

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE *CAMPYLOBACTER* EM FRANGOS DE CORTE

A pesquisa com Campylobacter gerada nos últimos anos por diversos grupos no Brasil tem permitido avançar no conhecimento da situação de campo que, somada a estudos contemplando epidemiologia, imunidade e rastreabilidade, deve produzir dados que venham a subsidiar intervenções práticas e efetivas para a avicultura nacional.

Por | Clarissa Silveira Luiz Vaz¹; Daiane Voss-Rech¹; Jenifer dos Santos Pozza²; Simone de Fatima Rauber Würfel³; Gláucio Luís Mata Mattos¹; Fernanda Bottaro de Oliveira Santos¹ e Virgínia Santiago Silva¹

Campylobacter (*C.*) é uma bactéria que coloniza o trato intestinal de animais de produção e que pode contaminar alimentos, cujo consumo é uma importante causa de diarreia em humanos. Por esse motivo, esse tem sido um tema central de discussão na produção animal. As espécies termófilas de *Campylobacter*, principalmente *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari*, são as implicadas na segurança dos alimentos e crescem em temperaturas entre 37°C e 42°C, faixa próxima à temperatura corporal aviária e que favorece a multiplicação da bactéria no ceco das aves.

De fato, mesmo lotes de frangos de corte provenientes de granjas com bons programas de biossegurança apresentam alta prevalência de *Campylobacter* termófilos no período pré-abate. A colonização intestinal por *Campylobacter* não resulta em doença clínica ou subclínica nos frangos de corte; porém a presença da bactéria no ceco, penas ou pele é fonte de contaminação cruzada de carcaças durante o abate.

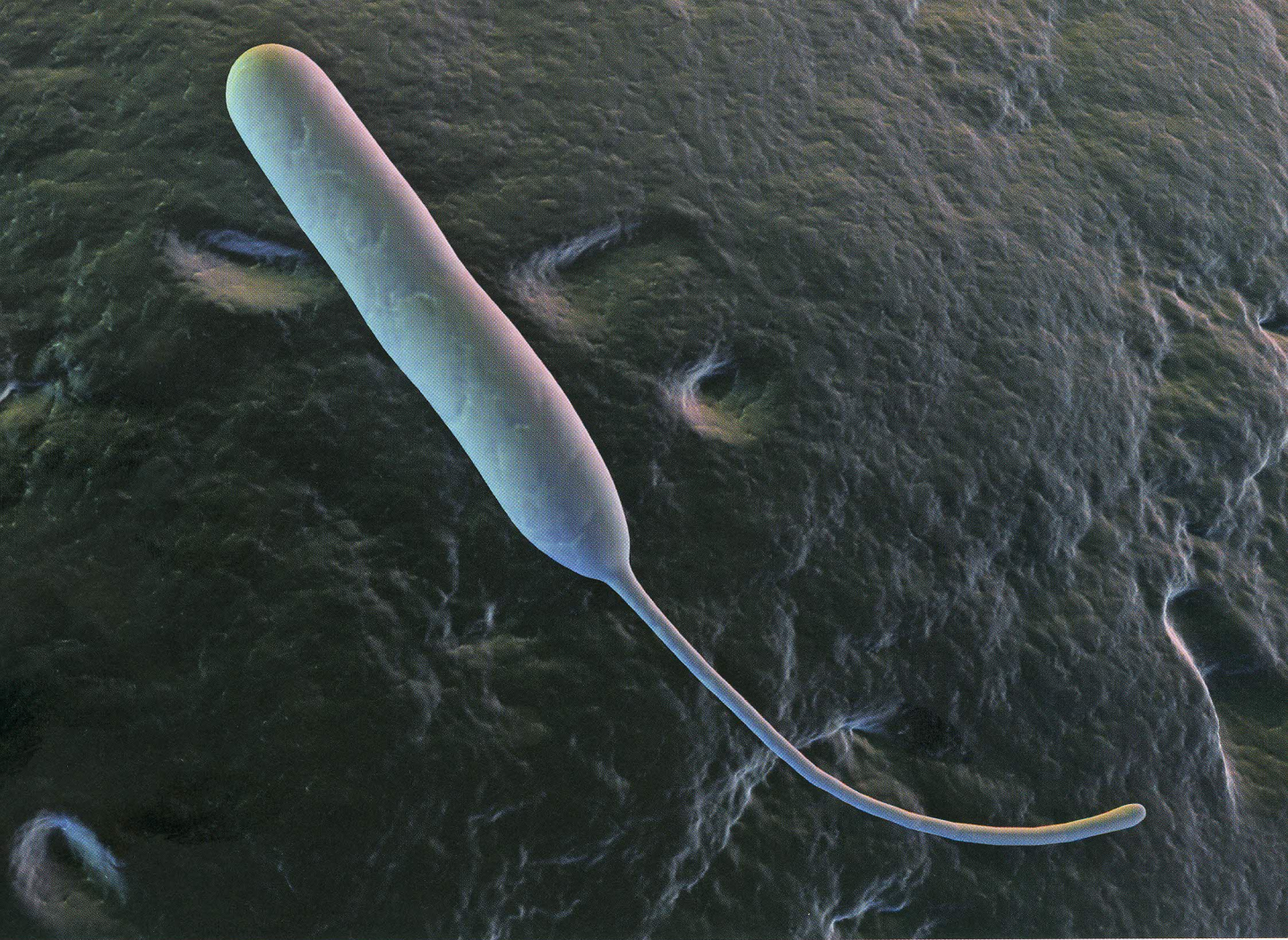
Muitos aspectos epidemiológicos do *Campylobacter* ainda são pouco conhecidos na cadeia avícola brasileira, e estes são bastante dinâmicos e peculiares de

