

The background of the slide is a silhouette of a large, ornate building with two prominent domes, set against a vibrant orange and yellow sunset sky. The building's details are dark against the bright, glowing background.

Veiculação de *Campylobacter* pelos alimentos: sua importância e prevenção

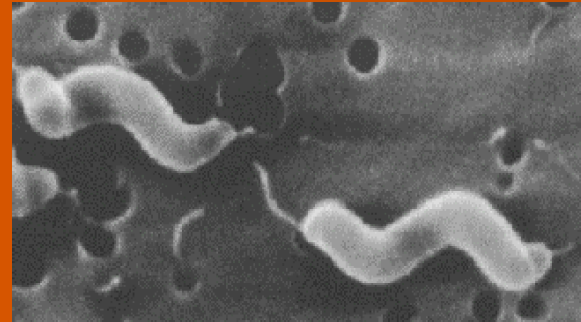
Ana Luzia Lauria Filgueiras, DSc.
Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ/ RJ

**X Workshop em Alimentos
UNIVATES / Lajeado / RS
Outubro de 2009**

Características do gênero *Campylobacter*

1,5 a 6 μm de comprimento
0,2 a 0,5 μm de largura

Genoma 1,6 – 1,7 Mbp
rico em AT
taxa CG (30 a 50%)



Fonte CDC

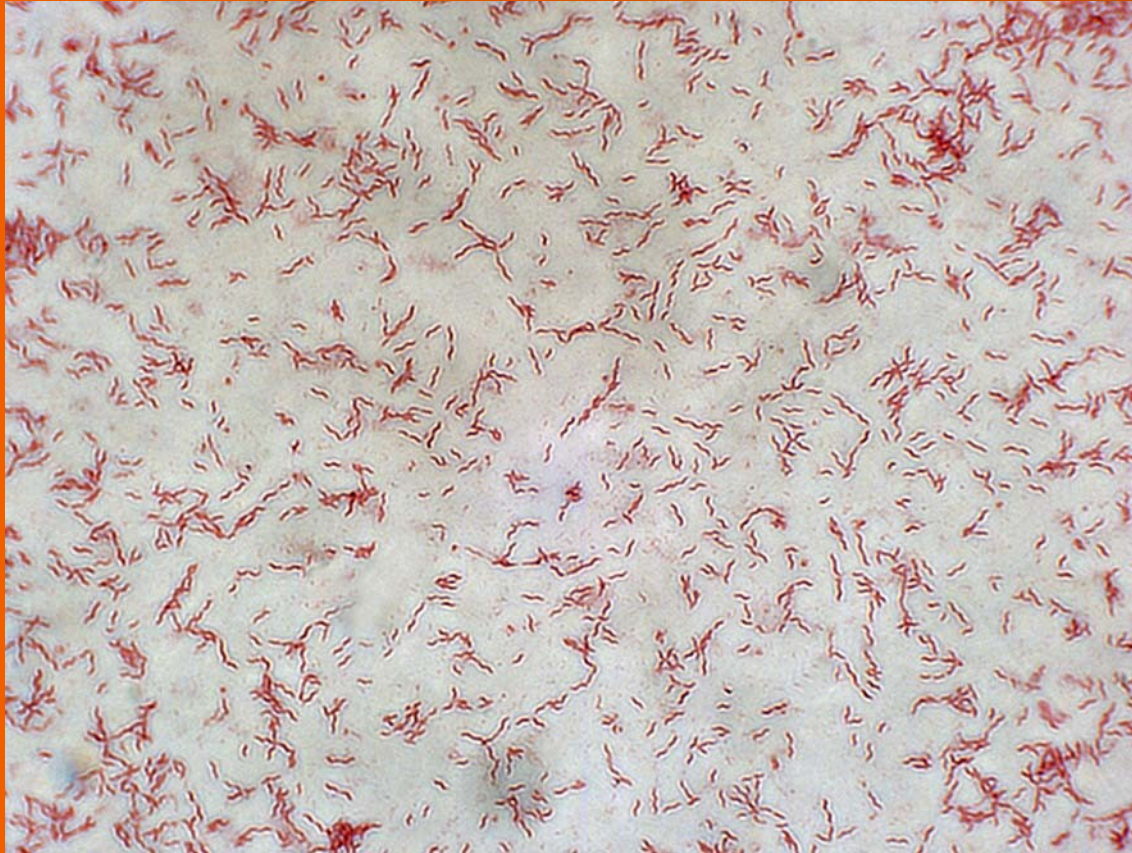
São **microaerófilos** e crescem em temperaturas de 25 a 42°C

Todas as espécies são **oxidase positivas**, porém em sua maioria urease negativa e **catalase variável**

