

# III SEMANA DO CONHECIMENTO

Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

**Deteção de *Campylobacter* termotolerantes por PCR em tempo real**

**AUTOR PRINCIPAL:** ENZO MISTURA

**CO-AUTORES:** Isabel Cristina Cisco, Denise Tedesco, Nathanyelle Soraya Martins de Aquino, Bruna Webber, Jonas Lucas Klein, Raíssa Canova, Max Weber, Rafael Frandoloso, Laura Beatriz Rodrigues, Fernando Pilotto, Luciana Ruschel dos Santos.

**ORIENTADOR:** Luciana Ruschel dos Santos

**UNIVERSIDADE:** Universidade de Passo Fundo

## INTRODUÇÃO:

A campilobacteriose é uma zoonose emergente de origem alimentar causada por bactérias do gênero *Campylobacter* spp., dentre as quais *C. jejuni* e *C. coli* são as principais espécies envolvidas em surtos (CDC, 2014). As aves e os produtos avícolas são identificados como fontes primárias de transmissão da doença. No entanto, seu monitoramento é comprometido devido aos métodos convencionais de diagnóstico serem demorados e pelo crescimento fastidioso desta bactéria. Logo, técnicas moleculares de detecção rápida e precisa tem se tornado uma ferramenta importante para a indústria. A PCR, por exemplo, possibilita um melhor resultado epidemiológico, com caracterização dos isolados, detecção e quantificação em menos tempo. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a presença de *Campylobacter* spp. em lotes de frangos de corte, desde a chegada aos abatedouros até os produtos finais, pelos métodos de microbiologia convencional e PCR em tempo real.

## DESENVOLVIMENTO:

Foram selecionados três abatedouros de frangos de corte da região norte do Estado do Rio Grande do Sul, sendo dois sob sistema de Inspeção Federal e um sob sistema de Inspeção Estadual. Os pontos de coleta selecionados foram: recepção das aves (swabs de cloaca e esponjas de superfície de gaiolas de transporte, antes e após a higienização), carcaças após resfriamento em chiller, carcaças resfriadas a 4°C; e carcaças congeladas a -12°C. Cada um dos pontos foi coletado em triplicata, totalizando 108 amostras. Para a detecção de *Campylobacter* spp. por Microbiologia Convencional (MC) foi utilizada metodologia adaptada da ISO 10272-1 (2006), sendo as colônias compatíveis confirmadas por multiplex PCR (Perdoncini et al., 2015). Para a detecção de *Campylobacter* spp. por PCR em tempo real utilizou-se o kit comercial denominado mericon DNA Bacteria Kit (Qiagen®) para a extração de DNA e o mericon

# III SEMANA DO CONHECIMENTO

30 DE OUTUBRO  
2016

Campylobacter triple kit (Qiagen<sup>®</sup>) para a amplificação e detecção de *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari* em alimentos. Os resultados da pesquisa de *Campylobacter* spp. por microbiologia convencional (Figura 1) revelaram que a maior contaminação ocorreu nos produtos finais (carcaças resfriadas e congeladas), identificando-o em 86% das amostras avaliadas, sendo 89,9% em carcaças resfriadas e 83,3% em carcaças congeladas, independentemente do abatedouro avaliado. Estes dados corroboram a característica de sobrevivência da bactéria em ambientes úmidos e mesmo em temperaturas consideradas limitantes para o crescimento bacteriano, como 4°C e -120°C, utilizadas rotineiramente como um dos métodos de conservação de alimentos via cadeia do frio. Os resultados da identificação das cepas termofílicas, *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari* por PCR em tempo real estão apresentados na Tabela 1. Apenas os abatedouros A e C mostraram positividade para estas bactérias. No abatedouro A, *Campylobacter* estava presente em 100% das aves amostradas na chegada ao abatedouro, nas duas coletas, e também, se manteve presente nas gaiolas após a higienização, evidenciando a ineficácia dos sanitizantes e do processo de lavagem utilizados por este estabelecimento. No abatedouro C, além de estarem presentes nos swabs de cloaca, na coleta 2, estavam em 100% das gaiolas após higienização. Este resultado corrobora a hipótese de que as gaiolas de transporte são potencial fonte de contaminação cruzada e disseminação para os lotes. A contaminação cruzada é fonte importante de infecção, a positividade destes patógenos enunciada neste e em outros trabalhos é alarmante, já que a dose infectante desta bactéria é baixa (WINGSTRAND et al., 2006).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS:

A alta prevalência de cepas termotolerantes de *Campylobacter* nas amostras avaliadas indica que os produtos avícolas apresentam grande risco como fonte de transmissão deste patógeno para humanos. A permanência deste microrganismo após a higienização das gaiolas sugere que o processo deve ser reavaliado, a fim de evitar que o transporte seja fonte de contaminação para as aves.