acordo com as características da avicultura de cada região. Ações buscando um menor nível de colonização cecal pré-abate e redução do risco de contaminação pós-abate precisam ser direcionadas pelo conhecimento da dinâmica da bactéria na cadeia de produção de frangos de corte. Esse tema é contemplado numa linha de pesquisa desenvolvida na Embrapa Suínos e Aves e cujos resultados preliminares são discutidos no presente artigo.

ESPÉCIES DE *CAMPYLOBACTER* TERMÓFILOS IDENTIFICADAS EM FRANGOS DE CORTE

No período de 2010 a 2011 a Embrapa Suínos e Aves amostrou 30 lotes de frangos de corte com idades entre 26 e 49 dias, procedentes de diferentes integrações na região Sul do Brasil. Suabes de cloaca foram coletados e analisados pelo método bacteriológico convencional para isolamento de *Campylobacter* termófilos, e os isolados obtidos foram caracterizados por provas bioquímicas.

Entre os suabes de cloaca positivos para *Campylobacter* termófilos houve maior frequência de *C. jejuni* (Figura 1), embora *C. coli* tenha sido também identificado (Tabela 01).



C. jejuni é a espécie termófila mais prevalente em frangos de corte, sendo também a principal envolvida nos casos de campilobacteriose humana, seguida por *C. coli* e, mais raramente, *C. lari* (4, 6).

COLONIZAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

A transmissão de *Campylobacter* para frangos de corte se dá pela via horizontal, estando envolvidas tanto a rota oro-fecal quanto a contaminação ambiental residual ou por vetores. A transmissão vertical, da matriz ao pintinho, ainda é controversa e não está completamente entendida. Observa-se que os pintinhos geralmente são negativos para *Campylobacter* até a terceira semana de vida, quando então são detectadas as primeiras aves positivas, sendo que no período pré-abate quase 100% dos frangos do lote são positivos para a presença da bactéria (1, 4).

Para identificar o padrão de colonização de frangos de corte por *Campylobacter* termófilos foi realizado um estudo longitudinal que acompanhou de fevereiro a julho de 2011 o ciclo produtivo de três lotes consecutivos de frangos de corte. As aves eram da linhagem Cobb, provenientes de um mesmo incubatório comercial, e foram alojadas no primeiro dia de

vida em um aviário experimental de alta biossegurança na Embrapa Suínos e Aves. Cada lote consistiu de 180 frangos, distribuídos em seis boxes de 2,74 m² e comportando 30 aves alojadas sobre cama de maravalha reutilizada por três lotes. No intervalo entre lotes foi realizada a limpeza e desinfecção do aviário, com vazio sanitário de 14 dias e tratamento da cama por fermentação em leira.

