

***Vibrio parahaemolyticus* EM CAMARÕES (*Farfantepenaeus paulensis*) COMERCIALIZADOS NA COSTA SUL DO BRASIL**

MILAN, CAMILE¹; SILVEIRA, DÉBORA RODRIGUES²; TIMM, CLÁUDIO DIAS³

¹Universidade Federal de Pelotas – cami_milan@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – debora.rsilveira@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – claudiotimm@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Vibrio parahaemolyticus é um micro-organismo halofílico comum em ambientes marinhos, que pode causar gastroenterites em humanos através do consumo de pescados contaminados. A maior incidência de infecções ocorre no verão. Nos Estados Unidos, a ocorrência é estimada em 4.500 casos por ano, dos quais 215 confirmados por isolamento da bactéria (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2013). Surtos de infecção por *V. parahaemolyticus* também têm sido relatados na Europa e Ásia, especialmente no Japão, onde é o maior causador de gastroenterites (SU; LIU, 2007).

O Brasil é um país tropical, com vasta costa marítima, com hábitos alimentares que incluem a ingestão de pescados, consumidos crus em algumas regiões, fatos que tornam o país propício à ocorrência de infecções causadas por *V. parahaemolyticus*. Em um estudo realizado em 1993 no município de Palhoça, Santa Catarina, foram analisados 40 mexilhões (*Perna perna*), dos quais 21 (52%) estavam contaminados com *V. parahaemolyticus* (ARCHER; MORETTO, 1994), comprovando sua presença na costa sul do Brasil.

O Rio Grande do Sul é um dos maiores produtores de camarão do país, sendo a captura realizada através da pesca artesanal (GEO BRASIL, 2002). Esses crustáceos já foram associados a surtos alimentares na China devido à contaminação por *Vibrio parahaemolyticus* (PENG et al., 2010).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é considerada um método rápido e sensível para detecção de genes que caracterizam micro-organismos (ALAM et al., 2002). O gene *toxR* é considerado conservado entre espécies de *Vibrio*, estando presente em *V. parahaemolyticus* com função reguladora (LIN et al., 1993).

O objetivo desse trabalho foi constatar a ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em camarões (*Farfantepenaeus paulensis*) comercializados na costa sul do Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 13 amostras de *Farfantepenaeus paulensis*, no mês de fevereiro de 2013, no mercado público do município de Pelotas, provenientes do ambiente estuarino da Lagoa dos Patos e da costa atlântica adjacente, próximo a 32° de latitude sul. O material foi transportado sob refrigeração ao laboratório, onde foram pesados e acondicionados em embalagens estéreis (três camarões por embalagem, aproximadamente 25 g). As amostras foram maceradas e incubadas a 37°C durante 24 horas em Água Peptonada Alcalina (APA, Himedia, Mumbai, Índia), com 1% de NaCl. Após, foram semeadas por esgotamento em ágar Tiosulfato Citrato Bili Sacarose (TCBS, HIMEDIA) e incubadas a 37°C por mais 24 horas. Foram selecionadas 3 colônias típicas de cada placa e submetidas à técnica de

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para confirmar a presença de *V. parahaemolyticus*.

O DNA foi extraído conforme Sambrook; Russel (2001). A PCR foi feita de acordo com Kim et al. (1999), utilizando-se oligonucleotídeos para amplificação do gene *toxR* (Tabela 1). Para cada reação, foram utilizados 20 µL de uma mistura contendo 6,8 µL de água destilada estéril, 10 µL de MIX (Promega, Madison, Wisconsin, USA), 10 pmol de *primers* (1 µL de cada) e 1,2 µL de DNA. *V. parahaemolyticus* ATCC 17802 foi utilizado como controle. As condições de amplificação foram as seguintes: desnaturação a 96°C por 5 min; 20 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento a 63°C por 1,5 min e extensão a 72°C por 1,5 min; extensão final a 72°C por 7 min. O produto da PCR foi resolvido em gel de agarose a 1,8% corado com gelred (Uniscience, São Paulo, Brasil).

Tabela 1: Oligonucleotídeos usados na amplificação do gene *toxR*.

Primer	Sequência (5' a 3')	Gene alvo	Tamanho da amplificação na PCR (pb)	Referência
ToxR-a	GTCTTCTGACGCAATCGTTG	<i>ToxR</i>	368	(Kim et al., 1999)
ToxR-b	ATACGAGTGGTTGCTGTCATG			

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 13 amostras de *Farfantepenaeus paulensis* analisadas, seis (46,15%) albergavam *V. parahaemolyticus*. Esse é o primeiro registro desse micro-organismo em camarões na costa sul do Brasil. No país há relatos de *V. parahaemolyticus* isolados de água e animais marinhos (COSTA et al., 2010), sendo encontrado principalmente em estações mais quentes (FUENZALIDA et al., 2006).

