

CARACTERIZAÇÃO SOROLÓGICA DOS ANTÍGENOS DE SUPERFÍCIE EM CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ISOLADAS DE SUÍNOS COM DIARRÉIA NO ESTADO DO PARANÁ

(Serological characterization of surface antigens in Escherichia coli strains isolated from swine with diarrhea in Parana State)

SOUZA, C.¹; WARTH, J.F.G.²; HAMANN, W.²; BIESDORF, S.M.³

¹ Docente da UFPR – Campus Palotina, PR

² Departamento de Medicina Veterinária, UFPR, Curitiba, PR

³ Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, SEAB, Curitiba, PR

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo a caracterização sorológica de 42 cepas de *Escherichia coli* isoladas no Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti em Curitiba, PR de surtos de diarréia suína no Estado do Paraná. Os antígenos de superfície O-K e de aderência foram identificados no Centro de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (RS), e na UNICAMP (SP), respectivamente. Os principais sorogrupos mais prevalentes foram O138:K81 e O141:K85, ocorrendo na mesma proporção, em 9 (21,4%) cepas; O139:K82 em 4 (9,5%) e O149:K91 em 3 (7,1%) totalizando 25 (59,4%) cepas. Os sorogrupos menos prevalentes totalizaram 4 (9,5%) cepas e foram identificados como O35:K^vV79^v, O108:K^vV189^v, O115:K^vV165^v e O119:K^vV113^v. Quanto aos antígenos de aderência, a fimbria K88 foi detectada em 22 (52,4%) cepas. O antígeno F165 ocorreu em 5 (11,9%) cepas sendo este o primeiro relato da ocorrência deste antígeno em cepas ETEC infectando suínos no Brasil. Baseado no levantamento sorológico concluiu-se que a inclusão nas vacinas dos sorogrupos O-K mais prevalentes e dos antígenos de aderência clássicos bem como do F165 poderá conferir proteção mais efetiva na prevenção da colibacilose dos leitões no Estado do Paraná.

Palavras-chave: colibacilose; leitões; diarréia; sorotipagem; prevalência.

ABSTRACT – The aim of the present work was the serological characterization of 42 strains of *Escherichia coli* isolated at the Center of Veterinary Diagnostic Marcos Enrietti, in Curitiba, PR from outbreaks of swine diarrhea in the State of Paraná. The surface O-K and adherence antigens were identified at the Center of Veterinary Researches Desidério Finamor (RS) and at UNICAMP (SP), respectively. The main serogroups involved were O138:K81 and O141:K85 which occurred in the same proportion in 9 (21.4%) strains; 4 (9.5%) strains were O139:K82 and 3 (7.1%) were O149:K91. The serogroups O35:K^vV79^v, O108:K^vV189^v, O115:K^vV165^v and O119:K^vV113^v were found in only one sample each (2.4%) of the strains. In relation to fimbrial antigens, K88 was detected in 22 (52.4%) strains and the F165 in 5 (11.9%) strains. This is the first report of the occurrence of the fimbrial antigen named F165 in Brazil. It was concluded that the inclusion of these more prevalent serogroups O-K as well as the classical fimbriae and the F165 antigen could give more protection against the colibacillosis of piglets in Parana State.

Key-words: colibacillosis; piglets; diarrhea; serotyping; prevalence.

INTRODUÇÃO

Dentre as doenças infecciosas afetando os suínos, a colibacilose destaca-se como uma das principais responsáveis pelas altas taxas de morbidade e mortalidade em leitões do nascimento ao desmame (TZIPORI *et al.*, 1980; BRITO *et al.*, 1995). Cepas patogênicas de *Escherichia coli* (*E. coli*) são responsáveis por quadros clínicos denominados de diarreia neonatal e da terceira semana, diarreia do desmame e doença do edema (SOJKA, 1971; FAIRBROTHER, 1992). Em um levantamento sobre a produção suína nos Estados Unidos, foi estimado que 7% de leitões entre 0 e 4 dias de idade apresentaram diarreia, a maioria sendo causada pela *E. coli* onde cerca de 50% daqueles animais morreram (USDA, 1991). BARCELLOS *et al.*, (1980), obtiveram entre 433 amostras de fezes diarreicas, 338 (78%) isolamentos do agente demonstrando assim a importância do patógeno no contexto geral das causas das doenças entéricas nesta espécie animal (BARCELLOS *et al.*, 1980).

