

## PESQUISA DE *Campylobacter* TERMÓFILOS EM LINHA DE PRODUÇÃO DE CARNE DE FRANGO NO SUL DO BRASIL

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

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – janaina.255@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – cristianevaniel@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – kihdallavecchia@gmail.com

<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

O Brasil mantém, desde 2004, a posição de maior exportador mundial de carne de frango, tendo atingido a marca de 3,9 milhões de toneladas embarcadas para mais de 150 países em 2011. Com esse desempenho, a carne de frango brasileira aumentou ainda mais sua presença na mesa dos consumidores no Brasil e no mundo (UBABEF, 2013).

Em razão desse aumento no consumo em todo o mundo, medidas profiláticas rigorosas para as etapas de abate, processamento e comercialização da carne de frango foram implantadas, demonstrando a importância sanitária atribuída aos enteropatógenos de origem alimentar, como *Campylobacter* spp. (LAURIA-FILGUEIRAS, 2012).

Bactérias do gênero *Campylobacter* são amplamente distribuídas na natureza e a maioria está apta a colonizar o trato gastrointestinal de animais de sangue quente (NACHAMKIN, 2001). Dentre as 24 espécies descritas, *C. jejuni* é a que recebe maior atenção por estar envolvida em cerca de 90% dos casos de enterite por campilobacteriose em humanos (LAURIA-FILGUEIRAS, 2012).

As aves, especialmente os frangos, são consideradas reservatórios primários de *C. jejuni* (PARK, 2002; FORSYTHE, 2002). Na maioria das aves, estes micro-organismos podem ser detectados em quantidades elevadas, razão pela qual são incriminados como fonte de infecção, adquirindo importância na sua disseminação ambiental (LAURIA-FILGUEIRAS, 2012).

A campilobacteriose em humanos é causada, principalmente, pelo consumo de carne de frango crua ou mal cozida, bem como pela contaminação cruzada durante o preparo de alimentos consumidos *in natura* (CDC, 2013).

A contaminação da carne de frango pode ocorrer durante as etapas de processamento no abatedouro, onde existem operações consideradas de alto risco para disseminação do micro-organismo, como a escalda, evisceração, lavagem, depenagem e resfriamento (FAO/WHO, 2009).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência de *Campylobacter* termofilos em uma linha de produção de carne de frango no sul do Brasil.

### 2. METODOLOGIA

A amostragem foi realizada em um abatedouro de frangos localizado no sul do Brasil. Foram amostrados dois lotes de frangos de corte, sendo avaliados três frangos por lote e suas respectivas carcaças em seis pontos da linha de abate.

Além disso, foram coletadas amostras do ambiente de processamento, perfazendo um total de cinquenta amostras.

A coleta nos frangos foi realizada através de *swab* cloacal no momento da pendura. Em seguida, as respectivas carcaças foram rastreadas e amostradas por meio de rinsagem durante as seguintes etapas: após a sangria, após a escalda, após a depenagem, após a evisceração e após o *chiller*.

As amostras do ambiente foram coletadas antes e após o primeiro turno de abate, sendo elas: parapeito de pendura dos frangos, água da escalda, dedos da depenadeira, equipamento de extração da cloaca, equipamento de sucção dos pulmões, água do pré-*chiller* e água do *chiller*.

O material coletado foi armazenado sob refrigeração e encaminhado ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos/DCTA/FAEM/UFPel, onde foram realizadas as análises microbiológicas. Para controle das análises foram utilizadas as seguintes linhagens: *C. jejuni* ATCC 33291, *C. lari* NCTC 11352 e *C. coli* CAMPY 1003.

O isolamento e a identificação fenotípica foram realizados de acordo com o *International Organization for Standardization* (ISO 10272-1, 2006), com adaptações, utilizando-se etapas de enriquecimento em caldo por 24 e 48 horas, com posterior inoculação em meios seletivos. Após 48 horas de enriquecimento, foi retirada uma alíquota para posterior realização da *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

A extração de DNA foi realizada conforme descrito por SAMBROOK; RUSSEL (2001), com modificações. Em seguida, o DNA foi quantificado através do equipamento NanoVue™ Plus e foi realizada a PCR, utilizando *primers* e condições previamente descritos (JOSEFSEN et al., 2004).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve presença de *Campylobacter* termófilos nas amostras analisadas. Entretanto, observou-se crescimento abundante de micro-organismos contaminantes.

Na PCR do caldo de enriquecimento, nenhuma amostra apresentou positividade para *Campylobacter* termófilos, estando de acordo com o resultado obtido no isolamento. No entanto, através da quantificação foi detectada uma grande quantidade de DNA nas amostras, portanto, haviam outros micro-organismos presentes, que podem ter inibido a multiplicação da bactéria alvo durante o período de enriquecimento.

