Avanhandava; ; NA2 – piscicultura 2 localizada no reservatório de Nova Avanhandava; ; NA3 – piscicultura 3 localizada no reservatório de Nova Avanhandava; ; IS1 – piscicultura 1 localizada no reservatório de Ilha Solteira; IS2 – piscicultura 2 localizada no reservatório de Ilha Solteira; C – piscicultura localizada no reservatório de Chavantes.

## REFERÊNCIAS

CHINA, B.; PIRSON, V.; MAINIL, J. 1996 Typing of Bovine Attaching and Effacing *Escherichia coli* by Multiplex In Vitro Amplification of Virulence-Associated Genes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62:3462-3465.