A participação de alguns sorotipos em casos de diarreia e doença do edema em suínos está bem estabelecida e ao detectar o sorotipo responsável pode-se estabelecer com mais precisão um esquema de vacinação preventivo mais adequado (SOJKA, 1971; BARCELLOS *et al.*, 1980). Para tanto, a classificação sorológica das cepas de *E. coli* está baseada na identificação de seus quatro antígenos de superfície: O (antígeno somático); K (antígeno capsular), H (antígeno flagelar) e F (antígeno fimbrial) (ORSKOV *et al.*, 1977; ORSKOV e ORSKOV, 1983). Pesquisas relacionadas aos antígenos de superfície O-K em *E. coli* foram realizadas no Brasil (BARCELLOS e BAPTISTA, 1977; OLIVEIRA *et al.*, 1981; CASTRO *et al.*, 1984; GATTI *et al.*, 1985; BRITO *et al.*, 1995; FERREIRA *et al.*, 1997) e em diversos países (GONZALES e BLANCO, 1986; HAREL *et al.*, 1991; NAGY *et al.*, 1992; SALAJKA *et al.*, 1992; IMBERECHTS *et al.*, 1994; NGELEKA, 2002) evidenciando a participação de sorotipos O-K mais prevalentes em casos de colibacilose suína. Outras pesquisas identificaram os principais antígenos de aderência associados às cepas patogênicas causadoras de diarreia (OLIVEIRA *et al.*, 1981; CASTRO *et al.*, 1984; GATTI *et al.*, 1985; YANO *et al.*, 1986; GARCÍA *et al.*, 1987; CARVALHO *et al.*, 1991; HAREL *et al.*, 1991; NAGY *et al.*, 1992; SALAJKA *et al.*, 1992; FERREIRA *et al.*, 1997; NGELEKA, 2002).

Visando contribuir para um melhor esclarecimento sobre as cepas de *E. coli* envolvidas em diarreias em leitões no Estado do Paraná, o presente trabalho tem como objetivos principais determinar a frequência de antígenos somáticos, capsulares e fimbriais

em cepas isoladas de leitões nos períodos neonatal e de pós-desmame visando a inclusão dos mesmos em vacinas comerciais atualmente em uso nesta região do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta e duas cepas de *E. coli* isoladas no Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti de amostras fecais de leitões com diarreia provenientes de distintas granjas suínolas localizadas no Estado do Paraná, foram encaminhados para sorotipagem em centros de referência. A verificação dos antígenos O-K, segundo SOJKA (1971), e dos antígenos de aderência (K88, K99, 987P, F41 e F165) foi realizada no Centro de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (RS) e no Laboratório de Microbiologia da UNICAMP (SP), respectivamente.

RESULTADOS

Na TABELA 1 são apresentados os resultados das sorotipagens das 42 cepas de *E. coli*. Verificou-se a predominância de dois sorogrupos, O138:K81 e O141:K85 em igual proporção com 9 (21,4%) cepas identificadas. O terceiro e quarto sorogrupos mais predominantes foram O139:K82 com 4 cepas (9,5%) e O149:K91 com 3 cepas (7,1%), respectivamente. O somatório do número de cepas bem como das percentagens destes quatro sorogrupos mais prevalentes totalizou 25 cepas (59,0%). As demais 4 cepas foram identificadas como pertencendo a 4 sorogrupos distintos O35:K⁷V79⁹, 1 cepa (2,4%), O108:K⁷V189⁹, 1 cepa (2,4%), O115:K⁷V165⁹, 1 cepa (2,4%) e O119:K⁷V113⁹, 1 cepa (2,4%). Não foi possível a identificação precisa dos antígenos O-K de 13 cepas (31,0%) devido a fatores tais como a não reação com os anti-soros utilizados, reações cruzadas a mais de um anti-soro ou devido a cepas auto-aglutinantes. Com relação aos antígenos de aderência expressados nas 29 cepas O-K acima sorotipadas, observou-se que entre as 25 cepas (pertencentes a 4 sorogrupos O-K mais prevalentes), 14 delas (56%) expressaram os antígenos de aderência K88 e uma cepa (4%) o antígeno F165. Entre os 4 sorogrupos menos prevalentes sorotipados, em 3 (75,0%) deles o antígeno K88 também foi expressado. No somatório final entre 29 cepas O-K sorotipadas, 17 (58,6%) delas expressaram o antígeno K88 e 1 (3,4%) o antígeno F165. Em 13 (31,0%) cepas O-K não identificadas, 5 (38,4%) delas também expressaram o antígeno K88, 4 (30,6%) o antígeno F165 e em 4 (30,6%) delas não foi possível identificar os antígenos de aderência por se apresentarem rugosas. Com relação apenas aos antígenos de aderência, entre as 42 cepas analisadas, 22 (52,4%) expressaram antígenos K88 e 5 (11,9%) expressaram o antígeno F165, enquanto que em 15