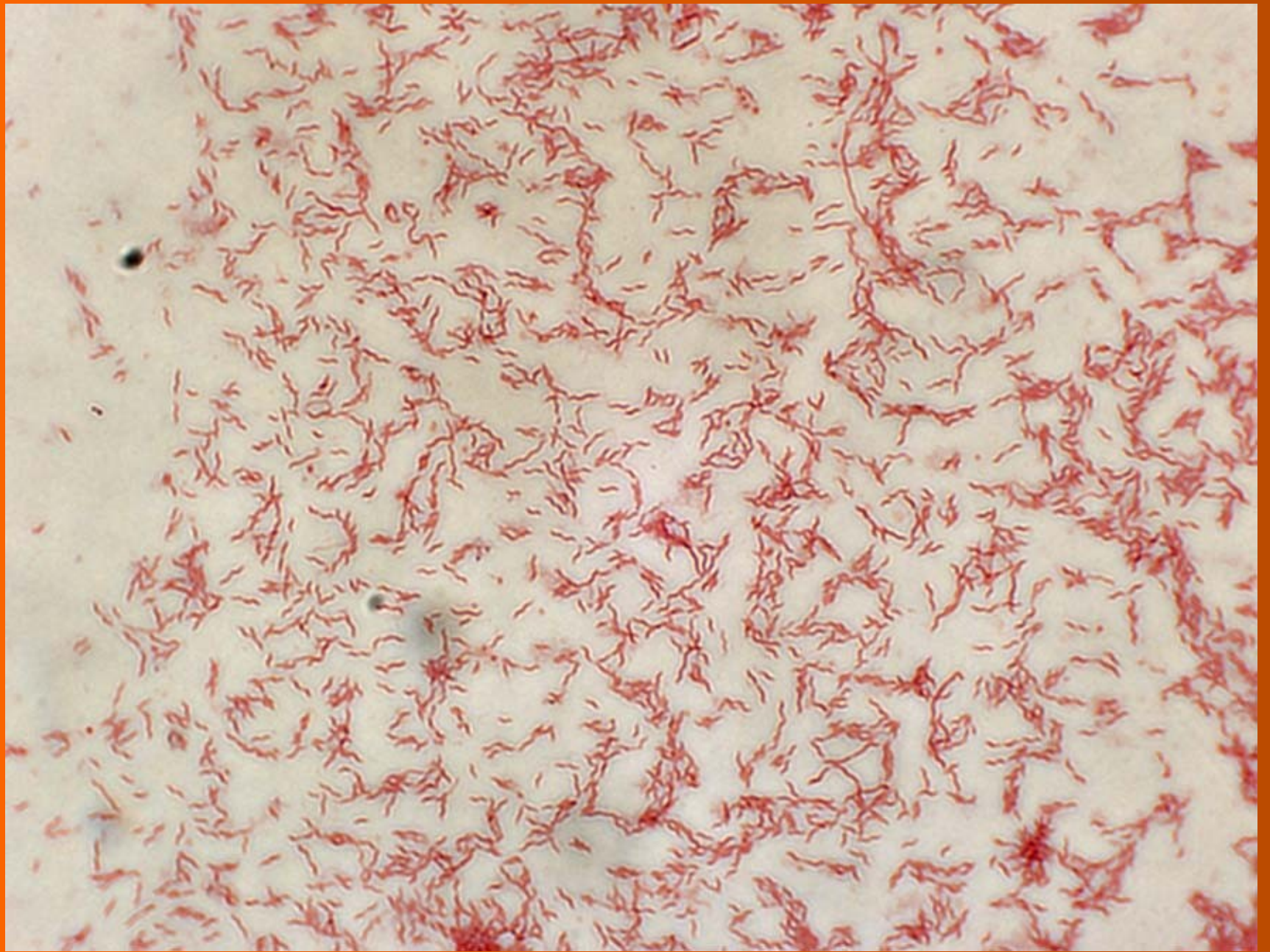
Móveis, com um flagelo em uma ou ambas extremidades, **com movimento típico**.