Foram realizadas análises microbiológicas semanais, sendo no dia de alojamento (dia 0) coletados um *pool* de suabes de fundo das caixas de transporte dos pintos; um *pool* do cepilho e um *pool* de suabes de arrasto (SA) da cama dos boxes antes do alojamento dos pintos. Nos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade foram coletados suabes de cloaca (SC) (*pool* de três frangos) e *pool* de SA de todos os boxes. O número de SC coletados foi determinado para detecção de pelo menos um SC positivo para *Campylobacter* sp., dada uma prevalência esperada de 20%, sensibilidade de 90% e confiança de 95%. A partir da detecção do primeiro SC positivo, utilizou-se amostragem para determinação de prevalência intralote, considerando-se prevalência esperada de 30% aos 28 dias e de 50% aos 35 e 42 dias, confiança de 95% e precisão de 10%. O material coletado



TABELA 1. ESPÉCIES DE *CAMPYLOBACTER* TERMÓFILOS IDENTIFICADAS EM SUABES DE CLOACA POSITIVOS AMOSTRADOS ENTRE 2010 E 2011

Espécie	Empresa			
	A	B	C	D
<i>C. jejuni</i>	100%	83,3%	82,3%	100%
<i>C. coli</i>	-	16,7%	11,8%	-
Não determinada	-	-	5,9%	-

foi submetido ao isolamento bacteriológico convencional de *Campylobacter* termófilos e a espécie foi identificada por provas bioquímicas.

Nesse estudo, os SC permaneceram negativos até os 14 dias (lote 2) e 21 dias (lotes 1 e 3), e o número de aves positivas foi aumentando ao longo do período, atingindo 97,3% (lote 1) e 100% (lotes 2 e 3) de positividade aos 42 dias (Tabela 02). Apesar do isolamento de *Campylobacter* do pool de cepilho coletado das caixas de transporte dos pintos do lote 3, as aves desse lote permaneceram negativas até os 21 dias. O isolamento de *Campylobacter* em SA anterior ou concomitante ao surgimento dos primeiros SC positivos indica que a contaminação residual no ambiente é importante, ainda que a limpeza, vazio sanitário e tratamento da cama reutilizada contribuam para reduzir a contaminação do aviário pela bactéria entre lotes alojados. Um trabalho anterior demonstrou que a contaminação por *Campylobacter* espalha-se rapidamente entre as aves do lote a partir da identificação dos primeiros frangos positivos (1). O estudo da Embrapa Suínos e Aves mostrou um aumento gradativo da colonização dos 21 aos 42 dias de vida dos frangos, sendo que todos os isolados obtidos dos lotes amostrados foram caracterizados como *C. jejuni*.

Uma vez que as aves são negativas para *Campylobacter* nas primeiras semanas de alojamento, a imunidade materna parece ser importante na dinâmica de infecção do lote (6). Por outro lado, a rota oro-fecal aumenta a disseminação de *Campylobacter* no lote e, por consequência, a contaminação do ambiente, de modo que o correto tratamento da cama e o período de vazio sanitário são importantes para reduzir a contaminação no aviário entre lotes.

O PAPEL DO CASCUDINHO COMO VETOR

O cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Figura 02) encontra-se amplamente disseminado em aviários de frangos de corte no Brasil e tem implicação na sanidade avícola e na segurança dos alimentos, uma vez que pode ser reservatório de vírus e bactérias nos aviários, incluindo *Campylobacter* (2, 5).

A Embrapa Suínos e Aves vem investigando o papel do inseto na manutenção de *Campylobacter* termófilos entre lotes de frangos de corte. Resultados preliminares mostram que a detecção de cascudinhos positivos para *Campylobacter* ocorreu nas últimas semanas de alojamento de frangos de corte comerciais, coincidindo com o período de maior prevalência de *Campylobacter* termófilos nas aves amos-

TABELA 2. ISOLAMENTO DE *CAMPYLOBACTER* TERMÓFILOS (NÚMERO DE AMOSTRAS POSITIVAS/NÚMERO DE AMOSTRAS ANALISADAS) EM 3 LOTES CONSECUTIVOS DE FRANGOS DE CORTE

Dia	Lote 1		Lote 2		Lote 3	
	SC	SA	SC	SA	SC	SA
0	0/2 ^a	0/1	0/2 ^a	0/1	1 ^b /2 ^a	1/1
7	0/14	0/1	0/14	1/1	0/14	0/1
14	0/14	0/1	0/14	0/1	0/14	0/1
21	0/14	0/1	13/14	1/1	0/14	1/1
28	10/14	1/1	35/35	1/1	6/14	1/1
35	33/37	1/1	37/37	1/1	36/37	1/1
42	36/37	1/1	36/36 ^c	1/1	37/37	1/1

SC = suabe de cloaca; SA = suabe de arrasto; ^a2 = 1 pool de cepilho + 1 pool de suabe de fundo das caixas de transporte dos pintos;

