



## CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES DE *Campylobacter* spp. TERMOTOLERANTES ISOLADAS DE CARÇAÇAS DE FRANGO

Ellen Karen B. **Roman**<sup>1</sup>; Sarah Jarschel de **Camargo**<sup>2</sup>; Maristela da Silva do **Nascimento**<sup>3</sup>;  
Neusely da **Silva**<sup>4</sup>; Valéria Christina Amstalden **Junqueira**<sup>5</sup>

Nº 15238

**RESUMO** - Campilobacteriose é uma das enfermidades transmitidas por alimentos (ETA) mais frequente no mundo, causada, sobretudo, por espécies termotolerantes da bactéria *Campylobacter* spp. e tem a carne de frango como principal veículo de transmissão. A ETA provocada por este micro-organismo inclui gastroenterite, septicemia, meningite, aborto e síndrome de Guillain-Barré. A Organização para a Alimentação e Agricultura e a Organização Mundial de Saúde (FAO/WHO) publicou em 2009 diretrizes para avaliação de risco de *Campylobacter* spp. termotolerantes em carne de frango. De acordo com um levantamento epidemiológico realizado na Europa em 2010, as campilobacterioses foram as zoonoses mais frequentes em humanos, sendo *Campylobacter* spp. o patógeno mais isolado de carne de frango crua. O gênero *Campylobacter* possui atualmente 22 espécies e dez subespécies, pertence à família *Campylobacteriaceae*, compreendendo célula não esporogênica, na forma de bastonete Gram negativo. As espécies de *Campylobacter* spp. associadas com a enfermidade constituem um grupo distinto no gênero, chamadas de termotolerantes, incluindo *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis*. No presente trabalho foram identificadas à nível de espécie as cepas termotolerantes de *Campylobacter* spp. isoladas de carcaças de frango congeladas, onde as mesmas foram previamente quantificadas. Além disso, a resistência aos antibióticos ácido nalidixico, cefalotina, eritromicina, tetraciclina e ciprofloxacina também foi determinada nessas cepas, contribuindo com informações para a elaboração de uma avaliação de risco que demonstre a realidade brasileira.

**Palavras-chaves:** Carne de frango; *Campylobacter*; termotolerante

<sup>1</sup>Autor: Bolsista CNPq (PIBIC), Graduanda em Ciências Biomédicas, VerisMetrocampIBTA, Campinas-SP; ellen\_karen@hotmail.com

<sup>2</sup>Colaborador: Bolsista CNPq (PIBIC), Graduanda em Ciências Biomédicas, VerisMetrocampIBTA, Campinas-SP;

<sup>3</sup>Colaborador: Professor, Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), UNICAMP, Campinas-SP;

<sup>4</sup>Colaborador: Pesquisador Científico do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas-SP;

<sup>5</sup>Orientador: Pesquisador Científico do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas-SP; vcaj@ital.sp.gov.br



**CHARACTERIZATION OF THERMOTOLERANT *Campylobacter* spp. SPECIES  
ISOLATED FROM CHICKEN CARCASSES**

**ABSTRACT-** *Campylobacteriosis* is one of the food transmitted disease (FTD) more frequent in the world, caused mainly by thermophilic species of the bacteria *Campylobacter* spp. and has chicken meat as the main vehicle transmission. FTD caused by this microorganism includes gastroenteritis, septicemia, meningitis, abortions and Guillain-Barre syndrome. The Food and Agriculture Organization and the World Health Organization (FAO/WHO) published in 2009 a guideline for risk assessment about thermotolerant *Campylobacter* spp. in chicken meat. According to an epidemiological survey carried out in Europe in 2010, campilobacterioses were the most common zoonoses in humans, and *Campylobacter* spp. the most frequently isolated pathogens in raw chicken meat. The genus *Campylobacter* has currently 22 species and ten subspecies, belongs to the family *Campylobacteriaceae* comprising non sporogenic cell, in the form of Gram-negative rod. The *Campylobacter* spp. species associated with the disease constitute a distinct group in the genus, called thermotolerant, including *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* and *C. upsaliensis*. In this paper was identified to specie level the thermophilic strains of *Campylobacter* spp. isolated from frozen chicken carcasses where they have been previously quantified. In addition, resistance to nalidixic acid antibiotics, erythromycin, cephalothin, tetracycline and ciprofloxacin was also determined in these strains, contributing with information for the preparation of a risk assessment demonstrating the Brazilian reality.

