

# ***OCORRÊNCIA DE E. coli (EPEC E EIEC) NO SURURU, Mytella guayanensis LAMARCK, E NA ÁGUA DO ESTUÁRIO DO RIO VAZA BARRIS (SERGIPE, BRASIL)***

Occurrence of *E. coli* (EPEC and EIEC) on mussel, *Mytella guayanensis* Lamarck, and in the water of Vaza-Barris River estuary, Sergipe State, Brazil

Karynne Lemos Farias<sup>1</sup>, Rita de Cássia Trindade<sup>1</sup>, Ayda Vera Alcântara<sup>1</sup>

## **RESUMO**

*Este trabalho se propôs a realizar a identificação da espécie Escherichia coli e a tipagem sorológica das linhagens enteropatogênicas em amostras de água e sururu provenientes do rio Vaza-Barris. A Técnica utilizada foi a da fermentação em tubos múltiplos pelo número mais provável. Para a identificação bioquímica das bactérias foi utilizado o meio Agar Chromocult (Merck) e a sorotipagem foi realizada pela técnica de aglutinação em lâmina com anti-soros Probac. No total das 13 amostras obtidas foi possível isolar e identificar sete cepas de bactérias termotolerantes, Escherichia coli (43,75%). A sorotipagem das linhagens de E.coli revelou seis sorotipos enteropatogênicos: O114 (EPEC) (04), e O124 (EIEC) (03).*

**Palavras-chaves:** *Escherichia coli, sururu, água, estuário, Rio Vaza-Barris.*

## **ABSTRACT**

*This paper was designed to perform the identification of the species Escherichia coli and serological typing of strains enteropathogenic in samples of water from the river and sururu leak-barrels. The technique used was the multiple tube fermentation in the most probable number. For the biochemical identification of bacteria was used culture medium Chromocult Agar (Merck) and serotyping was performed by the technique of in slide agglutination with antisera Probac. A total of 13 samples obtained was unable to isolate and identify 7 thermotolerant strains of bacteria, Escherichia coli (43.75%). The serotyping of strains of E. coli showed six serotypes enteropatogênicos: O114 (EPEC) (04), and O124 (EIEC) (03).*

**Key words:** *Escherichia coli, mussel, water, estuary, Vaza-Barris river.*

<sup>1</sup> Universidade Federal de Sergipe (UFS). Av. Marechal Rondon, s/n – Rosa Elze – São Cristóvão/SE. Correspondência para: kakaubio@hotmail.com.

## INTRODUÇÃO

As águas resultantes da drenagem urbana podem conter altas concentrações de nutrientes e baixos teores de oxigênio. Presença de substâncias tóxicas tais como: agrotóxicos, metais pesados e óleos constituem sérios problemas de poluição orgânica (Laws, 1998). O sururu, *Mytella guaynensis* (Lamarck), é um molusco bivalve, pertencente a família Mytilidae com grande valor comercial e potencial de produção e, por ser uma fonte protéica com significado valor biológico, é nutricionalmente importante, filtram material alimentar em suspensão ou depositado no fundo e dependem de certa quantidade de plâncton para subsistência (Boffi, 1979; Nascimento *et al.*, 2007).

Os coliformes fecais têm na espécie *Escherichia coli* seu representante maior (Franco & Landgraf, 1996). De acordo com Jawetz (1991), *E.coli* possui uma estrutura antigênica complexa, e produzem uma variedade de toxinas e outros fatores de virulência. As linhagens de *E.coli* podem ser agrupadas em cinco classes: EPEC (*E.coli* enteropatogênica clássica), EIEC (*E.coli* enteroinvasora), ETEC (*E.coli* enterotoxigênica), EHEC (*E.coli* enterohemorrágica) e EaggEC (*E.coli* enteroagregativa) (Franco; Landgraf, 1996).

