

VIABILITY OF NON-O157 SHIGA TOXIN-PRODUCING *Escherichia coli* TYPE 2 AND ITS VARIANTS IN MINAS CHEESE - ARTISANAL BRAZILIAN CHEESE

Caroline Peters Pigatto¹, Rubén Pablo Schocken-Iturrino², Cyntia Maria Telles Fadel-Pichetch³, Francisco Baptista¹, José Moacir Marin⁴

¹Laboratório de Microbiologia e Imunologia Veterinária (LAMIVET), Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, Tocantins, Brasil; ²Departamento de Patologia Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brasil; ³Departamento de Patologia Médica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil; ⁴Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil.

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) is an emergent foodborne pathogen that cause diarrhea, hemorrhagic colitis and haemolytic uremic syndrome in humans, represents a public health problem all over the world. Cattle are the main source of STEC. STEC strains are transmitted to humans by contaminated food, mainly that of cattle origin as meat and dairy products. This study aimed evaluate the viability of non-O157 Shiga toxin type 2 and its variants of Minas cheese prepared with milk artificially inoculated with strains previously characterized. The virulence profile strains were: *stx*₂; *stx*₂, *saa*; *stx*₂, *hlyA* and *stx*₂, *hlyA*, *saa*. The Shiga toxin type 2 variants in this research had been: *stx*₂*OX3a/O111*; *stx*₂; *stx*₂/*stx*₂*O48*; *stx*₂*vha*; *stx*₂/*vha/OX393/vhb*; *stx*₂*vhb* and *stx*₂*OX3b*. Before STEC inoculations, the microbiological tests, conducted in pasteurized milk used as raw material, showed absence of total and thermotolerant coliforms. The milk used to prepare the cheese had been warm at 35°C and than added of STEC suspensions. The cheese was kept at 4°C and analyzed at 1st, 2nd, 4th, 6th and 10th days after its production. The viability of STEC strains in the cheese were test inoculated cheese samples in peptone and than in MacConkey Ágar, than the *stx*₂ gene detection was done with polimerase chain reaction (PCR) like China et al., (1996). 100% (32/32) of the cheese stored under refrigeration during 10 days had been the STEC strains viable. These results show that Minas cheese can transmit STEC. Many cases of infection for STEC had been attributed to the consumption of contaminated milk products. Outbreaks and sporadic cases of infections caused by consumption of STEC contaminated cheese had been told in many countries. There are not outbreak register in

Brazil. However the high frequency of these bacteria in the cattle reservoir and the viability in products as the Minas cheese widely consumed in Brazil, suggests an important risk to the public health. So the adoption of good manufacturing practices is important from milking to the cheese production process to reduce the contamination risks by non-O157 Shiga toxin-producing type 2 *Escherichia coli*.

VIABILIDADE DE *Escherichia coli* PRODUTORA DE TOXINA SHIGA DO TIPO 2 E SUAS VARIANTES, NÃO-O157 EM QUEIJO TIPO MINAS FRESCAL

RESUMO

A *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) é considerada um patógeno emergente capaz de causar diarreia, colite hemorrágica e Síndrome Hemolítica Urêmica em humanos. O principal reservatório de STEC são os bovinos. As STEC são transmitidas aos humanos principalmente através de alimentos contaminados, destacando-se aqueles de origem bovina como carne, leite e seus derivados. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de STEC possuidora do gene *stx₂* e suas variantes, sorotipos não-O157 em queijo Minas Frescal preparado com leite artificialmente contaminado com diferentes cepas previamente caracterizadas. As cepas possuíam os seguintes perfis de virulência: *stx₂*; *stx₂*, *saa*; *stx₂*, *hlyA* e *stx₂*, *hlyA*, *saa*. Os subtipos estudados nesta pesquisa foram: *stx₂OX3a/O111*; *stx₂*; *stx₂/stx₂O48*; *stx₂vha*; *stx₂/vha/OX393/vhb*; *stx₂vhb* e *stx₂OX3b*. Antes da inoculação de STEC, as análises microbiológicas realizadas no leite pasteurizado utilizado como matéria prima, revelaram ausência de coliformes totais e termotolerantes. As alíquotas de leite utilizadas no preparo do queijo foram aquecidas a 35°C e adicionadas de suspensões de STEC. Os queijos foram mantidos a 4°C e analisados no 1º, 2º, 4º, 6º e 10º dias de estocagem. Para verificar a viabilidade das cepas de STEC foi realizado pré-enriquecimento em água peptonada e posterior semeadura em ágar MacConkey. A detecção de STEC no queijo foi realizada utilizando a reação em cadeia da polimerase (PCR) segundo China et al., (1996). As cepas de STEC mantiveram-se viáveis em 100% (32/32) dos queijos mantidos sob refrigeração por até 10 dias. Os resultados mostram que o queijo Minas pode ser veículo de transmissão de STEC. Muitos casos de infecção por STEC foram atribuídos ao consumo de produtos lácteos contaminados. Surtos e casos esporádicos de infecções causadas após o consumo de queijo

contaminado com STEC foram relatados em diversos países. Até o momento não existem relatos de surtos causados por STEC no Brasil. Porém a frequência elevada dessas bactérias no reservatório bovino e a viabilidade em produtos como o queijo Minas amplamente consumido no Brasil, sugere risco importante à saúde pública. Portanto, recomenda-se a adoção de métodos higiênicos e sanitários desde a ordenha até o processo de produção do queijo para reduzir a possibilidade de contaminação com STEC.

Palavras-chave: PCR, Queijo minas, Segurança Alimentar, STEC.