

OCORRÊNCIA DE *V. vulnificus* DE PESCADOS CAPTURADOS NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS

DÉBORA RODRIGUES SILVEIRA¹; JANAÍNA VIANA DA ROSA²; REBECA CAMARGO PORTO³; KAUANA KAEFER⁴; CLÁUDIO DIAS TIMM⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – debora.rsilveira@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – janavrosa@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas - rebecca_porto@outlook.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - kauanakaefer@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – timm@ufpel.tche.br

1. INTRODUÇÃO

O estuário da Lagoa dos Patos, no extremo sul do Brasil, ocupa uma área de 963,8 km² (10% da área total desta laguna), recebendo água dos rios localizados na sua porção norte e da Lagoa Mirim, ao sul, através do Canal São Gonçalo (CALLIARI, 1998). O estuário representa uma importante área de criação para várias espécies de peixes e crustáceos de valor comercial, configurando-se como um polo pesqueiro artesanal de importância destacada no abastecimento de pescados no sul do Brasil (REIS, 1999). Para garantir a qualidade desses alimentos, é necessário o correto manuseio durante a captura, o processamento, a estocagem e a comercialização dos pescados.

O pescado pode ser contaminado no oceano e permanecer após a captura, durante o transporte, manipulação, contato com o gelo, superfícies, equipamentos, e no ambiente de estocagem e de comercialização (HUSS, 1997; OGAWA & MAIA, 1999; CARDOSO et al., 2003).

Vibrio é um gênero de bactérias Gram-negativas, móveis, geralmente com um único flagelo polar. São micro-organismos de ambiente tipicamente marinho e estuarino que podem ser isoladas de peixes e crustáceos, sendo capazes também de se multiplicar sem hospedeiro em águas marinhas (CENTERS FOR DESEASE CONTROL AND PREVENTION, 2016). Muitos casos de vibrioses não são detectados, pois a identificação deste micro-organismo não costuma fazer parte da rotina laboratorial. *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* e *V. mimicus* são as principais espécies reportadas como agentes infecciosas para humanos. *V. vulnificus* é considerado o mais patogênico, podendo causar septicemia e morte (SILVEIRA et al., 2016).

V. vulnificus é o patógeno alimentar mais fatal nos Estados Unidos, e possivelmente no mundo, com uma taxa de mortalidade de cerca de 50%, representando 95% de todas as mortes relacionadas ao consumo de frutos do mar nos EUA. Estes índices excedem o de outros patógenos alimentares, como *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Clostridium botulinum*. Embora a dose infectante não seja conhecida, estipula-se que 100 células ou menos possam ocasionar a doença em indivíduos que tenham algum fator predisponente (OLIVER, 2015). Estudos realizados na América do Sul relatam a necessidade de mais pesquisas relacionadas à detecção de *V. vulnificus*. A presença deste micro-organismo tem sido registrada nas águas ao longo da costa atlântica da América do Sul. Porém, apesar de sua importância como causador de DTA, ainda é pouco pesquisado como contaminante de pescados (GIVENS et al., 2014). Não há estudos sobre a possível ocorrência de *V. vulnificus* no estuário da Lagoa dos Patos ou nos pescados capturados neste local.

O objetivo do estudo foi determinar a ocorrência de *V. vulnificus* em pescados capturados no estuário da Lagoa dos Patos.

2. METODOLOGIA

Foram analisados 217 isolados característicos de *Vibrio* sp. obtidos nos trabalhos de MILAN et al. (2016), ROSA et al. (2016) e ROSA et al. (2017), a partir de 318 amostras de pescados capturados no estuário da Lagoa dos Patos nos anos de 2012 a 2016. Foram coletadas 25 amostras de *Farfantepenaeus paulensis* (camarão) e 293 de peixes, das espécies *Micropogonias furnieri* (corvina), *Mugil platanus* (tainha), *Paralichthys orbignyanus* (linguado) e *Netuna barba* (bagre).