**Key-words:** Chicken meat, *Campylobacter*, thermotolerant.



## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Campylobacter* possui atualmente 22 espécies e dez subespécies (EUZÉBY, 2010). Pertence à família *Campylobacteriaceae*, incluindo bactérias não esporogênicas, na forma de bastonetes Gram negativos, curvos, espiralados, com arranjo em forma de “S” ou “asa de gaivota”. A maioria é móvel, apresentando motilidade característica em movimentos “saca-rolha”. São microaerófilos, crescem a 35-37 °C, porém a maioria não cresce a 25 °C. A temperatura ótima varia entre as espécies, na faixa de 30 a 42 °C (VANDAMME et al., 2005). As espécies de *Campylobacter* spp. associadas com enfermidades transmitidas por alimentos (ETA) constituem um grupo distinto no gênero, chamadas de termotolerantes, incluindo *C. jejuni* (*C. jejuni* subsp. *jejuni*), *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis*. Estas espécies apresentam temperatura ótima de crescimento na faixa dos 42-43 °C (PEARSON e HEALING, 1992) e de acordo com Stanley e Jones (2003) as mesmas não crescem abaixo de 30 °C. A faixa de crescimento de *C. jejuni* está entre 32 e 45 °C, não ocorre crescimento a 47 °C, sendo facilmente eliminado pela pasteurização, conforme a International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1996). Diferentemente, *C. jejuni* subsp. *doylei* não reduz nitrato e 50 % das cepas não crescem a 42 °C (HABIB; ZUTTER, UYTENDAELE, 2013). Segundo On (2005) este micro-organismo é isolado com pouca frequência, mas não de alimentos, não sendo conhecidos os seus reservatórios ambientais, como também um hospedeiro animal não foi identificado.

Conforme a Organização Mundial de Saúde (OMS) é atribuído a *C. jejuni* a causa mais frequente de campilobacteriose em humanos. A ETA provocada por este micro-organismo inclui gastroenterite, septicemia, meningite, aborto e síndrome de Guillain-Barré (SGB) (OMS, 2011). A SGB é classificada pela ICMSF (2002) no grupo de risco IB, que inclui as doenças “de severo perigo para população restrita, representando ameaça de morte, sequelas crônicas ou de longa duração”. A grande preocupação com as enfermidades causadas por *C. jejuni* veiculadas por alimentos foram relatadas em estudos realizados no Brasil (SCARCELLI et al., 2005; AQUINO et al., 2010; QUETZ et al., 2012).

De acordo com o Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2010) e Nayak (2012), dependendo do alimento envolvido, como produtos avícolas e dos grupos de risco, como crianças com idade inferior a cinco anos e pessoas entre 15 e 29 anos, principalmente com o sistema



## 9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

imunológico comprometido, uma dose infectante de 500 células pode ser suficiente para causar a infecção.

A principal rota de transmissão do patógeno é o consumo de alimentos contaminados, especialmente carne mal passada, sendo a carne de frango evidenciada como o principal fator de veiculação desta zoonose (FAO/WHO, 2009; CDC, 2010).

A FAO/WHO publicou em 2009 diretrizes para avaliação de risco de *Campylobacter* spp. termotolerantes em carne de frango (FAO/WHO, 2009). Esse trabalho identificou várias áreas onde os dados são insuficientes ou muito limitados, gerando incerteza na análise de risco. Dentre as lacunas estão as informações sobre a carga de *Campylobacter* neste produto nos países em desenvolvimento. Com isso, o ônus da doença e os custos das medidas de controle se tornam altamente significativos, além de provocar sérias consequências no comércio entre países, produtores e consumidores.

Os dados sobre a ocorrência de *Campylobacter* spp. termotolerantes em aves são reduzidos, principalmente no Brasil, onde há trabalhos na literatura relatando a presença deste patógeno, mas não o nível quantitativo de contaminação. Portanto, consideramos este estudo sobre identificação de espécies de *Campylobacter* spp. Termotolerantes previamente quantificadas em carcaças de frango congeladas, extremamente relevante e pioneiro, contribuindo com informações de suma importância para o setor produtivo, saúde pública e comércio internacional.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta e três cepas presuntivas de *Campylobacter* spp. isoladas de carcaças de frango congeladas foram caracterizadas como termotolerantes e identificadas em nível de espécie através do teste de catalase e dos testes miniaturizados [urease (URE), redução de nitrato (NIT), esterase (EST), hidrólise de hipurato (HIP), gama glutamil transferase (GGT), redução de cloreto de trifetil-tetrazolium (TTC), pirrolidonil arilamidase (PyrA), L-arginina arilamidase (ArgA), L-aspartato arilamidase (AspA), fosfatase alcalina (PAL), produção de H<sub>2</sub>S, assimilação de glicose (GLU), assimilação de succinato de sódio (SUT), inibição de crescimento pelo ácido nalidixico (NAL), inibição de crescimento pela cefazolina de sódio (CFZ), assimilação de acetato de sódio (ACE), assimilação de ácido propiônico (PROP), assimilação de ácido málico (MLT), assimilação de citrato de trisódio (CIT) e sensibilidade a eritromicina (ERO)], compreendidos pelo sistema de identificação API Campy (bioMérieux). A identificação foi obtida a partir de um perfil numérico referente a cada reagente, inserido no programa Apiweb. As cepas identificadas também foram submetidas ao teste