Resultado semelhante foi obtido em estudo realizado em Santa Catarina, onde nenhuma amostra de carcaça de frango coletada no abatedouro avaliado apresentou contaminação por *Campylobacter* termófilos e somente 9,4% das amostras de *swab* cloacal foram positivas para o micro-organismo. Porém, naquele estudo, através da PCR do caldo de enriquecimento, a bactéria foi detectada em 100% das carcaças e 90,6% das amostras de *swab* cloacal, indicando que o patógeno estava presente, mas não pode ser isolado devido ao crescimento abundante de micro-organismos competidores (ALVES et al., 2012).

De acordo com o *Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food* (2010), existem três fatores que dificultam o crescimento, e consequente identificação, de *Campylobacter*: a concentração elevada de micro-organismos competidores, o baixo número do micro-organismo alvo, e células injuriadas pelas condições de processamento e/ou armazenamento.

Em trabalho realizado em um abatedouro de aves no Rio de Janeiro, onde foram analisadas 70 amostras de *swab* cloacal e 70 amostras de carcaças, antes

e após o resfriamento, *Campylobacter* termófilos foram isolados em 70% dos swabs cloacais analisados, 40% das carcaças antes do resfriamento e 27% após o resfriamento, demonstrando que essas bactérias são capazes de sobreviver ao processo de resfriamento e se manter viáveis (CARUSO, 2010).

A utilização do enriquecimento em caldo é recomendada para detectar números baixos da bactéria em produtos alimentares, promovendo sua multiplicação e a inibição da microbiota competidora pela adição de antimicrobianos (ISO, 2006). Entretanto, o crescimento de micro-organismos contaminantes resistentes aos antimicrobianos utilizados tem sido descrita, o que prejudica a detecção de *Campylobacter* nas amostras, podendo levar a um resultado falso-negativo (ALVES et al., 2012).

Embora, como discutido acima, a microbiota autóctone possa levar a uma diminuição ou paralisação da multiplicação de *Campylobacter* termófilos, o que dificultaria sua identificação pelos métodos microbiológicos tradicionais, isto não ocorreu neste estudo, haja vista que mesmo por PCR do caldo de enriquecimento, não foi possível se identificar esses micro-organismos nas amostras avaliadas.

#### 4. CONCLUSÕES

Não há presença de *Campylobacter* termófilos na linha de abate do abatedouro avaliado, nem nos lotes de aves que foram abatidos na data da amostragem.

#### 5. AGRADECIMENTOS

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

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADVISORY COMMITTEE ON THE MICROBIOLOGICAL SAFETY OF FOOD (ACMSF), 2010. The isolation of *Campylobacter* spp. from food and environmental samples. Surveillance Working Group. Discussion Paper ACM/994.

ALVES, L. VOSS-RECH, D.; SILVA, V.S.; POZZA, J.; GASPARETTO, A.; VAZ, C.S.L. Study of Thermophilic *Campylobacter* Contamination of a Broiler Batch at Slaughter. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 40, n. 3, p. 1-8, 2012.

CARUSO, L. A.I. ***Campylobacter* spp. na linha de produção da carne de aves**. 2010. Dissertação. (Mestre em ciência de alimentos). Programa de pós-graduação em ciência e tecnologia de alimentos. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2013. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. *Campylobacter*. General Information. Acessado em: 7 out. 2013 Disponível em: <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter>

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). ***Salmonella and Campylobacter* in**

**chicken meat : meeting report. Microbiological risk assessment series Nº 19.**  
FAO/WHO, Rome, Geneva, 2009.

FORSYTHE, S. J. - **Microbiologia da Segurança Alimentar** – Porto Alegre:  
ARTMED, 2002.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO).  
**Microbiology of food and animal feeding stuffs** – Horizontal method for  
detection and enumeration of thermotolerant *Campylobacter* spp. – Part 1:  
detection method. (ISO 10272-1:2006 [E]). Geneva: ISO, 2006. 16 p.

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.

LAURIA-FILGUEIRAS, A. L. Aspectos gerais de *Campylobacter* na segurança dos  
alimentos. In: **Workshop de Diagnóstico Microbiológico de *Campylobacter*  
Aplicado à Avicultura**, Concórdia, 2012, Anais... Editora - Concórdia: Embrapa  
Suínos e Aves, 2012. p 11-14.

NACHAMKIN, I. *Campylobacter jejuni*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.;  
MONTVILLE, T.J. **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers**. Washington,  
D.C: ASM Press. chap. 9, p.179-192, 2001.

PARK, S.F. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their  
role as foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**. v.  
74, p. 177-188, 2002.

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

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA (UBABEF), Acessado em: 15 set. 2013.  
Online. Disponível em: <http://www.ubabef.com.br>.