Caracterização sorológica dos Antígenos de superfície em cepas de *Escherichia Coli* isoladas de suínos com diarreia no Estado do Paraná

TABELA 1 – ASSOCIAÇÃO ENTRE SOROGRUPOS O-K E FÍMBRIAS

Sorogrupos O-K	Nº Cepas	%	K88	%	Fímbrias F165 %	%	NI	%
O138:K81	9	21,4	4	44,4	0	0,0%	5	55,6
O141:K82	9	21,4	8	88,8	1	11,2	0	0,0
O139:K85	4	9,5	0	0,0	0	0,0	4	100,0
O149:K91	3	7,1	2	76,6	0	0,0	1	23,4
O35	1	2,4	0	0,0	0	0,0	1	100,0
O108	1	2,4	1	100,0	0	0,0	0	0,0
O115	1	2,4	1	100,0	0	0,0	0	0,0
O119	1	2,4	1	100,0	0	0,0	0	0,0
NI	13	31,0	5	38,4	4	30,6	4	30,6
TOTAL	42	100,0	22		5		15	

NI – não identificados

cepas as fímbrias não foram identificadas.

DISCUSSÃO

A presente pesquisa aborda a identificação dos antígenos de superfície de cepas isoladas de surtos de colibacilose em leitões no Estado do Paraná. Quanto aos antígenos O-K verificou-se a frequência maior dos sorogrupos O138:K81 e do O141:K85 com 9 cepas cada (21,4%); O139:K82 com 4 cepas (9,5%). Portanto observou-se o predomínio destes sorogrupos em 50% das cepas investigadas. Relacionando os artigos científicos realizadas no Brasil a este respeito, verifica-se que BARCELLOS *et al.* (1980) bem como GATTI *et al.* (1985), em pesquisa semelhante também verificaram a presença dos sorogrupos O141 e O138 como os mais prevalentes no Estado do Rio Grande do Sul. Os índices encontrados pelos pesquisadores quanto a esses sorogrupos foram de 25,7% e 28,7% e 23,5% e 19,8%, respectivamente. No Estado de Santa Catarina, CASTRO *et al.* (1984) também identificaram o antígeno O138 em 5,8% das cepas com o predomínio do sorogrupo O149 em 32,3%. Este último sorogrupo foi identificado na presente pesquisa em 7,1% das cepas enquanto que BARCELLOS *et al.* (1980) e GATTI *et al.* (1985) o identificaram em 7,4% e 11,7%, respectivamente. Devido a proximidade geográfica destes três estados considerados os maiores produtores de suínos do país e as relações comerciais entre eles que envolvem a aquisição de animais reprodutores, é de acreditar-se que as cepas encontradas neste estudo estejam amplamente disseminadas e estabelecidas na região Sul do país.

Mesmo assim, peculiaridades regionais fazem com que uma cepa seja mais predominante do que outra como foi verificado no presente trabalho, o que demonstra a necessidade de vigilâncias periódicas quanto às avaliações dos sorogrupos mais prevalentes. Esta correlação regional também foi verificada por GONZALES e BLANCO (1986) e GARABAL *et al.* (1996) em pesquisas realizadas na Espanha, os quais identificaram o sorotipo O141 como o mais frequentemente presente, correspondendo a 36,5% e 13,2%, respectivamente, mostrando a similaridade de resultados e o valor epidemiológico regional na realização destes levantamentos antigênicos em cepas patogênicas.