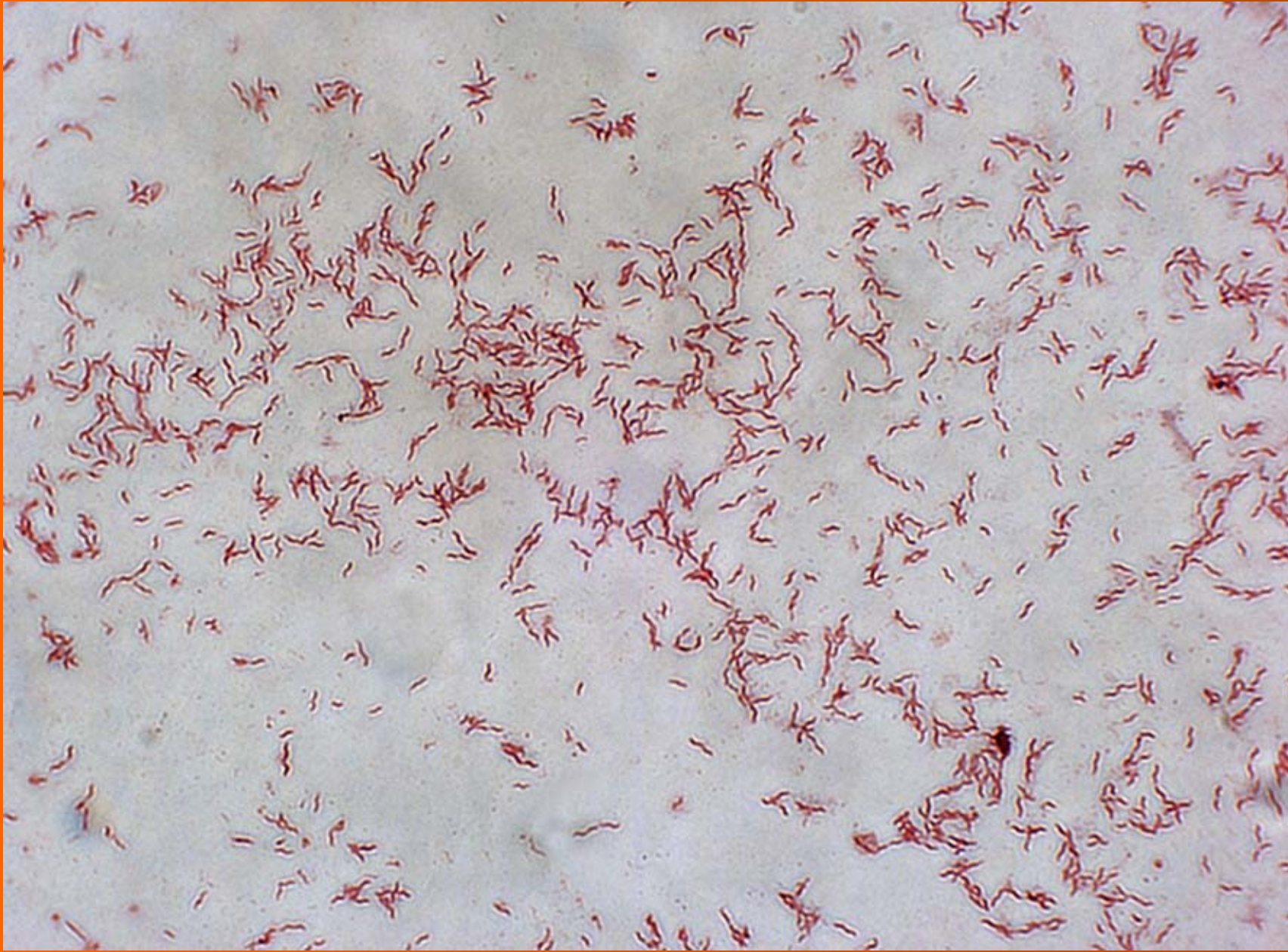
família **Campylobacteraceae**

Morfologia celular típica



coloração de Gram
aumento 1.000X

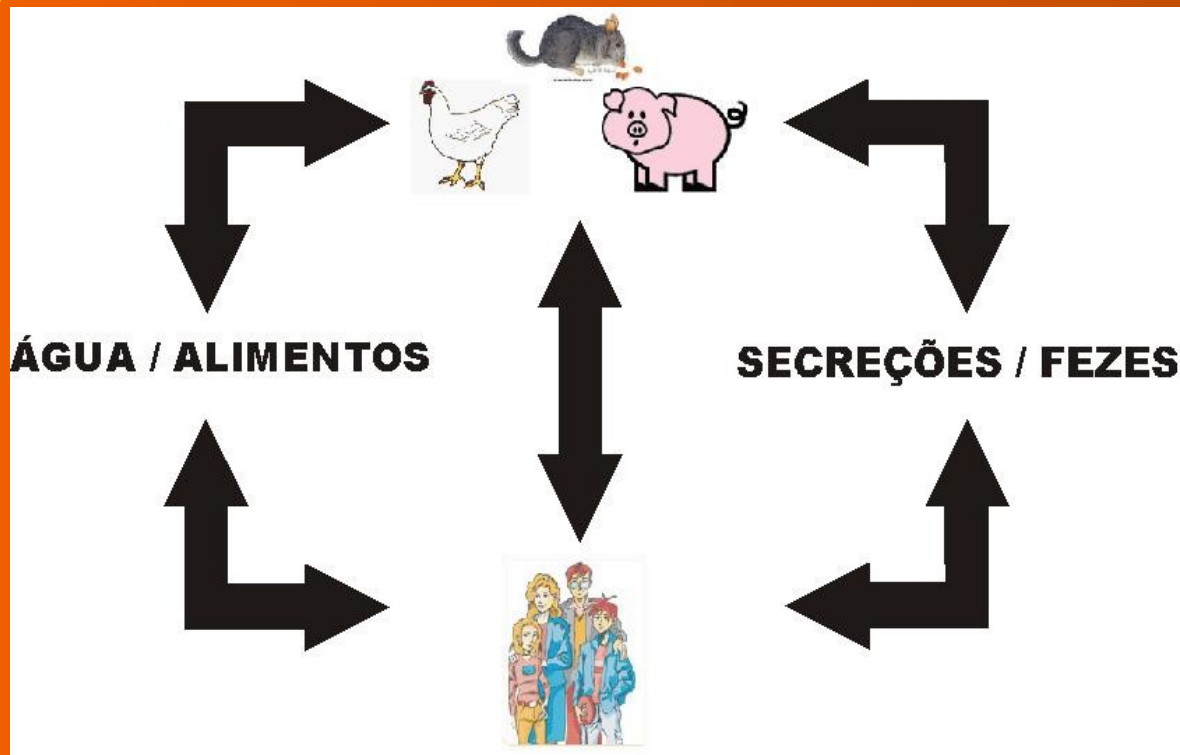




Epidemiologia da campilobacteriose

- Ampla diversidade ecológica;

- Veículos de transmissão: animais infectados, alimentos e água contaminada;



- As aves representam o principal reservatório (dez milhões de células de *Campylobacter* por grama de fezes).

A campilobacteriose no mundo e no Brasil

Em alguns países industrializados:

- ❖ Na Dinamarca: 78 casos, no Reino Unido: 103 casos e nos Estados Unidos: 100 casos / 100.000 habitantes.
- ❖ Custo infecção: US\$225 milhões/ano.
- ❖ Estima-se que 2 a 2,5 milhões de pessoas se infectem a cada ano.
- ❖ Programas de Vigilâncias Nacionais.
- ❖ Notificação dos casos.
- ❖ Controle das possíveis fontes de infecção e prevenção de novos casos.
- ❖ Esclarecimentos à população.

No Brasil:

- ❖ Poucos laboratórios clínicos incluem a investigação de *Campylobacter* nos exames de rotina.
