

## ***Campylobacter* TERMÓFILOS EM CARNE E VÍSCERAS DE FRANGO RESFRIADAS COMERCIALIZADAS NO SUL DO RIO GRANDE DO SUL**

**JOLINE DALLA VECCHIA<sup>1</sup>; JANAÍNA SCHNEIDER E SILVA<sup>2</sup>; CRISTIANE VANIEL<sup>3</sup>;  
 SIMONE RAUBER WÜRFEL<sup>4</sup>; ELIEZER AVILA GANDRA<sup>5</sup>; WLADIMIR PADILHA  
 DA SILVA<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – kihdallavecchia@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – janaina.255@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – cristianevaniel@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – simone\_rauber@hotmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – wladimir.padilha2011@gmail.com

### **1. INTRODUÇÃO**

Bactérias do gênero *Campylobacter* estão entre as principais causas de gastroenterite de origem alimentar em humanos, superando a incidência daquelas causadas por *Salmonella* spp. (WHO, 2012). Segundo a *European Food Safety Authority* (EFSA, 2013), a campilobacteriose é a doença transmitida por alimentos de maior ocorrência na União Europeia desde o ano 2005. As espécies termófilas, *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari*, são as de maior importância em saúde pública, sendo *C. jejuni* a mais envolvida nas infecções humanas e a mais prevalente em aves (HUMPHREY et al., 2007).

O principal reservatório desses micro-organismos é o trato digestório de animais de sangue quente, principalmente dos animais de produção, como as aves (WHO, 2012), que são portadoras assintomáticas de *C. jejuni*. Assim, a carne pode ser contaminada durante o processo de abate pela transferência de material fecal para as carcaças e vísceras, especialmente o fígado (CDC, 2013).

Estima-se que menos de 500 células bacterianas são suficientes para causar a doença em humanos, a qual se caracteriza por dores abdominais, febre, diarreia, náusea e/ou vômito (CDC, 2013). A principal fonte de infecção humana é a carne de frango contaminada, sendo a maioria dos casos de campilobacteriose relacionada à ingestão desse produto cru ou mal cozido, ou ainda pela contaminação cruzada durante o preparo dos alimentos (EFSA; ECDC, 2013).

As espécies termófilas apresentam elevada capacidade de sobrevivência na pele dos frangos, fato que justifica as altas taxas de incidência nos seus produtos e derivados (DAVIS; CONNER, 2007). Apesar disso, a RDC Nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que determina os padrões microbiológicos para alimentos no Brasil, não contempla *Campylobacter* spp. como critério microbiológico (BRASIL, 2001).

Frente ao exposto, o objetivo desse estudo foi avaliar a ocorrência de *Campylobacter* termófilos em carne e vísceras de frango resfriadas comercializadas no sul do Rio Grande do Sul.

### **2. METODOLOGIA**

Foram coletadas 12 amostras de carne e vísceras de frango resfriadas provenientes do comércio varejista do sul do Rio Grande do Sul, sendo 2 frangos inteiros, 2 peitos, 2 amostras de coxa, 2 amostras de sobrecoxa, 2 amostras de coxinha da asa e 2 fígados. O isolamento e a identificação fenotípica seguiram a

metodologia preconizada pela *International Standard* (ISO 10272-1, 2006), com adaptações. Para o controle das análises, foram utilizadas as seguintes linhagens bacterianas: *C. jejuni* ATCC 33291, *C. lari* NCTC 11352, *C. coli* CAMPY 1003 e *C. coli* CAMPY 1008.

Para a confirmação molecular dos isolados em nível de gênero, foi realizada extração de DNA conforme descrito por SAMBROOK; RUSSEL (2001), com adaptações, seguida da *Polymerase Chain Reaction* (PCR), realizada utilizando *primers* e condições previamente descritos (JOSEFSEN et al., 2004), obtendo-se um produto de amplificação de 287 pares de bases (pb), proveniente da porção 16S do rRNA, comum às espécies termófilas de *Campylobacter*. Para a diferenciação das espécies, foi seguido um protocolo de Multiplex PCR, proposto por MACKIW et al. (2012), gerando um *amplicom* de 773 pb para *C. jejuni* e 364 pb para *C. coli*. Os *primers* utilizados nas reações estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. *Primers* utilizados para confirmação de gênero e diferenciação de espécies de *Campylobacter* termófilos.