Avaliações da sensibilidade e confiabilidade desses testes têm sido feitas em todo o mundo e, principalmente em climas tropicais e subtropicais onde os perfis de ocorrência de "Coliformes Termotolerantes e de *E. coli*" apresentam contornos característicos mostrando, cada vez mais, a qualidade do uso dessa espécie como parâmetro de definição de impactos fecais, pois já passa o tempo de acertos nos conceitos e terminologias que melhor representem os objetivos sanitários e ambientais de medições da contribuição fecal (Helcias, 2004).

O Rio Vaza-Barris é um ambiente ainda pouco conhe-

cido. Nasce no sertão baiano e deságua no Oceano Atlântico no Estado de Sergipe, a 11°10'S e 37°10'W, e do seu estuário é extraído pescado como peixes, crustáceos e mariscos em geral, em sua maioria os moluscos são importantes no consumo próprio ou para comercialização nas comunidades ribeirinhas (Alcântara, 1999).

O presente trabalho busca identificar as amostras positivas para *Escherichia coli* e os sorotipos enteropatogênicos em sururu (*Mytella guaynensis*) e na água do rio Vaza-Barris.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material destinado a este estudo foi obtido em cinco pontos de coleta (Tabela I), determinados através de visita prévia à área e situados na área de drenagem do estuário do rio Vaza-Barris (Figura 1).

A água do rio foi o único material coletado no ponto controle. Nos demais pontos foram coletados a água do rio, na área mais profunda do canal; uma amostra de sururus na região intertidal, em bancos associados a *Laguncularia racemosa* (mangue branco) ou a *Rizophora mangle* (mangue vermelho); e uma amostra da água intersticial ao sedimento do local de origem dos sururus.

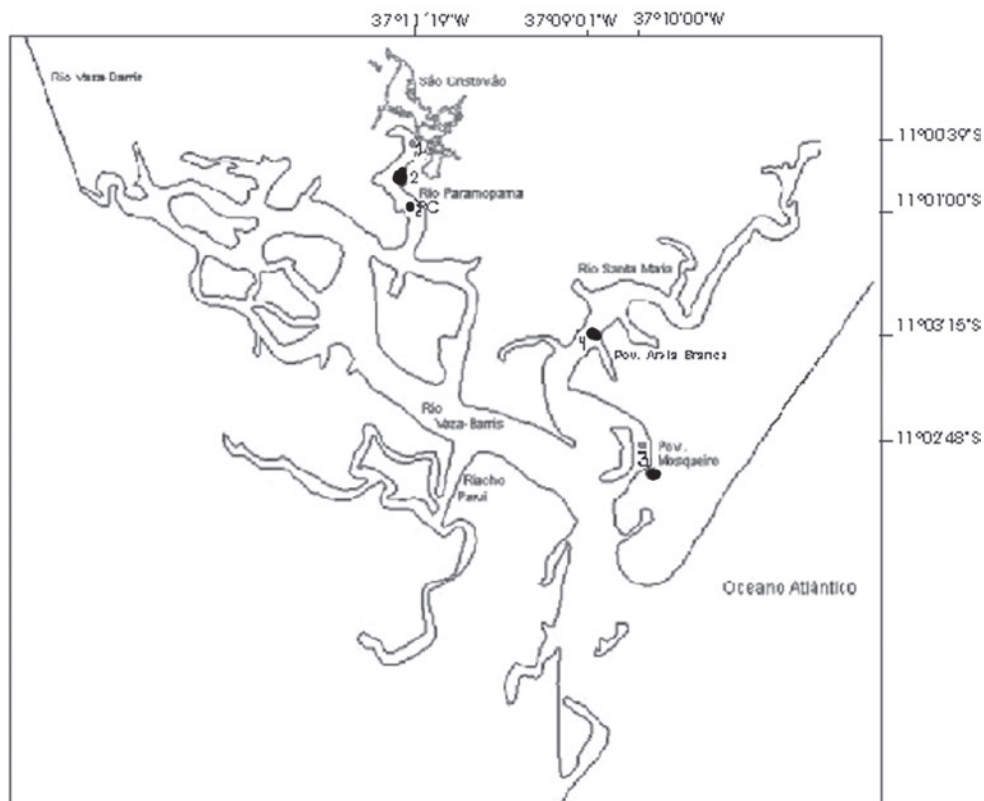


Figura 1 - Estuário do Rio Vaza-Barris, em Sergipe.