- ❖ Número pequeno de laboratórios de pesquisa desenvolvendo trabalhos com esta bactéria.
- ❖ Insuficiência de dados para estimar a real incidência das infecções humanas.
- ❖ Não há notificação compulsória.
- ❖ Ausência de Programas de Vigilância para a campilobacteriose.
- ❖ Maior atenção às etiologias em bovinos e ovinos do que àquelas em humanos (interesse financeiro).

Possíveis causas desse contraste

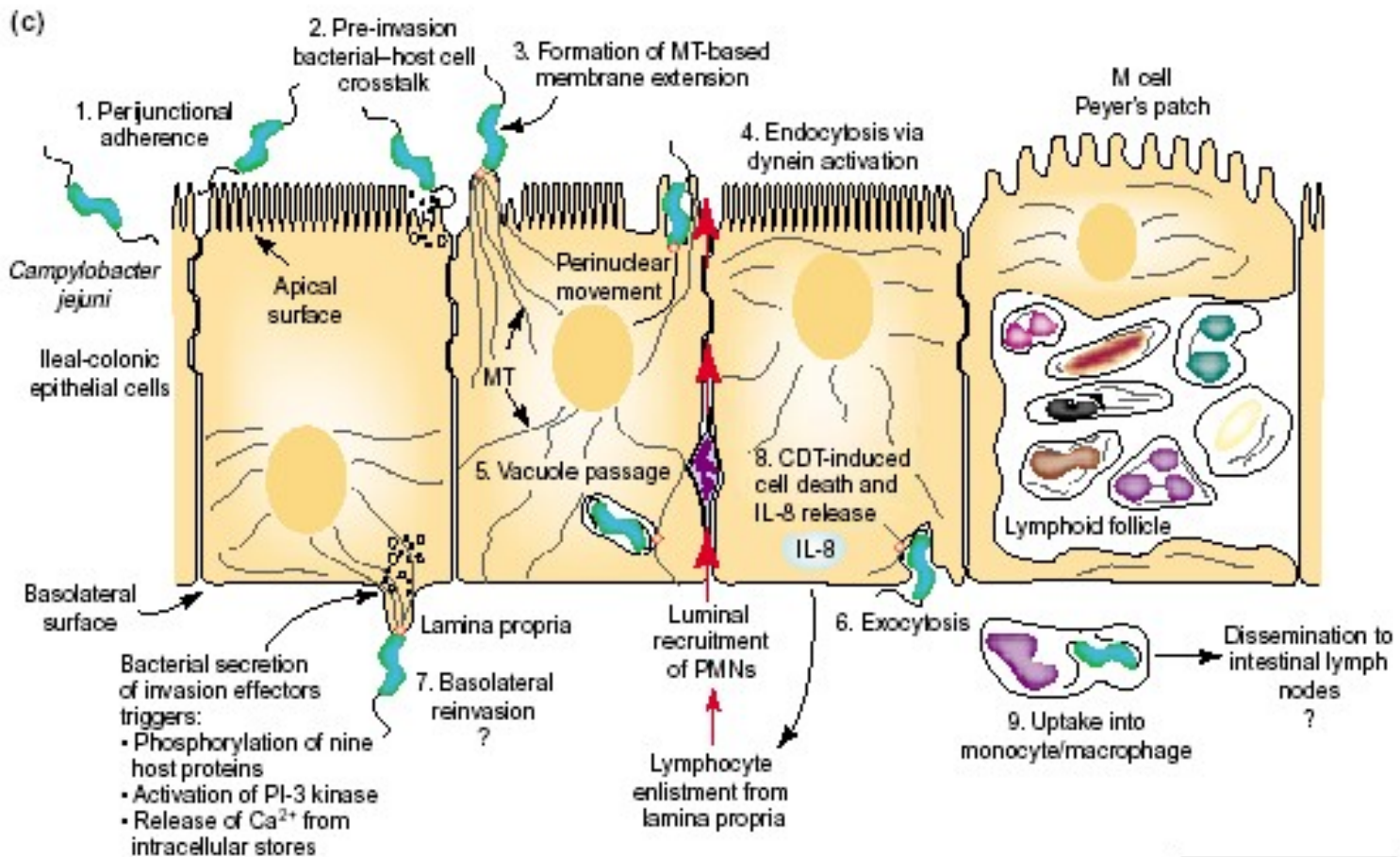
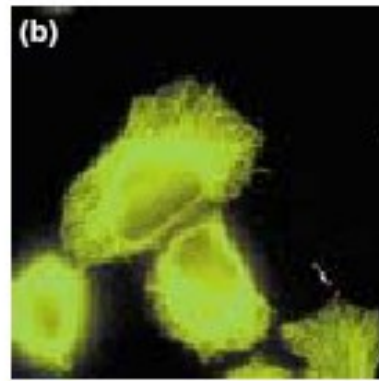
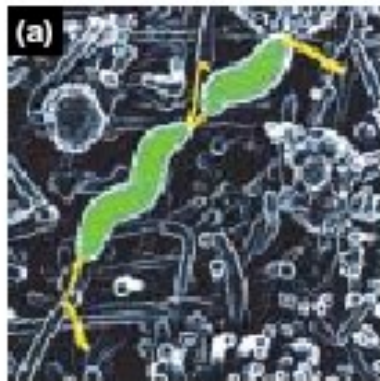
- ✓ **Desconhecimento da etiologia pelo corpo médico;**
- ✓ **Pouca divulgação da campilobacteriose e suas conseqüências;**
- ✓ **Pequeno número de pesquisas sendo desenvolvidas;**
- ✓ **Metabolismo diferenciado dos demais enteropatógenos bacterianos;**
- ✓ **Metodologia específica e totalmente diferenciada da utilizada normalmente nos exames de coprocultura.**
- ✓ **Pouco interesse financeiro.**