<i>Primer</i>	Alvo	Sequência do <i>primer</i> (5' → 3')	Produto (pb)	Referência
OT1559	16S rRNA	(F) CTG CTT AAC ACA AGT TGA GTA GG	287 pb	Josefsen et al. (2004)
18-1		(R) TTC CTT AGG TAC CGT CAG AA		
Col1	<i>C. coli</i>	(F) AGG CAA GGG AGC CTT TAA TC	364 pb	Mackiw et al. (2012)
Col2		(R) TAT CCC TAT CTA CAA ATT CGC		
Jun1	<i>C. jejuni</i>	(F) CAT CTT CCC TAG TCA AGC CT	773 pb	Mackiw et al. (2012)
Jun2		(R) AAG ATA TGG CAC TAG CAA GAC		

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

*Campylobacter* termófilos foram isolados em 100% das amostras analisadas (Figura 1), sendo identificados como *C. jejuni* e *C. coli* em 12 (100%) e 2 (16,7%) amostras, respectivamente. Resultado semelhante foi encontrado por SIMÕES (2010) que, ao analisar 21 peitos de frangos resfriados e embalados, isolou *Campylobacter* spp. em 100% das amostras, porém, identificou *C. jejuni* em 47% delas. CARVALHO; CORTEZ (2003) isolaram *C. jejuni* de 60% (3/5), tanto dos fígados como das coxas/sobrecoxas avaliados.

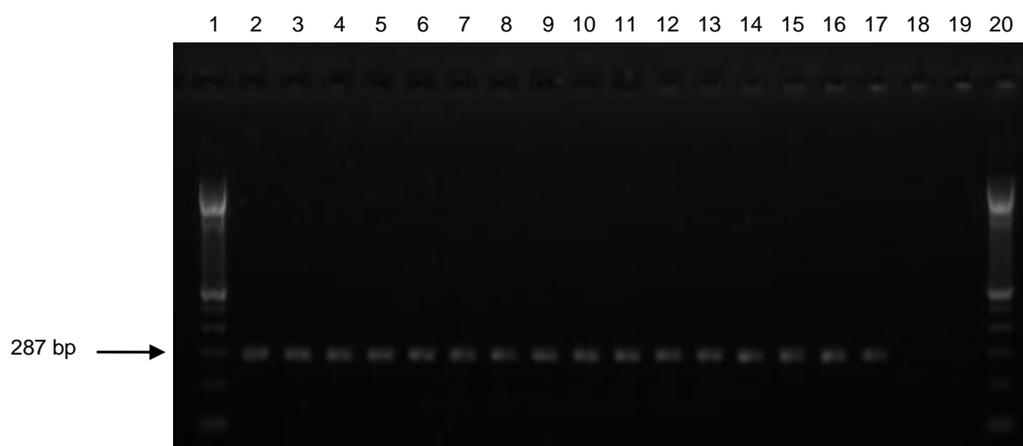


Figura 1. Detecção do produto de 287 pb do 16S rRNA de *Campylobacter* termófilos. 1 e 20: marcador de tamanho molecular (*Ladder* 100 pb); 2-13: amostras de carne e vísceras de frango resfriados; 14: controle positivo (*C. jejuni* ATCC 33291); 15: controle positivo (*C. lari* NCTC 11352); 16: controle positivo (*C. coli* CAMPY 1003); 17: controle positivo (*C. coli* CAMPY 1008); 18: controle negativo (*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028); 17: controle da reação (sem DNA).

Com relação às carcaças resfriadas, existem diversos estudos com resultados divergentes. MOURA (2010) pesquisou *Campylobacter* spp. em 101 carcaças e isolou *C. jejuni* em 17,82% (18/101). Já MEDEIROS (2011), encontrou *Campylobacter* spp. em 70% (21/30) das carcaças avaliadas, sendo 85,71% (18/21) dos isolados identificados como *C. jejuni*.

Em estudo realizado em um abatedouro de frangos no Rio Grande do Sul, onde foi avaliada a ocorrência desses micro-organismos em carcaças logo após a saída do *chiller*, *Campylobacter* spp. foi isolado em 98,3% (37/38) dos produtos (KUANA et al., 2008).

