



Instituto Politécnico de Castelo Branco
Escola Superior Agrária

Relatório de Estágio

**Caracterização da resistência a antibióticos de
isolados de *Campylobacter* de amostras de
codorniz colhidas num matadouro**

Sónia Alexandra Amoroso Ribeiro

Engenharia Biológica e Alimentar

Orientadores:

Prof. Dr.^a Maria João dos Ramos Fraqueza

Prof. Dr.^a Cristina Maria Batista Santos Pintado

Castelo Branco, Novembro 2010

“As doutrinas expressas neste trabalho
são da inteira responsabilidade do seu autor”

Titulo: Caracterização da resistência a antibióticos de isolados de *Campylobacter* de amostras de codorniz colhidas num matadouro

Local de estágio: Faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Produção Animal e Segurança Alimentar, Universidade Técnica de Lisboa

Orientador interno: Prof. Dr.^a Cristina Maria Batista Santos Pintado

Orientador externo: Prof. Dr.^a Maria João dos Ramos Fraqueza

Índice

Índice geral	i
Índice de figuras	iii
Índice de tabelas	iv
Índice de anexos	v
Lista de abreviaturas	vi
Resumo	vii
Abstract	viii

Índice

1	Introdução	1
2	Revisão Bibliográfica	3
2.1	Caracterização de <i>Campylobacter</i> spp.	3
2.2	Vias de transmissão de campilobacteriose	3
2.3	Importância do patogénico <i>Campylobacter</i> spp. na saúde humana.....	4
2.4	Importância de estirpes de <i>Campylobacter</i> resistentes a antibióticos em termos epidemiológicos e saúde humana	6
2.5	Produção e consumo de carne de codorniz.....	7
2.6	<i>Campylobacter</i> spp. e resistência a antibióticos.....	7
2.6.1	Mecanismos de resistência	8
2.6.2	Resistência bacteriana a antibióticos	10
2.6.2.1	Fluoroquinolonas e quinolonas.....	10
2.6.2.2	Macrolidos.....	11
2.6.2.3	Cloranfenicol	12
2.6.2.4	Sulfonamidas	12
2.6.2.5	Tetraciclinas	12
2.6.2.6	Aminoglicosídeos	13
2.6.2.7	β -lactâmicos.....	13
2.7	Testes de susceptibilidade a antibióticos (TSA).....	13
2.8	Técnica multiplex-PCR (m-PCR)	15
3	Desenvolvimento Experimental	16

3.1	Objectivo do trabalho.....	16
3.2	Materiais e Métodos	16
3.2.1	Colheita de amostras.....	16
3.2.2	Detecção e Identificação de <i>Campylobacter</i> spp.	16
3.2.3	Colecção de Isolados	18
3.2.4	Conservação e armazenamento do isolado de <i>Campylobacter</i> spp.	19
3.2.5	Antibióticos utilizados	19
3.2.6	Descrição de teste de susceptibilidade a antibióticos (TSA)	19
3.2.7	Critérios de interpretação	20
3.2.8	Análise estatística	20
3.3	Apresentação dos resultados	21
3.3.1	Isolados de <i>Campylobacter</i> spp. colhidos em 2009	21
3.3.2	Isolados de <i>Campylobacter</i> spp. colhidos em 2010	25
3.4	Discussão	29
3.5	Conclusão	33
4	Perspectivas Futuras.....	34
5	Referências Bibliográficas.....	34

Índice de figuras

Figura 1. Vias de transmissão de campilobacteriose	4
Figura 2. Mecanismos de resistência a antimicrobianos apresentados por bactérias	10
Figura 3. Halos de inibição.....	14
Figura 4. Identificação das espécies <i>C. jejuni</i> e <i>C. coli</i> através da técnica m-PCR, revelação dos produtos por electroforese em gel de agarose	15
Figura 5. Gel de agarose resultante da electroforese para visualização dos produtos da reacção m-PCR de identificação do gene <i>cdtB</i> nos isolados em estudo recolhidos em 2010.	18
Figura 6. Halos de inibição apresentados por uma das estirpes de <i>Campylobacter</i> spp. analisadas.....	20