^bPool de cepilho positivo; ^cForam coletados 37 suabes de cloaca, porém 2 foram analisados em pool

FIGURA 01. *CAMPYLOBACTER JEJUNI* ISOLADO DE FRANGO DE CORTE (COLORAÇÃO DE GRAM, 1000X)



tradas. Por outro lado, após o vazio sanitário e o tratamento fermentativo da cama reutilizada, foi observada redução da infestação do aviário por cascudinhos, bem como os insetos amostrados nesse período foram negativos para a presença da bactéria, possivelmente indicando o efeito benéfico dessas práticas no manejo do cascudinho nos aviários.

Um estudo conduzido na Dinamarca também identificou a presença de *Campylobacter* em *A. diaperinus* em lotes de frangos positivos para a bactéria, porém concluiu que não tem um papel importante na transmissão da bactéria de um lote a outro (4), contrapondo os dados de outros autores que consideraram possível a transmissão da bactéria entre lotes por meio do cascudinho (2). Contudo, esses dados não podem ser extrapolados para a avicultura de corte do Brasil, então estudos autóctones são necessários para determinar o real papel do cascudinho na manutenção da bactéria em lotes de frangos de corte nas condições do País.

DIVERSIDADE GENÉTICA

A caracterização genética é uma ferramenta auxiliar na identificação de fontes de contaminação na granja,

bem como do padrão de dispersão das cepas de *Campylobacter* termófilos na cadeia avícola. Se por um lado a caracterização bioquímica de *Campylobacter* tem limitada capacidade de discriminação dos isolados e a sorotipificação não está disponível para a maioria dos laboratórios; por outro a bactéria apresenta grande diversidade genética que pode dificultar a tarefa de buscar uma relação entre isolados por meio da genotipificação. Apesar desse paradigma, a determinação dos genótipos tem sido fundamental no entendimento da epidemiologia de *Campylobacter* na cadeia avícola (3).

A genotipificação pela técnica de *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE) de 33 cepas de *C. jejuni* isoladas de suabes de cloaca (12), fezes (7), suabes de arrasto (8), cama aviária (4) e cascudinhos (2) coletados em granjas de frangos de corte de diferentes agroindústrias brasileiras (1, 2 e 3) entre 2010 e 2011 resultou em 13 diferentes perfis genéticos, identificados de A até M (Tabela 3). Esses genótipos foram submetidos à análise de *cluster*, sendo a similaridade calculada pelo coeficiente de *Dice* e o dendograma gerado por UPCMA.

TABELA 3. GENÓTIPOS DE 33 ISOLADOS DE *CAMPYLOBACTER JEJUNI* OBTIDOS DE MATERIAL AVÍCOLA DE DIFERENTES EMPRESAS (1, 2 E 3) NO PERÍODO 2010-2011

Genótipo	Frequência	Empresa
A	1/33	2
B	1/33	2
C	2/33	2
D	10/33	2
E	1/33	2
F	3/33	2
G	2/33	1
H	2/33	2
I	1/33	1
J	7/33	2
K	1/33	3
L	1/33	3
M	1/33	2

Os 13 diferentes perfis identificados nos 33 isolados analisados, bem como a baixa similaridade identificada entre esses padrões, indicam ampla diversidade genotípica (Figura 03). Não obstante, os perfis identificados puderam ser associados à empresa de origem,