Tabela I - Resultados das análises microbiológicas do sururu, *Mytella guaynensis*, da água intersticial e da água do rio. CT: Coliformes Totais CF: Coliformes Fecais.

Amostras	CT			CF		
	Sururu	Água intersticial	Água do rio	Sururu	Água intersticial	Água do rio
Pontos	NMP/g	NMP/100ml	NMP/100ml	NMP/g	NMP/100ml	NMP/100ml
PC		0	350		0	9,2
1	54000	2400	2400	22000	70	72
2	17000	1600	2400	3100	220	2400
3	1700	1600	2400	200	78	49
4	13000	920	11	1100	350	0

A amostra de sururus, em cada ponto de coleta, foi constituída por 100 indivíduos. A água intersticial e a água do rio 100 mL. O período amostrado foi de 2 dias em novembro de 2002.

Todas as análises foram desenvolvidas no Laboratório de Microbiologia Aplicada (LMA-DMO) da Universidade Federal de Sergipe.

O procedimento de processamento da amostra de sururu e água foi por diluição de 25 mL por 225 mL de diluente (solução salina) e uma série de diluições sucessivas quantificadas segundo a Técnica dos Tubos Múltiplos, sendo 2 testes presuntivos e 1 confirmativo e identificação presuntiva de colônias

em ágar EMB e ágar Chromocult (MERCK), (ICMSF, 1978; APHA, 1995; Siqueira, 1995).

As amostras identificadas como *E.coli* foram submetidas à técnica de aglutinação em lâmina, em placa escavada de Kline (6X8cm) com 12 escavações através da técnica de Soroaglutinação, frente a uma bateria de soros anti - *E.coli* polivalentes e monovalentes (PROBAC) (Tabela II).

As variáveis físico-químicas da água realizadas pelo Laboratório de Química Ambiental da Universidade Federal de Sergipe foram feitas tabelas comparativas com a colimetria da água do Rio Vaza-Barris (Tabela III).

Tabela II - Caracterização sorológica de *Escherichia coli* isolada de amostras de sururu *Mytella guaynensis* e água no estuário do rio Vaza-Barris.

		Pontos	1			2	3	
		Amostras	Sururu	Água Intersticial	Água do rio	Água Intersticial	Sururu	Água do rio
EIEC	POLI A	O111	-	-	-	-	-	-
		O26	-	-	-	-	-	-
EPEC	POLI B	O114	+	+	+	+	-	-
		O142	-	-	-	-	-	-
	POLI C		-	-	-	-	-	-
EIEC	POLI A		-	-	-	-	-	-
		O124	-	+	-	+	+	-
	POLI B	O112ac	-	-	-	-	-	-
EHEC	O157		-	-	-	-	-	-

Tabela III - Variáveis físico-químicas e colimetria da água dos rios Paramopama e rio Santa Maria.

Variáveis/ Pontos	PH	Sal. (‰)	Temp. (°C)	Prof. (m)	OD (mg/l)	DBO <sub>5</sub> (mg/l)	DQO (mg/l)	Turb. (NTU)	NMP CF/100ml
PC	7,1	0,03	30,0	0,15	7,71	1,81	10,78	2,0	9,2
1	7,1	2,9	31,5	0,42	2,77	5,17	19,96	2,5	72,0
2	7,6	31,0	28,0	0,30	2,7	14,88	946,3	1,6	2400,0
3	7,9	32,4	31,0	0,40	8,16	3,35	18,77	1,5	49,0
4	8,1	33,4	29,0	6,00	8,54	2,76	27,95	1,5	0,0