Etiologias mais comuns:

- nos animais (*C. fetus*): abortos espontâneos, infertilidade, gastroenterites.
- no Homem: gastroenterites, doenças periodontais, septicemias.

Fatores ou determinantes de virulência:

- produção de toxinas
- adesão e invasão de células epiteliais



A enterite no Homem

- ✓ Dose infectante baixa
- ✓ Aquisição via fecal-oral
- ✓ Período de incubação de 2 a 8 dias
- ✓ Sintomas: febre, dor abdominal, vômitos, diarreia branda ou severa
- ✓ Complicações: bacteremia, artrite reativa (Síndrome de Reiter), Síndrome de Guillain Barré
- ✓ Espécies envolvidas: *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, *C. fetus*

Doses Infectantes

Shigella sp. = 10^3

Salmonella sp. = 10^{6-9}

E. coli = 10^6

Vibrio sp. = 10^{6-9}

Aeromonas sp. = 10^{6-9}

Campylobacter =

500 células / mL



Mecanismo GBS

- Sorotipo Penner HS:19
- Mimetismo molecular (Linton, 2001)

Anticorpos monoclonais contra LPS

X

Gangliosídeos neuronais

=

Bloqueio da neurotransmissão em ratos

A campilobacteriose pode representar um grande problema de Saúde Pública em nosso País, tendo em vista as precárias condições sanitárias com que convive boa parte da população.

O aumento do consumo de frango, por exemplo, pode aumentar a veiculação do *Campylobacter* aos seres humanos, causando problemas gastroentéricos e suas complicações.

Porém sua real incidência só poderá ser estimada a partir da investigação criteriosa, por parte dos Laboratórios e da conscientização dos Órgãos Governamentais ligados à Saúde, de que esta zoonose está em nosso meio e precisa ser considerada.



Diagnóstico laboratorial de *Campylobacter* em alimentos

1. Aspectos importantes para sua detecção e diagnóstico presuntivo:

- ✓ Amostra a ser analisada deve estar refrigerada e não congelada;
- ✓ Processamento no mesmo dia da coleta;
- ✓ Evitar ressecamento da amostra;
- ✓ Meios de cultura compatíveis com o micro-organismo;
- ✓ Melhorar a aerotolerância – uso de suplementos;
- ✓ Melhorar sua “performance” – uso de antimicrobianos;
- ✓ Incubação primária em atmosfera de microaerofilia a 42°C;
- ✓ Corantes dentro da validade e em bom estado de conservação;
- ✓ Uso de um microscópio ótico de boa qualidade.

