

ISOLAMENTO DE *Campylobacter* EM PROPRIEDADE PLURIATIVA

THAMÍRIS PEREIRA DE MORAES¹; DÉBORA RODRIGUES SILVEIRA²;
REBECA CAMARGO PORTO³; KAUANA KAEFER⁴; CLÁUDIO DIAS TIMM⁵

¹*Universidade Federal de Pelotas – thamiris.p @outlook.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – debora.rsilveira @hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – rebeca_porto @outlook.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – kauanakaefer@gmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – timm @ufpel.tche.br*

1. INTRODUÇÃO

A pluriatividade resulta da interação entre as decisões individuais e familiares com o contexto social e econômico em que estas estão inseridas, ocorre em situações em que os membros que compõem as famílias domiciliadas nos espaços rurais combinam a atividade agrícola com outras formas de ocupação em atividades não agrícolas (SCHNEIDER et. al, 2006). No Rio Grande do Sul, esta prática é bastante comum, como estratégia de manutenção e lucratividade, mesclando a criação de diversas espécies animais em um mesmo ambiente, com a comercialização dos produtos oriundos dessas criações e também dos animais.

Muitas espécies de animais silvestres servem como reservatório de bactérias patogênicas que ameaçam a saúde humana e dos demais animais. Por outro lado, as espécies de vida livre podem se contaminar com os animais domésticos e humanos e disseminar patógenos no meio ambiente, oferecendo risco à preservação da biodiversidade (DASZAK et al., 2000).

Campylobacter spp. são isolados de aves, as quais são portadoras assintomáticas, podendo excretar de 10^4 a 10^8 células de *Campylobacter* spp. por grama de fezes (FRANCHIN et al., 2005). JAIN et al. (2008) demonstraram que as cepas de *Campylobacter* produtoras de CDT apresentam alto poder de aderência, capacidade invasiva e citotoxicidade.

Portanto, o trabalho teve como objetivo pesquisar a presença de *Campylobacter* spp. nos animais, tanto domésticos quanto silvestres, que vivem próximo aos seres humanos em uma propriedade rural pluriativa e verificar se as cepas isoladas eram portadoras dos genes responsáveis pela produção da toxina CDT.

2. METODOLOGIA

Para coleta de amostras foi selecionada uma propriedade rural, localizada no sul do Rio Grande do Sul (RS), com, no mínimo, cinco espécies diferentes de animais domésticos. Foram realizadas quatro visitas (da tarde à manhã do dia seguinte) sucessivas e em cada visita foram coletadas 20 amostras de fezes de animais domésticos, micromamíferos e aves silvestres. As coletas foram esquematizadas de modo que a captura das aves silvestres fosse realizada em dois turnos consecutivos, ao fim da tarde e na manhã seguinte. As armadilhas para micromamíferos foram colocadas no turno da noite.

As aves silvestres foram capturadas com duas redes de neblina, de 12 metros cada, colocadas em locais estratégicos na propriedade. O esforço de captura era de 8 horas por visita, sendo quatro ao fim da tarde do primeiro dia de coleta e quatro na manhã do segundo dia de coleta, sendo as redes revisadas a cada 15 minutos. Após serem retiradas das redes, cada ave foi coletada com zaragatoa estéril diretamente na cloaca e então marcada discretamente no dorso

com tinta inodora não tóxica (All-Wheather, U.S.A.), de modo a poder ser identificada caso fosse recapturada, evitando assim a duplicação de amostras. Logo após a ave ser marcada, esta era, então, solta. Elas foram taxonomicamente identificadas quanto ao gênero e espécie, de acordo com a Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (PIACENTINI et al., 2015).

As fezes dos animais domésticos, assim como os micromamíferos capturados foram coletadas com zaragatoas estéreis através do reto ou cloaca, conforme o caso. Após o procedimento de coleta, os micromamíferos eram marcados discretamente com tinta inodora não tóxica e soltos.

As zaragatoas com as amostras de fezes foram colocadas em meio de transporte Cary Blair (Himedia, Mumbai, Índia) e encaminhadas ao laboratório em caixas isotérmicas com gelo.

Para isolamento, foi utilizada técnica conforme SILVA et al. (2014). Os isolados positivos foram criopreservados a -70°C em meio de estoque específico para o micro-organismo e recuperados quando necessário.

Os DNAs para a reação em cadeia da polimerase (PCR) foram extraídos conforme recomendado por SAMBROOK e RUSSEL (2001), a partir de um *pellet* de colônias obtido diretamente das placas com as culturas.

O DNA dos isolados foi analisado através da técnica de multiplex PCR descrita por HARMON et al., (1997), com modificações, para diferenciação entre as espécies *C. jejuni* e *C. coli*. Os produtos de PCR, corados com GelRed™ (Uniscience, São Paulo, Brasil), foram visualizados em gel de agarose 1% (Panreac Química SA, Barcelona, Espanha).

