



Detecção de *Campylobacter* termotolerantes em carcaças de frango.

Ursula Nunes Rauecker^{1*} (PQ), Karyne de Oliveira Coelho¹ (PQ). rauecker@gmail.

¹ Docente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Goiás

O gênero *Campylobacter* destaca-se como um dos principais agentes responsáveis por Doenças Veiculadas por Alimentos, associando-se a quadros de campilobacteriose em seres humanos. Considerando a importância econômica e em saúde pública, evidencia-se a importância de identificar e caracterizar o agente, permitindo a determinação da prevalência deste patógeno na carne de frango. Este estudo teve como objetivo verificar a ocorrência de *Campylobacter* spp. e identificar as espécies termotolerantes em carcaças de frangos assim como avaliar o nível de suscetibilidade a antimicrobianos dos isolados. Em 120 carcaças de frango o agente foi identificado em 21,6%. A espécie com maior número de isolados foi *Campylobacter jejuni* (69,23%), seguida por *Campylobacter coli* (19,23%) e *Campylobacter lari* (11,54%). Para a resistência à antimicrobianos, foram testadas oito bases distintas, observando-se expressivo perfil de multirresistência entre os isolados. Pelos resultados obtidos conclui-se que *Campylobacter* termotolerantes estão presentes em carcaças de frango, cuja distribuição torna-se relevante do ponto de vista da exposição aos consumidores. A presença deste patógeno confere risco à saúde pública por ingestão de alimentos contaminados e associação com doenças gastrointestinais, manifestações extra intestinais e em casos mais graves, porém não raros, a síndromes reumatológicas, oftalmológicas e neurológicas.

Palavras-chave: Doenças veiculadas por alimentos. Enteropatógenos. Resistência.

Introdução

Existem descritas atualmente 34 espécies de *Campylobacter* (LPNSN, 2016). Estudos conduzidos em casos de campilobacteriose humana, apontam como agentes etiológicos da maioria das infecções as espécies termófilas, com temperatura ótima de crescimento entre 42°C e 43°C, destacando-se *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* (FITZGERALD & NACHAMKIN, 2015). Espécies como *C. concisus* (NIELSEN et al., 2016) e *C. fetus* (ALNIMR et al., 2014) são consideradas emergentes e também capazes de causar enfermidades em humanos.

As bactérias termotolerantes do gênero *Campylobacter* estão adaptadas ao trato urogenital e intestinal dos animais e sobrevive em diversos ambientes, como solo, água e instalações, onde sua presença indica contaminação fecal (GARGIULO



et al., 2011). Podem ser isolados de suínos, bovinos e ovinos, no entanto sua ocorrência é mais significativa nas aves, sendo um dos motivos pelos quais a carne de frango vem sendo responsabilizada como a principal fonte de *Campylobacter* para os consumidores (HUMPHREY et al., 2007).

O tratamento com antibióticos é necessário apenas em casos severos de campilobacteriose. Porém, outro aspecto preocupante associado às campilobacterioses é a manifestação de resistência a agentes antimicrobianos, especialmente aos antimicrobianos de escolha (macrolídeos e fluoroquinolonas) (OH et al., 2015). Os mecanismos de resistência à antimicrobianos de *Campylobacter* spp. são atribuídos a mutações em genes específicos, determinando resistência a quinolonas e macrolídeos (GRIGGS et al., 2005). Outro mecanismo conhecido é a ação das bombas de efluxo, que limitam o acesso dos antibióticos, prevenindo acúmulo intracelular necessário para letalidade (MOZINA, et al., 2011; LAPIERRE et al., 2016).

A importância do patógeno e seu “status” de emergente culminam na necessidade do desenvolvimento de estudos que forneçam informações sobre sua prevalência. Pretende-se gerar resultados que possam esclarecer a distribuição de *Campylobacter* spp. no Estado de Goiás, assim como avaliar a expressão de multirresistência à antimicrobianos empregados na terapêutica humana.

Material e Métodos

Foram colhidas e analisadas 120 amostras de carcaça de frango refrigerada, por fiscais estaduais agropecuários, de um abatedouro sob Inspeção Estadual (SIE) localizados no Estado de Goiás. Cada carcaça foi submetida a rinsagem com Caldo Peptonado Tamponado e após homogeneização, 2 mL da suspensão inicial foram adicionados a 18 mL de caldo Bolton suplementado com cefoperazona, trimetoprim, vancomicina, cicloheximida e sangue de cavalo hemolisado. A incubação foi feita em jaras de anaerobiose com geradores microaerofilia por 4h a 37°C, seguido de incubação por $42 \pm 1^\circ\text{C}$ por 40 a 48 horas.