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total foram 14 amostras obtidas após teste confirmativo (Tabela I), sendo 12 positivas no caldo E.C. Em Agar Chromocult foram diferenciadas colônias de *Escherichia coli* (N = 7, 43,75%), 6 em São Cristóvão (P 1 e 2) e 1 em Areia Branca (P 4). As mesmas foram submetidas aos testes com soros polivalentes e apenas uma apresentou reação negativa, a cepa isolada no ponto controle em São Cristóvão (3), o restante constituído por amostras de água dos pontos 1 e 2, sururu dos pontos 1, 2 e 4 foram positivas em EPEC poli A e B e EIEC no poli B, sendo assim prosseguiu-se as análise com os monovalentes correspondentes. O sorotipo de O114 (EPEC) reagiu em 4 amostras provenientes de São Cristóvão, sendo 3 na água e 1 no sururu, o monovalente de O124 (EIEC) reagiu nas amostras de água em São Cristóvão e sururu em Areia Branca (Tabela II).

A bactéria identificada pelo sistema Agar Chromocult foi *Escherichia coli*. A presença de *E. coli* em alimentos representa um risco para os consumidores, principalmente porque algumas espécies são comprovadamente patogênicas e, portanto, responsáveis por diarreias e enfermidades graves, tais como colites hemorrágicas e síndrome urêmica (Nascimento *et al.*, 2007).

Segundo Lira *et al.* (2000), os aspectos sanitários do ambiente aquático onde são capturados moluscos bivalves para consumo no Grande Recife, PE, apresentaram um elevado percentual de *Escherichia coli* (96,67%) e *Enterobacter agglomerans* (83,33%) o que revela um o alto grau de contaminação das águas por esgotos domésticos e industriais, e um grande risco à saúde pública.

Adams & Moss (2002) afirmam que certos sorotipos dessa espécie podem produzir dois tipos de toxinas, sendo uma termolábil (LT), que é inativada a 60°C por 30 minutos e outra termoestável (ST), que suporta 100°C por 15 minutos. Vieira *et al.* (1996) dizem que a *Escherichia coli* está entre os principais agentes enteropatogênicos, principalmente nos países da América Latina e África, representados pelos seguintes sorogrupos de EPEC: O18, O26, O44, O55, O86, O111, O112, O114, O119, O125, O126, O127, O128ab e O142. Segundo Trabulsi, (1996) as EPECs O114, são agentes mais frequentes de diarreia infantil, no Brasil, predominando, sobretudo, nos 6 primeiros meses de vida.

Soares *et al.*, (2002) numa revisão de estudos anteriores propuseram uma classificação ambiental unitária das infecções relacionadas com a água e com os excretas. As doenças do tipo feco-oral, ou

seja, pela ingestão de água e alimentos provenientes de ambiente contaminados tem como estratégias de controle: qualidade do pescado, monitoramento das águas dos estuários e, principalmente, educação sanitária para se evitar doenças como Hepatite A, E e F, poliomielite, cólera, disenteria bacilar, amebíase, diarreia por *Escherichia coli* e rotavírus, febre tifóide, giardíase e ascaridíase.

De acordo com a Tabela III verifica-se que no presente estudo o pH das amostras variou de 7,1 a 8,1. A salinidade variou de 0,03 a 33,4‰ e somente no ponto 2 (São Cristóvão) onde foi registrado salinidade 31,0 foram obtidos os maiores níveis de coliformes fecais. Com relação aos valores de oxigênio dissolvidos (OD), temperatura da água do rio e número de coliformes fecais pode-se dizer: OD foi de 2,7 a 8,54 (mg/l), a temperatura variou entre 28°C e 31,5°C e os coliformes fecais entre 0 e 2400 NMP/100ml. No ponto 4, localizado no Mosqueiro e no ponto 2, em São Cristóvão. Portanto, os valores de OD foram baixos nos pontos 1 e 2 e altos nos 3, 4 e PC, relação inversa apresentada no número mais provável de bactérias, ou seja foi alta em 1 e 2 e baixa em 3, 4 e PC.