A composição das vacinas preventivas comerciais contra a colibacilose necessitará sempre destas investigações antigênicas preliminares, sob o risco de mostrarem-se ineficazes quando do seu uso em propriedades com surtos frequentes. Fica também evidente que vacinas importadas contra a colibacilose dos leitões teriam pouca eficácia na prevenção de surtos, pois os sorotipos presentes numa região ou país não são necessariamente os mesmos. Por outro lado, face aos resultados semelhantes encontrados nestas regiões suínícolas do nosso país, as vacinas que contivessem os 4 antígenos O-K predominantes (O138:K81, O141:K85, O139:K82 e O149:K91) poderiam ser utilizadas em animais dos três estados, pois 59% das cepas patogênicas sorotipadas pertenceram a estes sorogrupos. A presença do antígeno de aderência K88 em 60,0% das cepas (independentemente do antígeno O-K apresentado) e do antígeno F165 em 14,3% demonstra que a inclusão desta última fímbria de aderência na composição vacinal será de vital importância

para uma efetiva proteção. Atualmente, as vacinas contra a colibacilose suína não apresentam em sua composição a fimbria F165. A expressão do antígeno F165 em cepas de *E. coli* é pela primeira vez relatada em nosso país, comprovando a necessidade deste monitoramento antigênico, pois a variabilidade das cepas e de seus antígenos de aderência é esperada, por tratar-se de um processo dinâmico em que podem estar envolvidos plasmídeos de transferência disseminando estes fatores de virulência entre cepas de *E. coli*. Devido a pressão vacinal exercida pelo uso constante de imunógenos contendo os antígenos de aderência clássicos, como o K88 e K99 é de se esperar o surgimento de cepas expressando novas fimbrias ainda não detectadas (SALAJKA *et al.*, 1992; NGELEKA, 2002). Métodos alternativos mais sensíveis têm sido empregados na identificação de cepas ETEC com o objetivo de detectar genes responsáveis pela expressão de fimbrias em *E. coli* não necessitando a utilização de anti-soros específicos nem a utilização de meios de cultura promotores da produção destes antígenos de aderência (DEBROY e MADDOX, 2001).

REFERÊNCIAS

- BARCELLOS, D.E.S.N.; GUIZZARD, I.I.; FALLAVENA, L.C.B. Frequência e causa de diarreias em suínos nas zonas do Vale do Taquari e Missões; Rio Grande do Sul; Brasil. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, v.7, p.27-37, 1980.
- BARCELLOS, D.E.S.N.; BAPTISTA, P.J.H.P. Colibacilose suína: novos tipos sorológicos de *Escherichia coli* identificados em municípios do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, v.4, p.65-71, 1977.
- BRITO, B.G.; FILIPPSEN, L.F.; MORES, N.; BRENTANO, L.; BRITO, M.A.V.P. Etiologia da diarreia de leitões lactentes em granjas suínolas do sudoeste do Paraná. **Semina**, v.16, n.1, p.13-17, 1995.
- CASTRO, A.F.P.; SERAFIM, M.B.; BRITO, J.R.F.; BARCELLOS, D.S.E.N.; COLLI, I.A.G. Virulence factors present in cultures of *Escherichia coli* isolated from pigs in the region of Concórdia, Santa Catarina, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.4, n.3, p.109-114, 1984.
- DEBROY, C.; MADDOX, C.W. Identification of virulence attributes of gastrointestinal *Escherichia coli* isolates of veterinary significance. **Animal Health Research Reviews**, v.1, n.2, p.129-140, 2001.
- FAIRBROTHER, J.M. Enteric colibacillosis. In: LEMAN, A.D.; STRAW, B.E.; MENGELING, W.L.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D.J. **Diseases of Swine**. Iowa: State University Press, 1992, p. 489-497.
- FERREIRA, A.J.P.; BRITO, B.G.; TAGLIARI, K.C.; SARIDAKIS, H.O. Fimbrias (F41, F42, 987P, K88, K99, Fy) e enterotoxinas (STa e LTI) em amostras de *Escherichia coli* isoladas de leitões com diarreia na região de Londrina – PR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. 1997, Foz do Iguaçu, **Anais...** Foz do Iguaçu: 1997, p.213-214.
- GARABAL, J.I.; GONZALEZ, E.A.; VAZQUEZ, F.; BLANCO, J.; BLANCO, M.; BLANCO, J.E. Serogroups of *Escherichia coli* isolated from piglets in Spain. **Veterinary Microbiology**, v.48, p.113-123, 1996.
- GARCÍA, D.; CAVAZZA, M.E.; BOTERO, L.; GORZIGLIA, M.; URBINA, G.; LIPRANDI, F.; ESPARZA, J. Preliminary characterization of *Escherichia coli* from pigs with diarrhoea in Venezuela. **Veterinary Microbiology**, v.13, p.47-56, 1987.
- GATTI, M.S.V.; SERAFIM, M.B.; CASTRO, A.F.P. Fatores de virulência em amostras de *Escherichia coli* enteropatogênicas para suínos isoladas no Brasil. **Revista de Microbiologia**, v.16, n.1, p. 21-30, 1985.
- GONZALES, E.A.; BLANCO, J. Colonization antigens, antibiotic resistance and plasmid content of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhea in Galicia (North-Western Spain). **Veterinary Microbiology**, v.11, p.271-283, 1986.
- HAREL, J.; LAPOINTE, H.; FALLARA, A.; LORTIE, L.A.; BIGRAS-POULIN, M.; LARIVIÈRE, S.; FAIRBROTHER, J.M. Detection of genes for fimbrial antigens and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with diarrhea. **Journal of Clinical Microbiology**, v.29, n.4, p.745-752, 1991.