Diagnóstico laboratorial de *Campylobacter* em alimentos

2. Metodologias empregadas:

ISO 10.272-1, 2006 presença ou ausência

ISO 10.272-2, 2006 contagem de colônias

Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods –
APHA

“**Campycheck method**” (Lynch, 2007, Zoonosis Public Health)

MPN 3 tubos (J. Food Protection, 2007)

Semeadura direta (LABZOO/IOC/FIOCRUZ)

IMPORTANTE pouca turbidez em meios líquidos
crescimento pobre?
viabilidade de uso?

Diagnóstico Laboratorial – LABZOO / IOC

I) Diagnóstico Presuntivo:

Meio seletivo, enriquecido e com
suplemento redutor de radicais livres

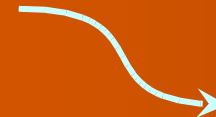


Crescimento a 25, 37 ou 42°C
Microaerofilia / 48h

Colônias características

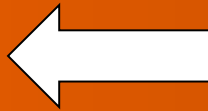


Coloração de Gram
(morfologia celular típica)

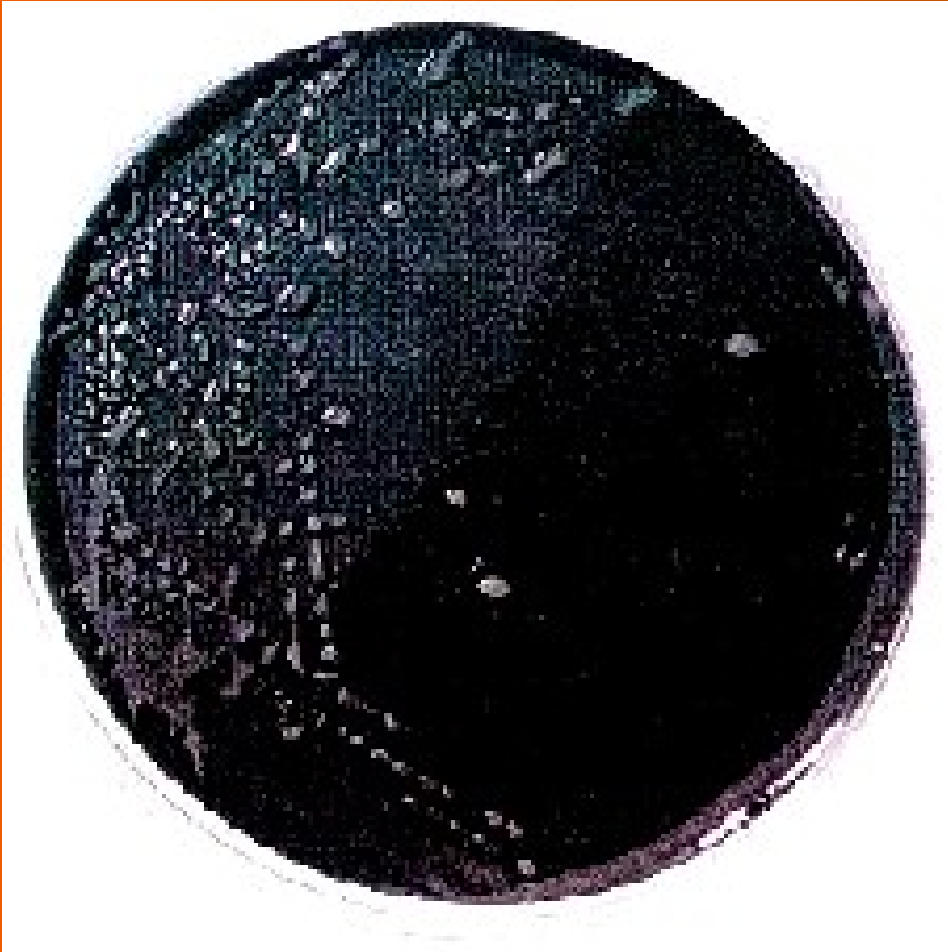


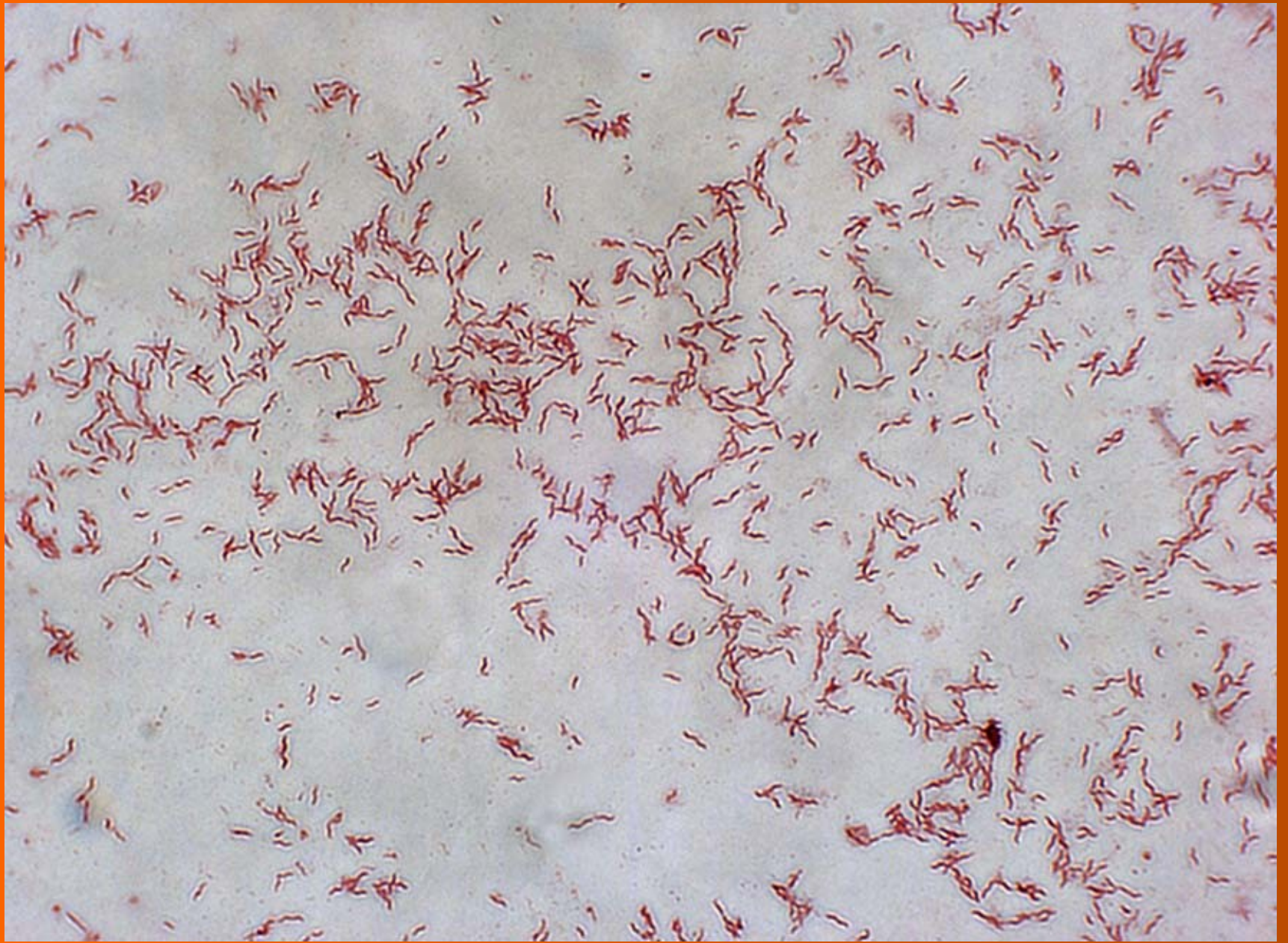
Oxidase
Catalase
Urease

Passivação do cobre







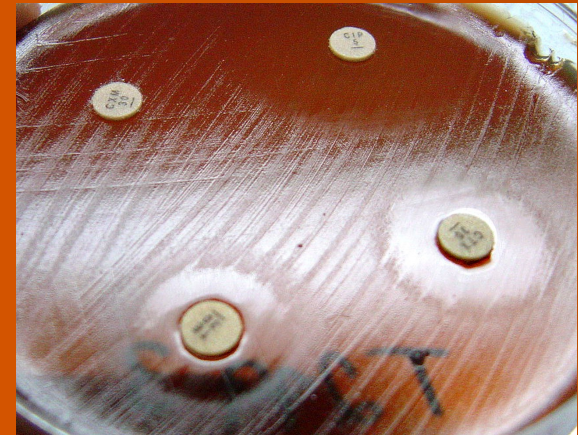


Diagnóstico Laboratorial

II) Identificação Final:

Termofílicas ou não

Teste de sensibilidade:
Ácido Nalidíxico,
Cefalotina e Eritromicina



Hidrólise do Hipurato de Sódio

Hidrólise do Acetato de Indoxila

Diagnóstico laboratorial de *Campylobacter* em alimentos

3. Técnicas moleculares:

Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Multiplex PCR – caracterização genotípica