de sensibilidade aos antibióticos em discos, compreendendo: cefalotina (30 µg), ácido nalidíxico (30 µg), eritromicina (15 µg), tetraciclina (30 µg) e ciprofloxacina (15 µg), conforme descrito na ISO 10272-1:2006 (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2006).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as cepas de *Campylobacter* spp. termotolerantes confirmadas, um total de 33 cepas foram identificadas pelo sistema API Campy (Figura 1), com perfil pertencente a *C. jejuni* ssp. *jejuni*, conforme relacionado na Tabela 1. Destas, 23 cepas foram submetidas ao teste de suscetibilidade a antibióticos (Tabela 1, Figura 2) resultando em sensibilidade ao ácido nalidíxico (30 µg) em 100% das cepas testadas e à eritromicina (15 µg) em 91,3%. A resistência foi verificada à cefalotina (30 µg), à tetraciclina (30 µg) e ao ciprofloxacina (15 µg) em 60,9%, 65,2% e 78,3% das cepas testadas. De acordo com a ISO 10272-1 (2006), *C. jejuni* é sensível ao ácido nalidíxico, contudo um aumento à resistência a este antibiótico tem sido observada. Em relação a essa observação, verificamos que a zona de inibição ao disco de ácido nalidíxico tinha um diâmetro bem menor (aproximadamente 3 mm) em comparação à zona de inibição do disco de eritromicina (aproximadamente 9 mm), nas cepas sensíveis a esses antibióticos.



Figura 1. Identificação de *Campylobacter* spp. através do kit API Campy



Figura 2. Teste de suscetibilidade a antibióticos

#### 4. CONCLUSÃO

Foi verificada prevalência da espécie *Campylobacter jejuni* ssp *jejuni* dentre as cepas termotolerantes isoladas de amostras de carcaças de frango.

A contaminação com *C. jejuni* ssp *jejuni* verificada em carcaças de frango mantidas sob congelamento remete à necessidade do monitoramento constante desses produtos alimentícios.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Ào CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida e à FAPESP pelo auxílio financeiro concedido.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AQUINO, M. H. C.; FILGUEIRAS, A. L. L.; MATOS, R.; SANTOS, K. R. N.; FERREIRA, T.; FERREIRA, M. C. S.; TEIXEIRA, L. M.; TIBANA, A. Diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* genotypes from



**9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015**  
**10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo**

human and animal sources from Rio de Janeiro, Brazil. **Research in Veterinary Science**, Amsterdam, v. 88, n. 2, p. 214-217, 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC. National Center for Zoonotic, Vector-Borne, and Enteric Diseases. **Campylobacter**, Atlanta, 2010. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/>>. Acesso em: 6 dez. 2012.

EUZÉBY, J. P. *Campylobacter*. In: **Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire**, Toulouse, 2010. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/cc/campylobacter.html>>. Acesso em: 4. mar. 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION - FAO/WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Codex Alimentarius. **Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens**. Roma, 2009. 161 p. Disponível em: <[http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jemra/MRA\\_12.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jemra/MRA_12.pdf)>. Acesso em: 6 dez. 2012.

HABIB, I.; UYTENDAELE, M.; ZUTTER, L. *Campylobacter* species. In: **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. 4. ed. DOYLE, M. P.; BUCHANAN, R. L. (Eds.). Washington, D.C.: ASM Press, 2013. p. 263-286).

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS - ICMSF. **Microorganisms in foods 5. Microbiological specifications of food pathogens**. London: Blackie Academic & Professional, 1996. 524 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS - ICMSF. **Microorganisms in foods 7. Microbiological testing in food safety management**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002. 364 p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION - ISO 10272-1:2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs - **Horizontal method for the detection and enumeration of *Campylobacter* spp. - Part 1: Detection method**. 1. ed. Geneva, 2006. 16 p.