Após o período de incubação em caldo Bolton, as amostras foram plaqueadas em ágar mCCDA e incubadas na temperatura de 41,5°C em microaerofilia por 40 a 48 horas, seguido de provas bioquímicas para confirmação da espécie.

Para o antibiograma foram adicionados discos com antimicrobianos sobre a superfície de cada placa de ágar sangue. Foi avaliada a sensibilidade “in vitro” dos isolados frente a gentamicina (10µg), azitromicina (15µg), clindamicina (30µg), eritromicina (15µg), ciprofloxacina (5µg), ácido nalidíxico (30µg), florfenicol (30µg) e tetraciclina (30µg) (CLSI, documento M45-A2). Após fixação, com o auxílio de pinça esterilizada, cada disco era fixado na superfície do ágar, com espaços satisfatórios entre si. Ao final cada placa, de cada amostra recebeu oito discos com bases distintas de antimicrobianos. Terminada essa etapa as placas foram incubadas a $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ / por 24 horas em ambiente microaerófilo para posterior leitura de resultados.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos demonstraram a presença de *Campylobacter* spp. nas amostras analisadas. De 120 carcaças, 22% (26/120) estavam contaminadas pelo gênero *Campylobacter* enquanto que 78% das amostras foram negativas, considerando a técnica bacteriológica convencional (Figura 01).

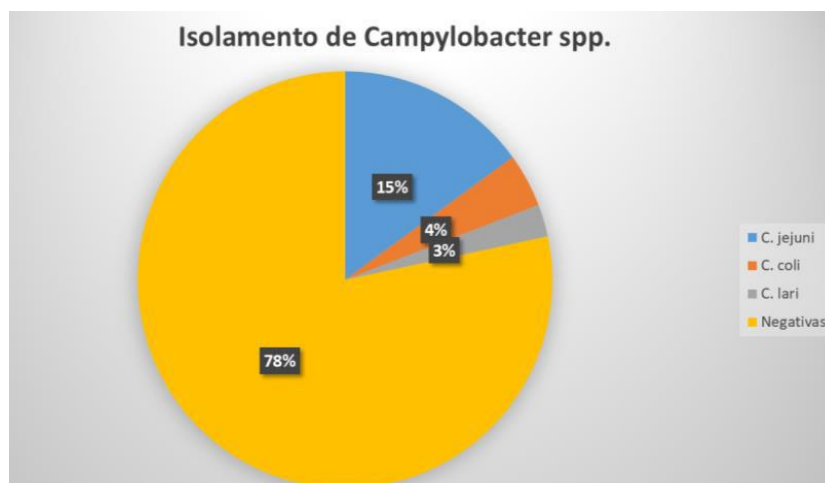


Figura 02- Frequência relativa de isolamento e identificação de espécies termotolerantes de *Campylobacter* em carcaças de frango.

As três espécies termotolerantes investigadas foram identificadas nas amostras de carcaças, indicando que o seu consumo pode constituir risco alimentar



à população, já que são importantes causadores de enterite bacteriana vinculada a surtos alimentares na Europa, conforme os dados publicados da European Food Safety Authority (EFSA, 2016).

A frequência relativa de isolamento de *Campylobacter* spp. no presente estudo, de 21,7% foi inferior à encontrada no município de Botucatu/SP em 2015, em estudo que analisou 60 amostras de frangos identificando o agente em 23 (38,3%) (SARMIENTO, 2016). No entanto, Lopes (2009) e Carvalho et al., (2010) encontraram 14,2% e 12,5% de positividade para o agente, respectivamente. Silva et al. (2014) determinaram ocorrências de 61% de *Campylobacter* spp. em amostras de fezes de frango, 20% de produtos de frango para consumo e 3% de fezes de humanos.

Entre as amostras positivas para o gênero, a espécie mais isolada foi *C. jejuni*, presente em 69,23% das amostras positivas, seguida de *C. coli*, identificada em 19,23% das amostras positivas e *C. lari*, identificada em 11,54% das amostras positivas.