Das 22 colônias características que foram submetidas à PCR, 16 delas não apresentaram a banda correspondente a *V. parahaemolyticus*, indicando ser uma bactéria distinta. É possível que se trate de outras espécies de *Vibrio*, como o *V. vulnificus*, que apresenta colônias iguais as de *V. parahaemolyticus* em ágar TCBS (BRAYTON et al., 1983).

Por causar problemas gastrointestinais severos em humanos, que se contaminam com *V. parahaemolyticus* principalmente pela ingestão de pescados mal cozidos ou em locais com precária higiene, faz-se necessária a promoção da educação sanitária para os manipuladores de alimentos bem como consumidores, a fim de controlar a transmissão alimentar da doença (BARBONI, 2003).

4. CONCLUSÕES

Vibrio parahaemolyticus pode estar presente em *Farfantepenaeus paulensis* capturados na costa sul do Brasil, constituindo potencial perigo à saúde dos consumidores.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAM, M.J.; TOMOCHIKA, K.I.; MIYOSHI, S.I.; SHINODA, S. Environmental investigation of potentially pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in the Seto-Inland Sea, Japan. **FEMS Microbiology Letters**, v. 208, p. 83-87, 2002.

ARCHER, R.M.B.; MORETTO, E. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* em mexilhões (PERNA PERNA & LINNAEUS, 1785) de banco natural do litoral do município de Palhoça, Santa Catarina, Brasil. **Cadernos de saúde pública**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 3, p. 379-386, 1994.

BARBONI, S.A.V. **Ocorrência de *Vibrio spp.* potencialmente patogênicos em moluscos bivalves comestíveis comercializados nos anos de 2000 a 2002 no municípios da área de influência da Baía de Todos os Santos e Valença, Bahia – Brasil.** 2003. 134-135 f. Tese. Faculdade de Saúde Pública. Departamento de Prática de Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

BRAYTON, P.P.R.; WEST, P.A.; RUSSEK, E.; COLWELL, R.R. New Selective Plating Medium for Isolation of *Vibrio vulnificus* Biogroup I. **Journal of clinical microbiology**, v. 17, n. 6, p. 1039-1044, 1983.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. ***Vibrio illness (Vibriosis) - Vibrio parahaemolyticus.*** Acessado em 29 Jun. 2014. Online. Disponível em: <http://www.cdc.gov/vibrio/vibriop.html>

COSTA, R.A.; SILVA, G.C.; PEIXOTO, J.R.O.; VIEIRA, G.H.F.; VIEIRA, R.H.S.F. Quantification and distribution of *Vibrio* species in water from an estuary in Ceará-Brazil impacted by shrimp farming. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 58, n. 3, p. 1982-436, 2010.

FUENZALIDA, L.; ARMIJO, L.; ZABALA, B.; HERNÁNDEZ, C.; RIOSECO, M. L.; RIQUELME, C.; ESPEJO, R.T. *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated during investigation of the summer 2006 seafood related diarrhea outbreaks in two regions of Chile. **International Journal of Food Microbiology**, v. 117, n. 3, p. 279-275, 2006.

GEO BRASIL. Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil. In: Santos, T. C. C. & Câmara, J. B. D. (orgs.). Brasília: Edições IBAMA, 440 p. 2002.

KIM, Y.B.; OKUDA, J.M.C.; TAKAHASHI, N.H.S; NISHIBUCHI, M. Identification of *Vibrio parahaemolyticus* strains at the species level by PCR targeted to the *toxR* gene. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 4, p. 1173-1177, 1999.

LIN, Z.; KUMAGAI, K.; BABA, K.; MEKALANOS, J. J.; NISHIBUCHI, M. *Vibrio parahaemolyticus* has a homolog of the *Vibrio cholerae* *toxRS* operon that mediates environmentally induced regulation of the thermostable direct hemolysin gene. **Journal of Bacteriology**, v. 175, n. 12, p. 3844–3855, 1993.

PENG, F.M.; JIANG, D.Y.; RUAN, H.H.; LIU, H.Q.; ZHOU, L.P. Pathogenic investigation on a food poisoning induced by *Vibrio parahaemolyticus*. **Preventive Medicine Tribune**, v. 16, n. 8, p. 746–747, 2010.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D.W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Nova York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SU, Y.; LIU, C. *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of seafood safety. **Food Microbiology**, v. 24, n. 6, p. 549-558, 2007.