NAYAK, R. *Campylobacter jejuni*. In: Bad Bug Book - **Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins**. 2. ed. LAMPEL, K. A.; AL-KHALDI, S.; CAHILL, S. M. (Eds.). Silver Spring: FDA, 2012. p. 17-20. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodbornenessContaminants/UCM297627.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS. **Campylobacter**. Fact sheet nº. 255, Geneva, 2011. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/en/>>. Acesso em: 25 mar. 2013. ON, S. L. W. Taxonomy, phylogeny, and methods for the identification of *Campylobacter* species. In: **Campylobacter: Molecular and Cellular Biology**. (Eds.).

KETLEY, J. M.; KONKEL, M. E. Norfolk: Horizon Scientific Press, 2005. p. 13-42.

PEARSON, A. D.; HEALING, T. D. The surveillance and control of *Campylobacter* infection. **Communicable Disease Report (CDR Review)**, London, v. 6, n. 12, p. 133-139, 1992.

QUETZ, J. S.; LIMA, I. F. N.; HAVT, A.; PRATA, M. M. G. P.; CAVALCANTE, P. A.; MEDEIROS, P. H. Q. S.; CID, D. A. C.; MORAES, M. L.; REY, L. C.; SOARES, A. M.; MOTA, R. M. S.; WEIGL, B. H.; GUERRANT, R. L.; LIMA, A. A. M. *Campylobacter jejuni* infection and virulence associated genes in children with moderate to severe diarrhoea admitted to emergency rooms in Northeastern Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, London, v. 61, n. 4, p. 507-513, 2012.

SCARCELLI, E.; MIYASHIRO, S.; CAMPOS, F. R.; CASTRO, A. G. M.; TESSARI, E. N. C.; CARDOSO, A. L. S. P. Detecção de *Campylobacter jejuni* em carcaças e cortes de frangos, pela reação da polimerase em cadeia. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 129, p. 71-75, 2005.

STANLEY, K.; JONES, K. Cattle and sheep farms as reservoir of *Campylobacter*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 94, suplemento 1, p. 104-113, 2003.

VANDAMME, P.; DEWHIRST, F. E.; PASTER, B. J.; ON, S. L. W. Genus I. *Campylobacter*. In: BRENNER, D. J.; Krieg, N. R.; STALEY, J. T. (Eds.). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 2. ed. Vol. 2. New York: Springer, 2005. p. 1147-1160.



**Tabela 1.** Identificação e sensibilidade a antibióticos de cepas de *Campylobacter* spp. termotolerantes

Amostra	Colônia	Catalase	Perfil API Campy	Sensibilidade a antibióticos				
				NAL	ERI	CFL	TET	CIPRO
A11	c	-	6501144	S	S	R	R	R
	d	-	6511140	S	S	R	S	R
A16	k	+	6511544	S	R	S	R	R
	l	+	6511544	S	S	S	R	R
	m	+	6510144	S	S	R	R	R
	n	+	6511544	S	S	S	S	S
	o	+	6511144	S	S	S	S	S
A17	a	+	6501544	S	S	S	S	S
	b	+	6501144	S	R	S	S	S
	c	+	6501144	S	S	R	R	R
	d	+	6501144	S	S	R	R	R
	e	+	6511144	ND	ND	ND	ND	ND
A19	k	+	6511144	S	S	S	S	R
	l	+	6501104	ND	ND	ND	ND	ND
	m	+	6511144	S	S	S	S	R
	n	+	6501144	S	S	S	S	S
	o	+	6511544	ND	ND	ND	ND	ND
A20	c	+	6511144	ND	ND	ND	ND	ND
	e	+	6511144	ND	ND	ND	ND	ND
	l	+	6511144	ND	ND	ND	ND	ND
	m	+	6501144	ND	ND	ND	ND	ND
	o	+	6511144	ND	ND	ND	ND	ND
A26	k	+	6501144	ND	ND	ND	ND	ND
	l	+	6501144	ND	ND	ND	ND	ND
A28	k	+	6511044	S	S	R	R	R
	l	+	6710144	S	S	R	R	R
	m	+	6510144	S	S	R	R	R
	n	+	6510144	S	S	R	R	R
A29	k	+	6511044	S	S	R	R	R
	l	+	6511044	S	S	R	R	R
A30	b	+	6504044	S	S	R	R	R
	k	+	6500044	S	S	R	R	R
	l	+	6500044	S	S	R	R	R

NAL= ácido nalidíxico (30 µg), ERI= eritromicina (15 µg) CFL= cefalotina (30 µg), TET= tetraciclina (30 µg), CIPRO= ciprofloxacina (15 µg), S= Sensível, R= Resistente, ND= Não determinado