

DETECÇÃO DA BOMBA DE EFLUXO CmeABC EM *Campylobacter jejuni* ISOLADOS DA CADEIA PRODUTIVA DE FRANGOS DE CORTE

NATALIE RAUBER KLEINUBING¹; TASSIANA RAMIRES²; LAÍS ABREU ANASTÁCIO²; LOUISE HAUBERT²; ISABELA SCHNEID KRÖNING²; VLADIMIR PADILHA DA SILVA³

¹ Universidade Federal de Pelotas – natalierk10@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – tassianaramires@gmail.com; laisabr@gmail.com; louisehaubert@hotmail.com; isabelaschneid@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – vladimir.padilha2011@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Campylobacter* são consideradas as principais causadoras de gastroenterite de origem alimentar nos países desenvolvidos (WHO, 2018), sendo *Campylobacter jejuni* responsável por cerca de 90% dos casos de doença em humanos (SZCZEPANSKA et al., 2015).

A ingestão de carne de frango está frequentemente relacionada aos casos de campilobacteriose em humanos (CDC, 2017; EFSA/ECDC, 2018), pois a temperatura corporal das aves coincide com a temperatura ótima de multiplicação de *C. jejuni*, além do intestino deste hospedeiro fornecer a característica de microaerofilia necessária para a multiplicação do patógeno (PARK, 2002). Em humanos, a campilobacteriose normalmente cursa com sintomas como diarreia, febre e dores abdominais, podendo resultar em alguns agravantes, como a Síndrome de Guillain-Barré, peritonite e bacteremia (HADDEN; GREGSON, 2001).

Apesar da maioria dos casos de campilobacteriose não necessitar de terapia com antimicrobianos, quando a doença cursar com febre alta, sintomas com duração de 11 semanas ou mais, gravidez, além de patologias que comprometam a imunidade, se faz necessário o uso de terapia antimicrobiana (ALLOS, 2001). Isso tem se tornado uma preocupação devido ao grande número de casos da doença, bem como aos crescentes relatos de resistência de *Campylobacter* spp. frente aos principais antimicrobianos utilizados (EFSA/ECDC, 2016).

Os antimicrobianos de primeira escolha para o tratamento da campilobacteriose pertencem a classe dos macrolídeos, como a eritromicina (ALLOS, 2001), seguida de macrolídeos mais recentes, como a claritromicina e azitromicina (IOVINE, 2013), podendo também ser utilizados medicamentos do grupo das tetraciclínas como alternativa no tratamento (SKIRROW; BLASER, 2000). São utilizados, ainda, medicamentos da classe das fluorquinolonas em casos onde não se faz o isolamento do agente etiológico da gastroenterite (IOVINE, 2013).

Dentre os principais mecanismos de resistência a antimicrobianos descritos em *Campylobacter* spp., destacam-se capacidade de modificar ou inibir a expressão do sítio de ligação do antimicrobiano; alteração da permeabilidade da membrana; modificação ou alteração do princípio ativo e presença de bombas de efluxo (IOVINE, 2013; WIECZOREK; OSEK, 2013). Em *Campylobacter* spp., o operon *cmeABC* codifica para a principal bomba de efluxo, composta por uma proteína de membrana externa (codificada pelo gene *cmeC*), um transportador interno de membrana (codificado pelo gene *cmeB*) e uma proteína periplasmática (codificada pelo gene *cmeA*). Este mecanismo contribui para a resistência a múltiplas classes de antimicrobianos, como as fluorquinolonas, betalactâmicos,

macrolídeos, tetraciclinas, metais pesados e sais biliares (IOVINE, 2013; WHITEHOUSE et al., 2018)

Frente ao exposto, o objetivo deste estudo foi detectar a presença dos genes que compõem o operon *cmeABC* em isolados de *C. jejuni* provenientes da cadeia produtiva de frangos de corte da região sul do Rio Grande do Sul.

2. METODOLOGIA

Foram avaliados 29 isolados de *C. jejuni* provenientes de diferentes pontos da cadeia produtiva de frangos de corte no sul do Rio Grande do Sul: cloaca de frangos, cama do aviário, lotes de frangos abatidos, suas respectivas carcaças, ambiente e equipamentos da linha de abate de frangos, bem como de carne e vísceras de frango resfriadas e comercializadas.

O DNA genômico foi extraído de acordo com SAMBROOK e RUSSEL (2012), a partir de um cultivo em ágar sangue nº 2 (Accumedia) adicionado de 5% de sangue equino lisado e desfibrinado. A presença dos genes que compõem o operon *cmeABC* foi avaliada por meio de *Polimerase Chain Reaction* (PCR). Para a identificação do gene *cmeA* e *cmeC*, foram amplificados fragmentos de 435 pb e 431 pb, respectivamente, por PCR, de acordo com o descrito por OLAH et al. (2006). Para o gene *cmeB*, foi amplificado um produto de 1070 pb, por PCR, utilizando-se o método descrito por CORCORAN et al. (2005).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de isolados de *C. jejuni* avaliados (n=29), 90% (n=26) apresentaram o gene *cmeA*, enquanto o gene *cmeB*, que codifica para a porção ativa da bomba de efluxo, foi encontrado em 93% dos isolados (n=27). Já o gene *cmeC* foi detectado em 100% dos isolados (n=29) (Figura 1).

