

## Isolamento de toxina Shiga de *Escherichia coli*.

Lucas Marcelino dos Santos Souza (PIBITI/CNPq/UUEL),  
Gerson Nakazato, gersonnakazato@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Londrina – Departamento de Microbiologia

**Ciências biológicas, microbiologia, microbiologia aplicada.**

Palavras Chave: *Shiga*, *purificação*, *diagnóstico*

### Introdução

Infecções intestinais causadas por *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) podem levar a quadros de colite hemorrágica e síndrome hemolítica urêmica (SHU), a qual é caracterizada por falha renal aguda, podendo levar a morte do indivíduo acometido. O diagnóstico de STEC pode ser realizado através de reação em cadeia da polimerase (PCR), testes de citotoxicidade em células Vero, e através de ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA), sendo o último o mais rápido para detecção, já existindo kits comerciais. Entretanto, esses testes imunológicos são caros e às vezes não reconhecem alguns subtipos da toxina Shiga. Deste modo, o presente trabalho propõe fazer uma técnica para purificação da toxina Shiga, que poderá ser utilizada para produção de kits para diagnóstico da mesma, ou até mesmo para estudos dessa toxina.

### Problema

A toxina Shiga pode trazer diversos malefícios para o ser humano. Ela é produzida por um grupo de *Escherichia coli* conhecida como STEC e estão presentes em bovinos, cães, gatos e outros animais que estão diretamente ou indiretamente em contato com humanos.

No Brasil, já foram identificados STEC em diversas fontes animais e ambientais, como ovelhas, adubo orgânico, água, pássaros, bovinos e suínos. Apesar de STEC estar em diferentes fontes próximas ao homem, não há relatos de surtos de SHU ou diarreia causadas por STEC no Brasil, restringindo-se apenas a casos esporádicos. Portanto a produção do novo produto poderá ser utilizado para futuros estudos e desenvolvimentos de kits. A técnica ainda está em fase de teste.

### Solução e Benefícios

O diagnóstico para a toxina Shiga é extremamente caro e, portanto, quase sempre inviável de ser feito, com o trabalho de purificação será mais fácil desenvolver produtos mais viáveis para diagnóstico e também estudos dessa toxina.

Para o isolamento da toxina foi utilizado o HPLC (*High performance liquid chromatography*) onde foi utilizado uma coluna específica para o isolamento da toxina, no entanto o experimento não foi bem sucedido, pois a coluna não reteu a toxina. Posterior a isso foi feita a clonagem da subunidade b da toxina, utilizando vetor pet22b em *E. coli* D/h5-alfa. Com a aquisição de parte da

toxina purificada será possível a confecção de produtos que facilitem o diagnóstico de indivíduos que já entraram em contato com a toxina, além de facilitar novos isolamentos da mesma através da produção de anticorpos específicos para a toxina.

### Potencial de Mercado e Diferencial Competitivo

Com a purificação da toxina, o desenvolvimento de kits para sua identificação ou até mesmo purificação será mais fácil e barato. Já existem kits disponíveis para a detecção dessa toxina, no entanto esses kits são muito caros, com isso o objetivo futuro ao isolamento seria produzir kits com preços mais viáveis para isolamento da toxina e diagnósticos.

### Considerações Finais

A técnica empregada para isolamento é demorada e complicada. Foi feita a transformação da bactéria *E. coli* D/h5-alfa no qual foi introduzido um plasmídeo com a subunidade b da toxina. Portanto ainda se faz necessário a verificação da produção da toxina pela cepa transformada.

### Estágio de Desenvolvimento da Tecnologia

( x ) Laboratório ( ) Mercado  
( ) Scale-up (mudança de escala) ( ) Protótipo

### Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa, ao orientador Prof. Gerson Nakazato pela oportunidade de desenvolvimento deste projeto, ao doutorando Leonardo Pinto Medeiros pela ajuda e a toda equipe do laboratório de Bacteriologia Básica e Aplicada, da Universidade Estadual de Londrina.

### Contato Institucional

Universidade Estadual de Londrina  
Rodovia Celso Garcia Cid | Pr 445 Km 380 | Campus  
Universitário  
CEP 86057-970 | Londrina - PR