Índice de tabelas

Tabela 1. Número e frequência de isolados de <i>Campylobacter</i> spp. de codorniz, em 2009, resistentes aos antibióticos em estudo.....	22
Tabela 2. Frequência de isolamento de <i>C. coli</i> e <i>C. jejuni</i> por tipo de amostra em 2009.	22
Tabela 3. Distribuição (%) dos isolados de <i>Campylobacter</i> spp., colhidos em 2009, resistentes de acordo com o tipo de amostra (Intestino (ceco), Pele de pescoço e Peito da carcaça)	23
Tabela 4. Frequência dos isolados de <i>Campylobacter</i> spp. de acordo com o bando de origem em 2009.....	24
Tabela 5. Distribuição (%) dos isolados de <i>Campylobacter</i> spp. resistentes de acordo com o bando de origem em 2009	25
Tabela 6. Número e frequência de isolados de <i>Campylobacter</i> spp. em codorniz, em 2010, resistentes a vários antibióticos	26
Tabela 7. Frequência de isolamento de <i>Campylobacter coli</i> por tipo de amostra em 2010	27
Tabela 8. Distribuição (%) dos isolados de <i>Campylobacter coli</i> resistentes de acordo com o tipo de amostra (intestino, pele de pescoço, peito antes do arrefecimento e peito após a arrefecimento) em 2010.	28
Tabela 9. Frequência dos isolados de <i>Campylobacter coli</i> de acordo com o bando de origem em 2010.....	29
Tabela 10. Distribuição (%) dos isolados de <i>Campylobacter coli</i> resistentes de acordo com o bando de origem, em 2010	29

Índice de anexos

Anexo 1: Taxa de notificação de zoonoses em casos confirmados de humanos no contexto da EU durante o ano 2008

Anexo 2: Agentes etiológicos de surtos de toxinfecções alimentares no contexto da EU em 2007

Anexo 3: critérios de interpretação dos halos obtidos em contacto com o isolado

Lista de abreviaturas

AMP – Ampicilina

AUG – Amoxiciclina+ácido clavulânico

CN – gentamicina

C – cloranfenicol

NOR – norfloxacina

OFX – ofloxacina

CIP – ciprofloxacina

NA – ácido nalidíxico

SXT – trimetoprim-sulfametoxazol

E – eritromicina

TE – tetraciclina

TSA – Teste de susceptibilidade a antibióticos

SGB – Síndrome Guillain-Barré

M-PCR – Multiplex PCR

Resumo

As infecções por *Campylobacter* spp. são a causa mais comum de gastroenterite aguda na Europa e América do Norte, sendo a espécie *Campylobacter jejuni* mais frequente associada a doença do que *Campylobacter coli*. Em Portugal observou-se nos últimos anos um aumento do consumo da carne de codorniz de 5,3%. Actualmente, verifica-se o uso generalizado de antibióticos como promotores de crescimento na produção de carne. Por este motivo é importante avaliar a susceptibilidade de isolados de *Campylobacter* spp. aos principais antibióticos usados tanto na medicina veterinária como na medicina humana. As colheitas das amostras foram realizadas em 2009 e em 2010 num matadouro, tendo-se colhido intestino (ceco), pele do pescoço e peito da carcaça de codorniz.

Na detecção e isolamento de *Campylobacter* seguiu-se a metodologia descrita pela ISO 10272-1 (2006). A identificação de *Campylobacter* spp. e das espécies *C. jejuni* e *C. coli* foi realizado pela técnica Multiplex PCR.

Dos testes de sensibilidade a 11 antibióticos realizados aos isolados *C. jejuni* (n=6) e *C. coli* (n=86) observou-se uma maior resistência ao grupo das quinolonas e fluoroquinolonas (entre 80 e 100%). Os mesmos isolados apresentaram susceptibilidade aos antibióticos cloranfenicol e gentamicina. Perante os resultados dever-se-á melhorar as boas práticas nas explorações intensivas de codorniz com um melhor controlo do uso de antibióticos nestas aves.

Palavras-Chave: *Campylobacter*, codorniz, resistência aos antibióticos, segurança alimentar, aves de capoeira.

Abstract

Campylobacter infections are the most common cause of acute gastroenteritis in Europe and North America, being the *Campylobacter jejuni* most frequently associated with disease than *Campylobacter coli*. In Portugal, the quail production had an increase of 5,3% in the last years. Actually, the use of antibiotics as growth promoters in meat production is widespread. For this reason, it is important to evaluate the susceptibility of *Campylobacter* spp. strains to major antibiotics used both veterinary and human medicine. The quails sampling were performed during 2009 and 2010 in a slaughter house, and were collected from intestine (cecae), skin neck and breast of quail carcass.

For the detection and isolation of *Campylobacter* was followed the methodology described in the ISO 10272-1 (2006) standard. The identification of *Campylobacter* spp. and the species *C. jejuni* and *C. coli* was performed by multiplex PCR.

Concerning the results of susceptibility of *C. jejuni* (n=6) and *C. coli* (n=86) strains to eleven antibiotics was observed an higher resistance to quinolones and fluorquinolones groups (between 80 and 100%). The same strains showed susceptibility to chloramphenicol and gentamicin antibiotics. It will be necessary to improve the good practices in intensive production of quail, with a better control of the use of antibiotics.

Keywords: *Campylobacter*, quail, antibiotic resistance, food safety, poultry.