## CONCLUSÕES

No total de 13 amostras foi possível isolar e identificar cepas de bactérias termotolerantes, como *Escherichia coli* com 43,75% (N = 7).

A sorotipagem com soros polivalentes para *E. coli*, revelou que das sete cepas identificadas, seis pertenciam a sorotipos enteropatogênicos.

A tipagem com os soros monovalentes identificou a presença dos sorotipos O114 (EPEC) (04), e O124 (EIEC) (03) reagentes na localidade em São Cristóvão e uma de sururu proveniente de Areia Branca.

A importância de medidas eficazes no cozimento do sururu inativam os sorotipos patogênicos da *E. coli* e minimizam os efeitos acarretados por um quadro diarréico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, M.R. & Moss, M.O. *Food microbiology*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2<sup>nd</sup> edition, 2002.
- Alcântara, A.V. *Avaliação ecológica preliminar do estuário do Rio Vaza - Barris (período chuvoso de 1999)*. Relatório Técnico do Convênio 42/99 UFS/FAPESE, Contrato 09/99 JICA/FAPESE, Aracaju, 1999.
- APHA/AWWA/WPCF. *Standard methods for the ex-*

- amination of water and wastewater. American Public Health Association 17<sup>th</sup> edition, 1420 p., 1989.
- Boffi, A.V. *Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico*. Editora HUCITEC, 1<sup>a</sup> edição, 182 p., São Paulo, 1979.
- Franco, B.D.G.M. & Landgraf, M. *Microbiologia de alimentos*. Editora Atheneu, 1<sup>a</sup> edição, São Paulo, 1996.
- Helcias, P. In: [www.portalbonito.com.br/colunas/helcias.asp?id=44](http://www.portalbonito.com.br/colunas/helcias.asp?id=44). site visitado em 20/08/2004.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). *Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications*. University of Toronto Press, 231 p., Toronto, 1978.
- Jakabi, M. & Franco, B.D.G.M. Frequência de isolamento de cepas de *Escherichia coli* patogênicas em alimentos de origem animal. *Ciên. Tecnol. Alim.*, Campinas, v.11, n.1, p.170-181, 1991.
- Jawetz, E.; Melnick, J.L.; Adelberg, E.A.; Brooks, G.F.; Butel, J.S. & Ornston, L.N. *Microbiologia médica*. Editora Guanabara Koogan S.A., 18<sup>a</sup> edição, Rio de Janeiro, 1991.
- Laws, E.A. *Aquatic pollution: an introductory text*. John Wiley & Sons, 2<sup>nd</sup> edition, 611 p., New York, 1945.
- Lira, A.A.; Barros, G.C.; Lima, M. C. & Mota, R.A. Aspectos sanitários do ambiente aquático onde são capturados moluscos bivalves para consumo no Grande Recife, PE. *Hig. Alim.*, v.11, n.77, p.53-57, 2000.
- Nascimento, A.R.; Carvalho, E.P.; Furtado-Neto, M.A.A.; Martins, A.G.L.A. & Vieira, R.H. S.F. Atividade antibacteriana de óleos essenciais frente a bactérias isoladas de sururu, *Mytella falcata*. *Arq. Ciên. Mar*, Fortaleza, v.40, n.2, p.47-54, 2007.
- Siqueira, R. S. de. *Manual de microbiologia de alimentos*. EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos, 159 p., Brasília, 1995.
- Trabulsi, L.R. *Microbiologia*. Editora Livraria Atheneu, 2. ed., São Paulo, 1996.
- Vieira, R.H.S.F.; Evangelista, N.S.S. & Rodrigues, D.P. Colimetria das águas marinhas de fortaleza (Ceará, Brasil) e detecção de cepas de *Escherichia coli* enteroinvasora (EIEC) e enteropatogênica clássica (EPEC). *Arq. Ciên. Mar*, Fortaleza, v.30, n.1-2, p.27-31, 1996.