

IDENTIFICAÇÃO DOS FATORES DE VIRULÊNCIA DAS AMOSTRAS DE *ESCHERICHIA COLI*, ISOLADAS DE BEZERROS COM DIARRÉIA, EM CRUZ DAS ALMAS, BAHIA.

Gabrielle Casaes Santana¹; Claudio Roberto Nobrega Amorim²

1. Voluntário de Iniciação Científica, Graduando em Bach. Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: casaesgabrielle@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: amorim@uefs.br

PALAVRAS-CHAVES: *E. coli*; colibacilose; hemolisina

INTRODUÇÃO

A *Escherichia coli*, é uma bactéria gram-negativa, anaeróbica facultativa, pertencente à família Enterobacteriaceae. Segundo Nataro & Kaper (1998), a *E. coli* pode ser agrupada em categorias distintas, levando em consideração o conjunto de genes que caracterizam sua patogenicidade.

Os fatores de virulência são importantes na patogenicidade das cepas de *E. coli*, sendo as toxinas exemplos destes: a LT (enterotoxina termolábil), ST (Enterotoxina termoestável), o CNF (fator necrosante citotóxico), hemolisina e a Toxina Shiga (Brito *et al*, 2001).

A *E. coli* pode causar patologias a humanos, suínos, bovinos e ovinos. Limitada ao lúmen intestinal, a depender da condição do indivíduo, a *E. coli* pode permanecer sem causar danos. Em indivíduos imunossuprimidos ou debilitados, mesmo espécies não patogênicas podem causar infecções (Stella, 2009). A colibacilose é uma patologia que acomete animais recém-nascidos, causada pela *E. coli* enterotoxigênica (ETEC). Esta prolifera no intestino delgado e produz enterotoxinas que causam, dentre outras coisas, um aumento na secreção de líquido da circulação sistêmica para a luz intestinal causando diversas enfermidades, dentre elas, vários graus de diarreia e desidratação (Reck, 2009).

O presente estudo objetivou identificar os fatores de virulência, com ênfase nas toxinas produzidas pela *E. coli*, nas amostras coletadas de bezerros com diarreia na Bahia.

MATERIAS E MÉTODOS

Amostras

Foram utilizadas 27 amostras de fezes diarreicas de bezerros recém desmamados, cedidas pelo professor Joselito Nunes, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo Baiano. As análises microbiológicas foram feitas no Laboratório de Microbiologia Aplicada à Saúde, LAMASP, UEFS.

Identificação

As bactérias foram inoculadas em meio BHI e incubadas a 35°C durante 24-48hs; sendo depois inoculadas no caldo EC contendo tubo de Durham, para incubação a 45°C por 24hs em banho-maria. As culturas que apresentaram crescimento com presença de gás no tubo de Durham foram semeadas no Agar Eosina-Azul de Metileno (EMB). Sendo o EMB utilizado para isolamento primário de todas as espécies de bacilos entéricos Gram-negativos. As placas

foram incubadas a 35° C durante 24h a 48hs, e foram selecionadas colônias suspeitas de *E. coli* (colônias verdes metálicas ou enegrecidas) para a identificação bioquímica.

As provas bioquímicas foram realizadas com colônias suspeitas de cada amostra e consistem em: Utilização dos carboidratos (glicose, sacarose e lactose), produção de indol, prova do vermelho metila, prova de Voges-Proskauer, utilização do citrato, produção de uréase, descarboxilação da lisina e arginina, produção de fenilalanina desaminase, produção de sulfeto de hidrogênio, prova da motilidade. (Koneman, 2001)

Detecção da toxina

As amostras foram testadas para a presença de hemolisina. Para a diagnose, seguimos, em parte, a metodologia empregada por Ribeiro *et al*, 2006. A bactéria foi cultivada em placas de petri contendo meio ágar sangue, com concentração de 5% de sangue, a 37°C em estufa bacteriológica por 24 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após análise das placas com as 27 amostras, foi observado que nenhuma delas apresentou sinal de hemólise, nem total nem parcial, sendo assim classificadas como não hemolíticas.

Segundo Almeida (2013), as estirpes de *E.coli* podem causar desde quadros leves de diarreia até doenças septicêmicas graves, a depender do patótipo, sorogrupo e genes de virulência. Em muitos trabalhos relacionados com *E. coli* e hemolisina, é possível observar que a produção de hemólise por *E.coli* é variável e depende do tipo de cepa analisada, o que explica a ausência de hemólise nas cepas estudadas nesse trabalho. (Salvadori *et al*, 2003; Fortes, 2008; Costa *et al*, 2014)

CONCLUSÃO

É possível concluir que a hemolisina não esteve relacionada com a patogenia, visto que todas as amostras analisadas não produziram halo de hemólise.

É necessário que estudos mais aprofundados sejam feitos, afim de identificar quais toxinas estão presentes nas amostras capazes de provocar a diarreia bovina.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.M. de S; 2013;**Características biológicas e antigênicas de *Escherichia coli* com ênfase aos genes de virulência**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia

BRITO, B. G *et al.*; 2001;**Caracterização da virulência da cepa de *Escherichia coli* – BK99**. Ciência Rural, Santa Maria, 31(3): 455-459.

COSTA, K.O. *et al.*; 2014;**Fatores de virulência das amostras de *Escherichia coli* isoladas de bezerros com diarreia na região de Feira de Santana, Bahia**. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, 36(4):430-436

FORTES, F. B. B.; 2008; **Perfil bioquímico de amostras de *Escherichia coli* isoladas de materiais avícolas no Estado do Rio Grande do Sul e sua relação com a patogenicidade.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), UFRGS.

KONEMAN, E.W. et al. **Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido.** 5.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. p.1465.

NATARO, J.P.; KAPER, J.B.; 1998; **Diarrheagenic *Escherichia coli*.** Clinical Microbiology Reviews; 11(1): 142-201.

RECK, M.V.M.; 2009; **Diarréia Neonatal Bovina.** Monografia (Graduação); Faculdade de Veterinária, UFRGS.

RIBEIRO, M. G. *et al.*; 2006; **Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* de mastite bovina.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 58(5): 724-731

SALVADORI, M. R. *et al.*; 2003; **Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Brasil.** Brazilian Journal of Microbiology, 34: 230-235.

STELLA, A.E.; 2009; **Fatores de virulência em isolados de *Escherichia coli* provenientes de amostras de água, leite e fezes de bovinos leiteiros da região de Ribeirão Preto- SP, Brasil.** Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP. São Paulo.