DETECÇÃO DE GENES DE ENTEROTOXINAS, CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE *Escherichia coli* ISOLADOS DO QUEIJO ARTESANAL SERRANO[1]

Rafaella da Rocha Soletti[2], Sandra Maria Ferraz[3]

[1]Vinculado ao projeto "Sanidade Animal"
[2]Acadêmico (a) do Curso de Medicina Veterinária – CAV/UDESC – Bolsista PIBIC/CNPq
[3]Orientador, Departamento de Medicina Veterinária – CAV/UDESC – sandra.ferraz@udesc.br

O queijo artesanal serrano é um produto típico da região da Serra Catarinense e se caracteriza por ser produzido em propriedades rurais, a partir de leite cru. No entanto, há inúmeros relatos na literatura sobre a ocorrência de micro-organismos patogênicos em queijos artesanais. A contaminação microbiana desses alimentos assume grande relevância para a saúde pública, já que o consumo desse produto contaminado pode desencadear intoxicações e toxinfecções alimentares em consumidores. Dentre os principais micro-organismos encontrados nesses alimentos está *Escherichia coli*, considerado um potencial agente patogênico caracterizado pela produção de enterotoxinas. As cepas diarreicas de *E. coli* possuem fatores de virulência específicos que facilitam sua interação com o hospedeiro, por essa razão, é de suma importância distinguir os tipos patogênicos desse micro-organismo, sendo eles diferenciados por genes de virulência em *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC). Além disso, outro fator de suma importância para a saúde pública é a presença de cepas de *E. coli* que apresentam multirresistência aos antimicrobianos, já que estas tornam as infecções alarmantes e de difícil tratamento. Um dos mecanismos de resistência desenvolvido pelas *E. coli* é a hidrolização do anel beta-lactâmico, mecanismo chamado de ESBL ("extented-spectrum beta-lactamases"), conferindo resistência aos antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos, os quais incluem penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos. Na primeira parte deste projeto foi realizada a caracterização fenotípica e genotípica do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isolados de queijo artesanal serrano, o qual utilizando um total de 117 cepas de *E. coli* isoladas de leite cru (8 cepas) e Queijo Artesanal Serrano (109 cepas), obtidas de estudos anteriores no Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) do CAV- UDESC e por meio de testes de susceptibilidade á antimicrobianos, pode-se documentar os resultados inibição frente aquele grupo de antimicrobianos, tais halos foram medidos e interpretados para classificarmos as bactérias como sensíveis ou resistentes. Outro método utilizado foi a caracterização do fenótipo e genótipo das cepas isoladas, de forma a identificar aquelas produtoras de ESBL ou resistentes à carbapenemos. Dando continuidade aos trabalhos dessa pesquisa, nessa etapa foram identificados os genes de virulência das amostras isoladas, com o objetivo de buscar as cepas mais patogênicas e com maior prevalência. A detecção de tais genes foram feitas através de Multiplex-PCR, que consiste em uma reação para busca dos genes *eae* característico de E. coli enteropatogênica (EPEC), *stx* de E. coli enterohemorrágica (EHEC), *elt* e *est* de E. coli enterotoxigênica (ETEC), *ipaH* de E. coli enteroinvasiva (EIEC) e *aggR* de E. coli enteroagregativa (EAEC), baseado em protocolos descritos por López-Saucedo et al. (2003) com primers já padronizados na literatura. As reações foram geradas em termociclador com desnaturação inicial de 95 °C por 5 min, utilizando 40

Apoio: CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; fapesc Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina; GOVERNO DE SANTA CATARINA

ciclos de desnaturação á 95 °C por 45s, um ciclo de anelamento á 50 °C por 45s, um ciclo de extensão á 72 °C por 45s, e extensão final á 72 °C por 10 min. As amplificações produzidas foram analisadas por eletroforese por uma hora, usando 2% de gel agarose e visualizando os resultados no transluminador. Os genes de virulência pesquisados durante o processo de Multiplex-PCR foram identificados em 25 das 117 amostras isoladas, representando 21,37% do total. Desses resultados patogênicos, o gene *eae* para presença de EPEC foi o tipo mais prevalente, representando 12,82% dos isolados. Em seguida, apresentando o gene apresentando o gene *st/lt*, o fator de virulência ETEC foi detectado em 6,84% dos isolados, enquanto EAEC representou apenas 1,71% dos isolados, sendo estes aqueles apresentando-se positivos nos testes de Mutilplex-PCR para o gene *agg*R. Os resultados desse estudo são semelhantes a estudos anteriores, onde as cepas de EPEC foram descritas como mais prevalentes das patogênicas isoladas, resultados estes alertando para um grande problema para a saúde pública, já que tais contaminantes apresentam riscos à saúde do consumidor, por essa razão, faz-se necessária a intensificação e fiscalização do manejo sanitário em todas as etapas da produção do Queijo Artesanal Serrano.

Palavras-chave: *E. coli* diarreiogenica. Genes de Virulência. Enterotoxinas.
.