Os isolados obtidos foram submetidos à testes de susceptibilidade a antimicrobianos. Com exceção do florfenicol, mais de 60% dos isolados apresentaram resistência às bases antimicrobianas testadas, destacando-se as tetraciclinas, gentamicinas e azitromicinas, às quais 100%, 88,46% e 88,46% dos isolados apresentaram resistência. Não foi observada resistência intermediária nos testes conduzidos, entretanto, 100% dos isolados apresentaram perfil de multirresistência a antibióticos, que é quando o mesmo isolado apresenta resistência simultânea a duas ou mais bases de antibióticos.

Considerações Finais

O estabelecimento de fiscalização, criação de legislação específica e monitoramento de produtos são necessidades atuais. Pela importância que vem recebendo em todo o mundo, principalmente nos países da União Europeia e Estados Unidos, que já possuem severos programas de monitoramento e controle específicos, e considerando a expressiva participação do frango brasileiro no concorrido mercado externo, é possível que *Campylobacter* seja uma barreira no comércio internacional.



Referências

CARVALHO, A. F.; SILVA, D. M.; AZEVEDO, S. S.; IATTI, R. M.; GENOVEZ, M. E.; SCARCELLI, E. Detecção dos genes da toxina citotetal distensiva em estirpes de *Campylobacter jejuni* isoladas de carcaças de frangos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 62, n. 5 p. 1054-1061, 2010.

European Food Safety Authority. European Centre for Disease Prevention and Control. *Campylobacter* and *Listeria* infections still rising in the EU - EFSA and ECDC, 2016.

GARGIULO A, SENSALÉ M, MARZOCCO L, FIORETTI A, MENNA LF, DIPINETO L. *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and cytolethal distending toxin (CDT) genes in common teals (*Anas crecca*). *Vet Microbiol.* 150(3-4):401-404, 2011.

GRIGGS, D. J., JOHNSON, M. M., FROST, J. A., HUMPHREY, T., JØRGENSEN, F., PIDDOCK, L. J. Incidence and mechanism of ciprofloxacin resistance in *Campylobacter* spp. isolated from commercial poultry flocks in the United Kingdom before, during, and after fluoroquinolone treatment. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. v. 49, p. 699-707, 2005.

HUMPHREY, T.; O'BRIEN, S.; MADSEN, M. *Campylobacters* as zoonotic pathogens: a food production perspective. *International Journal of Food Microbiology*, v. 117, p. 237–257, 2007.

LAPIERRE L., GATICA M. A., RIQUELME V., VERGARA C., YAÑEZ J. M., SAN MARTÍN B., et al. Characterization of antimicrobial susceptibility and its association with virulence genes related to adherence, invasion, and cytotoxicity in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from animals, meat, and humans. *Microb. Drug Resist.* 22, 432–444, 2016.

LIST OF PROKARYOTIC NAMES WITH STANDING IN NOMENCLATURE (LPNSN). Genus *Campylobacter* Disponível em: www.bacterio.net/campylobacter.html. Acesso: 30 mar.

LOPES, G. V. *Campylobacter* spp. no abate e varejo: ocorrência em carcaças de bovino para exportação e em cortes refrigerados de aves e bovino. 2009. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MODOLO, J. R.; AUGUSTO FILHO, O.; PINTO, J. P.; PADOVONI, C. R.; SIMÕES, L. B. CARVALHO, J. L. B. *Campylobacter* em carcaças resfriadas de frangos: análise espacial do fator de risco para saúde pública. *Hig. Aliment.*, v. 19, n. 135, p. 40-46, 2005

MOZINA, S. S.; KURINCIC, M.; KLANCNIK, A.; MAVRI, A. *Campylobacter* and its multi-resistance in the food chain. *Trends in Food Science & Technology*. v. 22, p. 91-98, 2011.

OH E.; MCMULLEN L.; JEON B. High prevalence of hyper-aerotolerant *Campylobacter jejuni* in retail poultry with potential implication in human infection. *Front. Microbiol.* 2015; 6:1263.

SILVA, D. T.; TEJADA, T. S.; CUNHA, C. C.; LOPES, N. A.; AGOSTINETTO, A.; COLLARES, T.; LEON, P. M.; TIMM, C. D. Ocorrência de *Campylobacter* em carne de frango, fezes de frango e humanas e pesquisa dos genes cdt. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 66, n. 1, p. 297-304, 2014.