Caracterização sorológica dos Antígenos de superfície em cepas de *Escherichia coli* isoladas de suínos com diarreia no Estado do Paraná

IMBERECHTS, H.; BERTSCHINGER, H.U.; STAMM, M.; SYDLER, T.; POHL, P.; De GREVE, H.; HERNALSTEENS, J.P.; MONTAGU, M. VAN; LINTERMANS, P. Prevalence of F107 fimbriae on *Escherichia coli* isolated from pigs with oedema disease or postweaning diarrhoea. **Veterinary Microbiology**, v.40, p.219-230, 1994.

NAGY, B.; ARP, L.H.; MOON, H.W.; CASEY, T.A. Colonization of the small intestine of weaned pigs by enterotoxigenic *Escherichia coli* that lack known colonization factors. **Veterinary Pathology**, v.29, p.239-246, 1992.

NGELEKA, M. Isolation of a new *Escherichia coli* pathotype associated with diarrhea in piglets. **Canadian Veterinary Journal**, v.43, p.623-624, 2002.

OLIVEIRA, M.S.; CASTRO, A.F.P.; SERAFIM, M.B.; GIORGI, W. Mannose-resistant haemagglutination and colonization factors among *Escherichia coli* strains isolated from pigs. **Veterinary Record**, v.109, p.275-278, 1981.

ØRSKOV, I.; JANN, B.; JANN, K. Serology chemistry and genetics of O and K antigens of *Escherichia coli*. **Bacteriological Reviews**, v.41, p.667-710, 1977.

ØRSKOV, I.; ØRSKOV, F. Serology of *Escherichia coli* fimbriae. **Progress in Allergy**, v.33, p.80-105, 1983.

SALAJKA, E.; SALAJKOVA, Z.; ALEXA, P.; HORNICH, M. Colonization factor different from K88, K99, F41 and 987P in enterotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from postweaning diarrhea in pigs. **Veterinary Microbiology**, v.32, p.163-175, 1992.

SOJKA, W.J. Enteric diseases in new-born piglets, calves and lambs due to *Escherichia coli* infection. **Veterinary Bulletin**, v.41, p.509-522, 1971.

TZIPORI, S.; CHANDLER, D.; SMITH, M.; MAKING, T.; HENNESER, D. Factors contributing to post-weaning diarrhea in a large intensive piggery. **Australian Veterinary Journal**, v. 56, n. 6, p. 274-278, 1980.

UNITED STATES OF AMERICA DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Prewaning morbidity and**

mortality: National Animal Health Monitoring System. Washington, USDA, APHIS, 1991.

YANO, T.; LEITE, D.S.; CAMARGO, I.J.B.; CASTRO, A.F.P. A probable new adhesive factor (F42) produced by enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs. **Microbiology and Immunology**, v.30, n.6, p.495-508, 1986.

Recebido para publicação:

30/05/2007

Aprovado:

26/11/2007