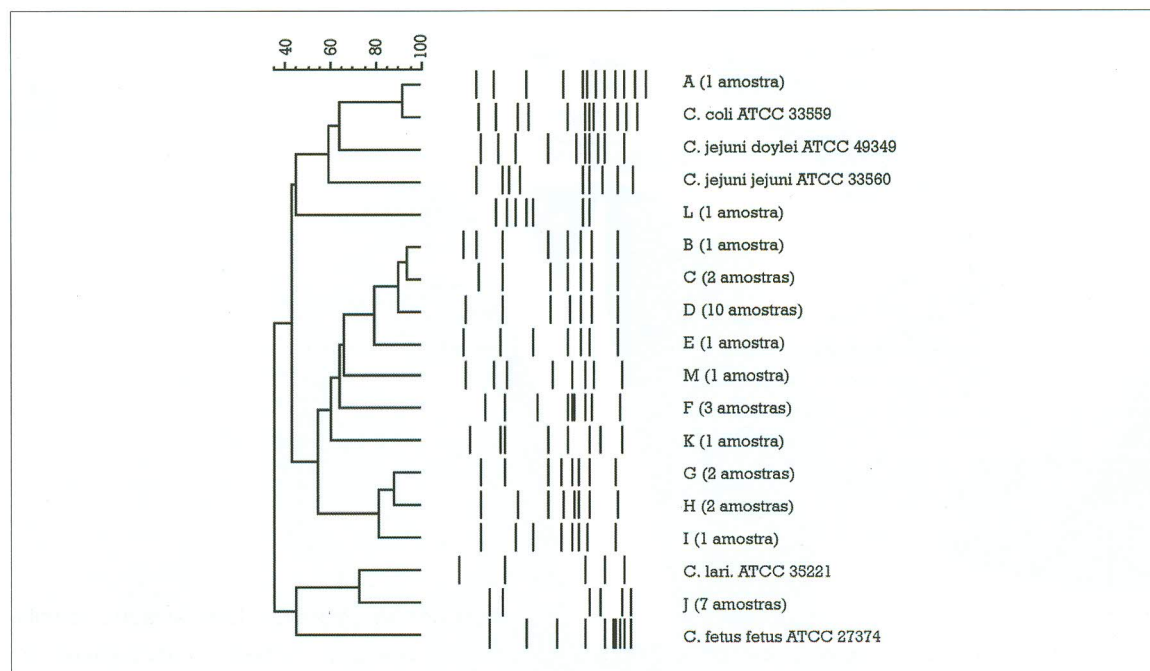
indicando um padrão nas cepas que circulam nos integrados dessas empresas. Esse estudo não tinha o objetivo de determinar prevalência da bactéria, tão pouco o resultado permite comparar frequências de *Campylobacter* entre as empresas amostradas, mas

FIGURA 02. CASCUDINHO (*ALPHITOBIOUS DIAPERINUS*) EM AVIÁRIO COMERCIAL



Embrapa Suínos e Aves

FIGURA 03. DENDOGRAMA RELACIONANDO OS GENÓTIPOS (A – M) DE 33 AMOSTRAS DE *C. JEJUNI* ANALISADAS



Para comparação, foram usadas cepas padrão (ATCC) de *C. jejuni* subsp. *jejuni*; *C. jejuni* subsp. *doylei*; *C. coli*; *C. lari* e *C. fetus* subsp. *fetus*

permitiu correlacionar determinados genótipos com a empresa de origem, o que poderia ser mais explorado em programas internos de rastreabilidade da bactéria nas integrações.

PERSPECTIVAS

Vários aspectos sobre *Campylobacter* na avicultura de corte são conhecidos de trabalhos realizados em outros países, mas cuja aplicabilidade nem sempre é possível em outros locais com clima e características diferentes. A pesquisa com *Campylobacter* gerada nos últimos anos por diversos grupos no Brasil tem permitido avançar no conhecimento da situação de campo que, somada a estudos contemplando epidemiologia, imunidade e rastreabilidade, deve produzir dados que venham a subsidiar intervenções práticas e efetivas para a avicultura nacional. ³

¹Embrapa Suínos e Aves, Concórdia (SC)

E-mail: clarissa@cnpas.embrapa.br

²Bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq

³Estagiária curricular de Medicina Veterinária, UFPel (RS)

Referências bibliográficas

- Evans, S.J. & Sayers, A.R. A longitudinal study of *Campylobacter* infection of broiler flocks in Great Britain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 46, p. 209-223. 2000.
- Hazeleger, W.C. et al. Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae as potential vectors for the transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B variant Java between successive broiler flocks. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, n.22, p. 6887-91. 2008.
- Höök, H., et al. Genotype dynamics of *Campylobacter jejuni* in a broiler flock. **Veterinary Microbiology**, v.106, p. 109-17. 2005.
- Lee, M.D. & Newell, D.G. *Campylobacter* in poultry: filling an ecological niche. **Avian Diseases**, v.50, p. 1-9. 2006.
- Skov, M.N. et al. The role of litter beetles as potential reservoir for *Salmonella enterica* and thermophilic *Campylobacter* spp. between broiler flocks. **Avian Diseases**, v.48, p. 9-18. 2004.
- Wagenaar, J.A. et al. Poultry colonization with *Campylobacter* and its control at the primary production level. In: Nachamkin, I.; Szymanski, C.M.; Blaser, M.J. **Campylobacter**. Washington: ASM Press, 2008. Cap. 37, p.667-678.