Os isolados foram recuperados em tubos de 3 mL de Água Peptonada Alcalina (com 1% de cloreto de sódio), durante 24 h a 37 °C.

Os DNAs dos isolados foram extraídos conforme o recomendado por Sambrook & Russel (2001). Foram analisados pela reação em cadeia da polimerase (PCR) para pesquisa do gene *cth*, para identificação de *V. vulnificus*, conforme Hill et al. (1991), com os primers recomendados por Kaysner & de Paola (2004) (Tabela 1).

Tabela 1. Primers utilizados na identificação de *V. vulnificus*.

Primer	Sequência (5' a 3')	Tamanho da amplificação (pb)	Referência
Vvh-785F	CCGCGGTACAGGTTGGCGCA		Kaysner & de Paola (2004)
Vvh-1303R	CGCCACCCACTTCGGGCC	519	

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 217 isolados analisados, obtidos dos 318 pescados amostrados, 3 (1%) foram identificados como *V. vulnificus*. Os pescados que albergavam o patógeno eram dois exemplares da espécie *Paralichthys orbignyanus* e um de *Micropogonias furnieri*. Os pescados contaminados estavam inteiros (amostras não evisceradas) e foram capturados nos meses de outubro e novembro de 2013.

No Brasil, os relatos de contaminação por *V. vulnificus* têm sido associados principalmente a ostras. Casos de diarreia e sepse foram relatados nos estados de São Paulo, Bahia e Ceará (ARAUJO et al., 2007). *V. vulnificus* foi isolado de um peixe, de 21 coletados em mercado público na Bahia, demonstrando sua capacidade de contaminar pescados na costa brasileira e se manter viável no mercado varejista. Os autores atribuíram a contaminação à infraestrutura e refrigeração inadequadas (EVANGELISTA-BARRETO et al., 2017). Este é o primeiro relato da ocorrência de *V. vulnificus* em *Paralichthys orbignyanus* e *Micropogonias furnieri* e o primeiro isolamento do patógeno de pescados capturados no estuário da Lagoa dos Patos.

Recentemente, *Vibrio parahaemolyticus*, espécie patogênica que também está associada ao consumo de pescados contaminados, foi isolado de pescados capturados no estuário da Lagoa dos Patos, demonstrando a ocorrência da bactéria na região e a consequente contaminação dos pescados. O micro-organismo foi isolado de *Micropogonias furnieri* (corvina) e *Mugil platanus* (tainha), *Paralichthys orbignyanus* (linguado) e *Farfantepenaeus paulensis* (camarão-rosa) (ROSA et al., 2016; MILAN et al., 2016). Como *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* possuem várias características semelhantes e habitam os mesmos ambientes (BLACKWELL & OLIVER, 2008), é possível que a

presença de uma das espécies seja sugestiva que a outra também possa ser isolada do mesmo ambiente.

Há carência de informações adequadas que permitam distinção entre cepas patogênicas e não patogênicas de *V. vulnificus*. Devido a isso, todas as cepas de *V. vulnificus* são consideradas igualmente patogênicas (Stelma Junior et al., 1992). Apesar da ocorrência do patógeno ter sido baixa, o simples fato deste micro-organismo ser encontrado viável em pescados em situação de comercialização, já é um risco para os consumidores pelo potencial de patogenicidade e pelo alto grau de mortalidade atribuído a *V. vulnificus*.

4. CONCLUSÕES

Vibrio vulnificus pode ser isolado de *Paralichthys orbignyanus* e de *Micropogonias furnieri* capturados no Estuário da Lagoa dos Patos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, M.R.E.; AQUINO, C.; SCARAMAL, E.; CIOLA, C.S.; SCHETTINO, G.; MACHADO, M.C. *Vibrio vulnificus* infection in São Paulo, Brazil: case report and literature review. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v.11, n.2, p.302- 305, 2007.