Após a identificação da espécie, foi feita a pesquisa de genes de virulência também através da técnica de multiplex PCR, de acordo com MARTINEZ et al. (2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas fezes de 80 animais, 59 domésticos, dois roedores e 19 aves silvestres. Do total, dois (2,5%) foram positivos para *Campylobacter*, sendo um galo doméstico (*Gallus gallus*) e o outro um João-de-barro (*Furnarius rufus*).

O *Campylobacter* isolado das fezes do galo foi identificado como *C. jejuni*, já o isolado das fezes do *F. rufus* foi classificado apenas como *Campylobacter* spp. não tendo a confirmação de espécie, devido a dificuldades de cultivo deste micro-organismo. GOMES et al. (2006) analisaram 404 amostras de fezes de frango oriundos da criação colonial de 26 pequenas propriedades e constataram que 21 (5,2%) aves eram portadoras de *Campylobacter* spp., o que corrobora com nossos resultados de presença dele nas aves.

Campylobacter já foi reportado em aves silvestres na região sul do RS. DIAS et al. (2014) isolaram *Campylobacter* de fezes de *Chrysomus ruficapillus* e DIAS et al. (2015) isolaram este micro-organismo de *Sicalis flaveola*. No nosso trabalho, constatamos que também *F. rufus* pode albergar *Campylobacter*.

No presente estudo, ambos isolados apresentaram as toxinas, o que é condizente com MARTINEZ et al. (2006), que demonstraram que a maioria das cepas de *C. jejuni* apresentam genes *cdt* e a maioria tem atividade da toxina.

4. CONCLUSÕES

F. rufus e aves de criação domésticas (*Gallus gallus*) podem albergar *Campylobacter* spp. O que se constitui em risco de contaminação do ambiente em

que estes animais vivem, de outros animais e pessoas que entram em contato com eles.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIAS, P. A.; WILSMANN, D. E.; HEINEN, J. G.; CORSINI, C. D.; CALABUIG, C.; TIMM, C. D. *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica* e *Yersinia enterocolitica* em aves silvestres e frangos de corte. **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v.73, n.4, p. 361-64, 2014.

DIAS, P.A. ***Campylobacter* spp., *Salmonella enterica* e *Yersinia enterocolitica* em aves silvestres e frangos de corte.** 2015. 55f. Tese (Doutorado em Sanidade Animal) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. **Science**, New York, v. 287, n. 5452, p. 443-449, 2000.

FRANCHIN, P. R.; AIDOO, K. E.; BATISTA, C. R. V. Sources of poultry meat contamination with thermophilic *Campylobacter* before slaughter. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 157-162, 2005.

GOMES, F. R.; CURCIO, B. R., LADEIRA, S. R.; FERNÁNDEZ, H.; MEIRELES, M. C. A. *Campylobacter jejuni* occurrence in chicken fecal samples from small properties in Pelotas, southern of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 375-378, 2006.

HARMON, K. M; RANSOM, G. M.; WESLEY, I. V. Differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by polymerase chain reaction. **Molecular and Cellular Probes**, v. 11, n. 3, p. 195-200, 1997.

JAIN, D.; PRASAD, K.N.; SINHA, S.; HUSAIN, N. Differences in virulence attributes between cytolethal distending toxin positive and negative *Campylobacter jejuni* strains. **Journal of Medical Microbiology**, v. 57, n. 3, p. 267-272, 2008.

MARTINEZ, I.; MATEO, E.; CHURRUCA, E. et al. Detection of cdtA, cdtB, and cdtC genes in *Campylobacter jejuni* by multiplex PCR. **Int. J. Med. Microbiol.**, v.296, p.45-48, 2006.

PIACENTINI, V. Q.; ALEIXO, A.; AGNE, C.E.; MAURÍCIO, G. N.; PACHECO, J. F.; BRAVO, G. A.; BRITO, G. R. R.; NAKA, L. N.; OLIMOS, F.; POSSO, S.; SILVEIRA, L. F.; BETINI, G. S.; CARRANO, E.; FRANZ, I.; LEES, A. C.; LIMA, L. M.; PIOLI, D.; SCHUNCK, F.; AMARAL, F. R.; BENCKE, G. A.; COHN-HAFT, M.; FIGUEIREDO, L. F.; STRAUBE, F. C.; CESARI, E. Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 23, n. 2, p. 91-298, 2015.

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

SCHNEIDER, S.; CONTERATO, M. A.; KOPPE, L. R.; SILVA, C. D. A pluriatividade e as condições de vida dos agricultores familiares do Rio Grande do Sul. In: SCHNEIDER, S. **A diversidade da agricultura familiar**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. p. 137-164.

SILVA, D.T.; TEJADA, T.S.; CUNHA, C.C.; LOPES, N.A.; AGOSTINETTO, A.; COLLARES, T.; LEON, P.M.M.; TIMM, C.D. Ocorrência de *Campylobacter* em carne de frango, fezes de frango e humanas e pesquisa dos genes cdt. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Brasil, v. 66, p. 297-304, 2014.