PCR em tempo real

Outras técnicas moleculares

Caracterização Genotípica – LABZOO / IOC

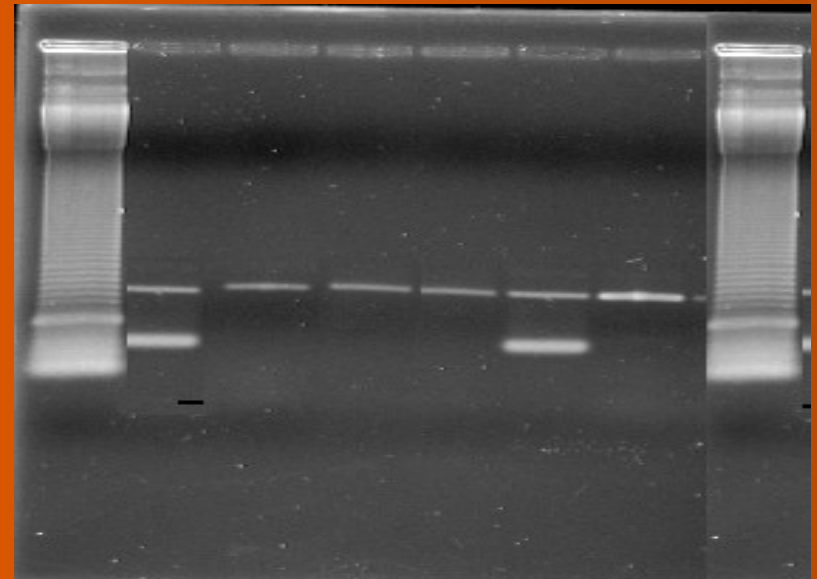
Multiplex PCR

Extração de DNA - tiocianato
de guanidina

4 oligonucleotídeos (pg 3, pg
50, C 1 e C 4)

Corrida em gel de agarose a
1,0 %, 2 horas

Revelação - brometo de etídio
(0,5mg/mL)



C. jejuni (460pb e 160pb)

C. coli (460pb)

Métodos de Tipagem Epidemiológica

Serotipagem: Penner (HS) – hemaglutinação passiva – 70 sorotipos
Lior (HT) – aglutinação em lâmina – 100 sorotipos
Frost (HT) – aglutinação rápida (+ recente)

Fagotipagem: 76 fagotipos

Ribotipagem

PFGE (“pulsed-field gel eletrophoresis”)

RFLP (“restriction fragment length polymorphism”)

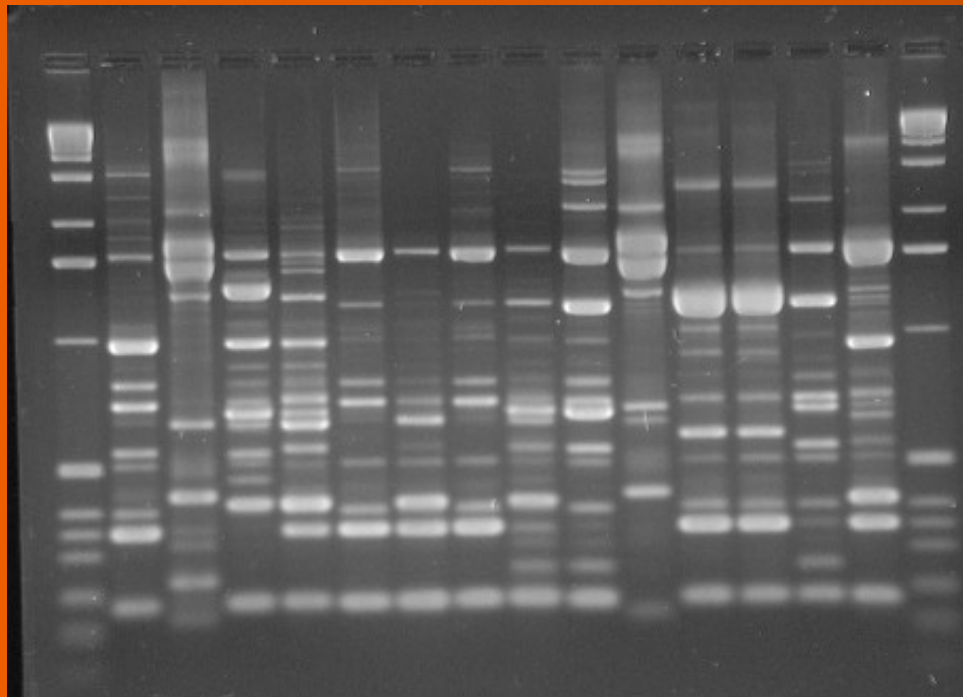
AFLP (“amplified fragment length polymorphism”)

PCR de um determinado grupo de fragmentos

RAPD (“randomly amplified polymorphic DNA”)

Tipagem epidemiológica

RAPD (“randomly amplified polymorphic”)



Perfis eletroforéticos de cepas de *Campylobacter jejuni*

Diagnóstico laboratorial de *Campylobacter* em alimentos

4. Nanobiotecnologia

Futuro?

“Chips”

Viabilidade?

Tecnologia de ponta

Detecção rápida de *Campylobacter* nos alimentos



**NA CERTEZA QUE:
JUNTOS, CHEGAREMOS LÁ!**

OBRIGADA!

Ana Luzia Lauria Filgueiras, DSc
Setor de *Campylobacter*
Laboratório de Zoonoses Bacterianas
Instituto Oswaldo Cruz / FIOCRUZ /RJ
E-mail: analu@ioc.fiocruz.br
Telefone: 21 2598-4550
Skype: ana.luzia55