## REFERÊNCIAS:

Centers for Disease Control and Prevention. Incidence and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2006–2013. *Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2014.

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. International Standard -ISO. Geneva 20, Switzerland; p. 1–16, 2006.

PERDONCINI, G.; et al. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* on broiler carcasses after chilling in southern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, p. 349-352, 2015.

WINGSTRAND, A.; et al. Fresh chicken as main risk factor for campylobacteriosis, Denmark. *Emerg Infect Dis*, p. 280-5, 2006.

# III SEMANA DO CONHECIMENTO

ANEXOS:

Figura 1- Detecção de *Campylobacter* spp. e identificação de *C. coli* e *C. jejuni* por Multiplex-PCR em amostras oriundas de abatedouros avícolas.

Universidade e comunidade em transformação

3 a 7 DE OUTUBRO DE 2016

PONTOS AMOSTRADOS	ABATEDOURO A						ABATEDOURO B						ABATEDOURO C					
	COLETA 1			COLETA 2			COLETA 1			COLETA 2			COLETA 1			COLETA 2		
	C. spp.	C. j.	C. c.	C. spp.	C. j.	C. c.	C. spp.	C. j.	C. c.	C. spp.	C. j.	C. c.	C. spp.	C. j.	C. c.	C. spp.	C. j.	C. c.
Swabs de cloaca	0%	0%	0%	33%	0%	0%	66%	0%	0%	33%	0%	0%	33%	0%	0%	100%	0%	66%
Gaiolas AH	33%	0%	0%	66%	0%	0%	33%	0%	0%	33%	0%	0%	33%	0%	0%	100%	33%	100%
Gaiolas DH	66%	0%	0%	66%	0%	0%	100%	66%	33%	100%	100%	33%	66%	0%	0%	100%	33%	100%
Carcaças depois chiller	33%	0%	0%	33%	0%	0%	66%	33%	0%	100%	0%	100%	66%	0%	0%	100%	0%	100%
Carcaças a 4°C	33%	0%	0%	100%	66%	0%	100%	100%	0%	100%	100%	100%	100%	66%	0%	100%	0%	100%
Carcaças a -12°C	33%	0%	0%	100%	0%	0%	100%	33%	0%	100%	100%	100%	66%	66%	33%	100%	0%	100%
<b>Total</b>	<b>33%</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>	<b>66%</b>	<b>11%</b>	<b>0%</b>	<b>78%</b>	<b>39%</b>	<b>5,5%</b>	<b>78%</b>	<b>50%</b>	<b>55,5%</b>	<b>61%</b>	<b>22%</b>	<b>5,5%</b>	<b>100%</b>	<b>11%</b>	<b>94%</b>

legenda: C. spp = *Campylobacter* spp.; C. c. = *Campylobacter coli*; C. j. = *Campylobacter jejuni*; AH = antes da higienização; DA = depois da higienização

Tabela 1: *Campylobacter jejuni*, *C. coli* e *C. lari* identificados por PCR em tempo real em amostras oriundas de abatedouros avícolas.

Pontos de Amostragem	Abatedouros e coletas					
	A		B		C	
	C	C	C	C	C	C
	coleta 1	coleta 2	coleta 1	coleta 2	coleta 1	coleta 2
Swabs de cloaca	1	1	0	0	3	1
	00%	00%	%	%	3%	00%
Gaiola antes da higienização	0	6	0	0	0	1
	%	6%	%	%	%	00%
Gaiola depois da higienização	1	1	0	0	1	1
	00%	00%	%	%	00%	00%
Carcaças depois de chiller	0	3	0	0	3	3
	%	3%	%	%	3%	3%
Carcaças resfriadas a -4°C	3	0	0	0	0	3
	3%	%	%	%	%	3%
Carcaças congeladas a -12°C	3	0	0	0	3	0
	3%	%	%	%	3%	%
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>6</b>
	<b>4%</b>	<b>0%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>3%</b>	<b>1%</b>