BLACKWELL, K.D.; OLIVER, J. D. The ecology of *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio parahaemolyticus* in North Carolina estuaries. **Journal of Microbiology**, v.46, n.2, p.146-153, 2008.

CALLIARI, L.J. O ambiente e a biota do Estuário da Lagoa dos Patos. In: SEELIGER, U.; ODEBRECHT, C.; CASTELLO, J.P. Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Rio Grande: **Ecoscientia**, 1998. p.13-18.

CARDOSO, N.L.C.; ANDRÉ, M.C.D.P.B.; SERAFINI, A.B. Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiânia, GO. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.109, p.81-87, 2003.

CENTERS FOR DESEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. *Vibrio species causing vibriosis*. 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/vibrio/faq.html>>. Acesso em: 22 set. 2017.

DA ROSA, J.V.; DA SILVA, C.J.; BARBOSA, F.; BAIRROS, J.; DUVAL, E.H.; HELBIG, E.; TIMM, C.D. *Vibrio parahaemolyticus* and *Salmonella enterica* isolates in fish species captured from the Lagoa dos Patos estuary. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, n.3, p.1345-1354, 2016.

DA ROSA, J.V.; KÄEFER, K.; DA CONCEIÇÃO, N.V.; DA CONCEIÇÃO, R.C.; TIMM, C.D. Formação de biofilme por *Vibrio parahaemolyticus* isolados de pescados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.4, p. 339-345, 2017.

EVANGELISTA-BARRETO, N.S.; DAMACENA, S.S.; CARDOSO, L.G.; MARQUES, V.F.; SILVA, I. P. Condições higiênicos sanitárias e grau de frescor do pescado comercializado no mercado de peixe em Cachoeira, Bahia. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.11, n.1, p.60-74, 2017.

GIVENS, C.E.; BOWERS, J.C.; DEPAOLA, A.; HOLLIBAUGH, J.T.; JONES, J L. Occurrence and distribution of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*—potential roles for fish, oyster, sediment and water. **Letters in applied microbiology**, v.58, n.6, p.503-510, 2014.

HILL, W.E.; KEASLER, S.P.; TRUCKSESS, M.W.; FENG, P.; KAYSNER, C.A.; LAMPEL, K.A. Polymerase chain reaction identification of *Vibrio vulnificus* in artificially contaminated oysters. **Applied and Environmental Microbiology**, v.57, n.3, p.707–711, 1991.

HUSS, H.H. Control of indigenous pathogenic bacteria in seafood. **Food Control**, v.8, n.2, p. 91-98, 1997.

MILAN, C.; SILVEIRA, D.R.; DA ROSA, J.V. & TIMM, C.D. *Vibrio Parahaemolyticus* isolados de pescados do estuário da Lagoa dos Patos. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.74, n.2, p.151-155, 2016.

OGAWA, M.; MAIA, E.L. *Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado*. São Paulo: Varela, 1999. 430p.

OLIVER, J.D. The biology of *Vibrio vulnificus*. **Microbiology Spectrum**. v.3, n.3, p.1-2, 2015.

REIS, E.G. Pesca artesanal na Lagoa dos Patos: História e administração pesqueira. In: ALVES, F.N. Por uma história multidisciplinar do Rio Grande. Rio Grande: FURG, 1999. p.81-84.

SAMBROOK, J & RUSSEL, D.W. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3.ed. Nova York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001. 999 p.

SILVEIRA, D.R.; MILAN, C.; DA ROSA, J.V.; TIMM, C.D. Fatores de patogenicidade de *Vibrio* spp. de importância em doenças transmitidas por alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.83, p.01-07, 2016.

STELMA JUNIOR, G.N.; REYES, A.L.; PEELER, J.T.; JOHNSON, C.H.; SPAULDING, P.L. Virulence characteristics of clinical and environmental isolates of *Vibrio vulnificus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.58, p.2776-2782, 1992.