Na Inglaterra, de 241 amostras de carne de frango amostradas do varejo, *Campylobacter* foi isolada em 83% (199/241) (JORGENSEN et al., 2002).

A alta ocorrência de *C. jejuni* apresentada nesse trabalho demonstra a necessidade da adoção de medidas de prevenção e controle durante a produção, o abate e o processamento de frangos, a exemplo do Programa de Redução de Patógenos que existe para *Salmonella* spp. (BRASIL, 2003). Além disso, alerta-se para o cuidado na manipulação desses produtos, evitando o consumo inadequado e/ou a contaminação cruzada durante o preparo dos alimentos.

#### 4. CONCLUSÕES

O resultado encontrado nesse estudo denota a importância do controle de *Campylobacter* termófilos ao longo de toda a cadeia produtiva de frangos, a fim de prevenir a oferta e, conseqüentemente, o consumo de alimentos que ofereçam riscos à saúde da população.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio financeiro. À Capes, CNPq e FAPERGS pela concessão de bolsas de estudo. À Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) pela cessão das linhagens bacterianas utilizadas como controle. (Processo nº 483807/2012-5).

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 70, de 10 de outubro de 2003. **Programa de Redução de Patógenos Monitoramento Microbiológico – Controle de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos e perus.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 out. 2003. Seção 1, p. 9.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001. n. 7-E, p. 45 - 53.
- CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A. L. L. Contaminação de produtos avícolas industrialização e seus derivados por *Campylobacter jejuni* e *Salmonella* spp.. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, SP, v.19, n.1, p.57-62, 2003.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC), 2013. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. **Campylobacter: General Information**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/> Acesso em: 14 set. 2013.

DAVIS, M.A.; CONNER, D.E. Survival of *Campylobacter jejuni* on poultry skin and meat at varying temperatures. **Poultry Science**, Texas, v.86, n.4, p.765–767, 2007.

European Food Safety Authority (EFSA), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. **EFSA Journal** **2013**; 11(4):3129. 250 p., 2013

HUMPHREY, T. J.; O'BRIEN, S.; MADSEN, M. Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v.117, n.3, p.237-257, 2007.

INTERNATIONAL STANDARD – ISO 10272-1, 2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. – Part 1: Detection method. 16 p.

JORGENSEN, F.; BAILEY, R.; WILLIAMS, S.; HENDERSON, P.; WAREING, D. R. A.; BOLTON, F. J.; FROST, J.A.; WARD, L.; HUMPHREY, T. J. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. **Journal of Food Protection**, v.76, n.1/2, p.151-164, 2002.

JOSEFSEN, M. H.; LÜBECK, P.S.; HANSEN, F.; HOORFAR, J. Towards an international standard for PCR-based detection of foodborne thermotolerant campylobacters: interaction of enrichment media and pre-PCR treatment on carcass rinse samples. **Journal of Microbiological Methods**, v.58, p.39-48, 2004.

KUANA, S. L.; SANTOS, L. R.; BEATRIZ, L.; SALLE, C. T. P.; SOUZA MORAES, H. L.; NASCIMENTO, V. P. Ocorrência de *Campylobacter* em lotes de frangos de corte e nas carcaças correspondentes. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.480-486, 2008.

MACKIW, E.; KORSKAK, D.; RZEWUSKA, K.; TOMCZUK, K.; ROZYNEK, E. Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food in Poland. **Food Control**, v.23, n.2, p.297-301, 2012.

MEDEIROS, V. M. **Isolamento e Identificação Fenotípica e Molecular das Espécies Termofílicas de *Campylobacter* a partir de Frango Resfriado**. 2011. 78p. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária. – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro.

MOURA, H. M. de. **Isolamento e análise de resistência a antimicrobianos de cepas de *Campylobacter jejuni* em amostras de carne de aves resfriadas comercializadas no Distrito Federal**. 2010. 63p. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) – Programa de Saúde Animal, Universidade de Brasília.

SAMBROOK, J.; RUSSEL. D. W. **Molecular cloning: a Laboratory manual**, 3.ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York: CSHL, 2001.

SIMÕES, A. M. M. **Avaliação da contaminação por *Campylobacter* spp. em peitos de frango embalados em atmosfera protectora e em superfícies do ambiente fabril**. 2010. 85f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) – Universidade Técnica de Lisboa.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. **The global view of campylobacteriosis: report of an expert consultation**, 2012.