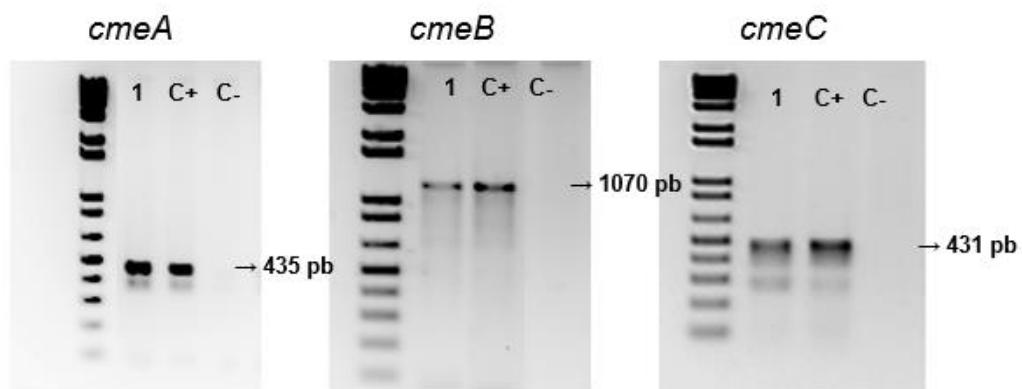


Figura 1. Detecção dos genes *cmeA*, *cmeB* e *cmeC* em isolados de *Campylobacter jejuni*. 1: Isolado de *Campylobacter jejuni*; C+: Controle positivo (*Campylobacter jejuni* strain 100); C-: controle negativo (*Campylobacter jejuni* ATCC® 33291).

A detecção dos genes que compõem a bomba de efluxo CmeABC em isolados de *C. jejuni* da cadeia produtiva de frangos de corte é preocupante, pois essa bomba de efluxo tem potencial de conferir resistência às principais classes de antimicrobianos utilizadas na terapêutica da campilobacteriose, bem como a metais pesados (IOVINE, 2013; WIECZOREK; OSEK, 2013; WHITEHOUSE et al., 2018).

Os resultados do presente estudo corroboram os resultados obtidos por HUNGARO et al. (2015), que detectaram a presença dos genes *cmeA*, *cmeB* e *cmeC*, respectivamente, em 90% (n=18), 100% (n=20) e 95% (n=19) dos isolados de *C. jejuni* e *C. coli* provenientes de carcaças de frangos no estado de Minas Gerais. Resultados inferiores foram obtidos por DIVSALAR et al. (2019), em um estudo realizado no Irã, onde identificaram o gene *cmeB* em 57% dos isolados de *C. jejuni* oriundos de frangos e carne de frango.

Segundo HUNGARO et al. (2015) a ausência da proteína de membrana externa (codificada pelo gene *cmeC*) e da proteína periplasmática (codificada pelo gene *cmeA*) não tem efeito sobre a ação da bomba de efluxo CmeABC, desta forma, somente o gene *cmeB* (responsável por codificar o transportador interno de membrana) é considerado indispensável para a ação da bomba de efluxo.

A alta ocorrência do operon *cmeABC* detectada nesse estudo sugere que os isolados de *C. jejuni* oriundos da cadeia produtiva de frangos de corte da região do sul do Rio Grande do Sul possuem potencial para expressar resistência a antimicrobianos, podendo assim disseminar essa resistência ao longo da cadeia produtiva, chegando ao consumidor final.

4. CONCLUSÕES

Os genes que codificam para a bomba de efluxo CmeABC foram detectados nos isolados de *C. jejuni* provenientes da cadeia produtiva de frangos de corte da região sul do Rio Grande do Sul, denotando a importância do monitoramento da resistência a antimicrobianos nesse importante patógeno de origem alimentar, bem como a necessidade de mais estudos acerca desse mecanismo de resistência, capaz de conferir resistência a múltiplos princípios antimicrobianos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLOS, B. M. *Campylobacter jejuni* infections: Update on Emerging Issues and Trends. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 8, p. 1201–1206, 2001.

CDC, Center for Disease Control and Prevention. **Campylobacter**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/campylobacter/symptoms.html>>.

CORCORAN, D.; QUINN, T.; COTTER, L.; O'HALLORAN, F.; FANNING, S. Characterization of a cmeABC operon in a quinolone-resistant *Campylobacter coli* isolate of Irish origin. **Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)**, v. 11, n. 4, p. 303–308, 2005.

DIVSALAR, G. et al. Antimicrobial Resistances, and Molecular Typing of *Campylobacter Jejuni* Isolates, Separated from Food-Producing Animals and Diarrhea Patients in Iran. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 65, n. June, p. 194–200, 2019.

EFSA/ECDC. European Food Safety Authority/Center for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in Zoonotic and Indicator Bacteria from Humans, Animals and Food in 2014. **EFSA Journal**, v. 14, n. 2, 2016.

EFSA/ECDC, European Food Safety Authority/Center for Disease Prevention and

Control. European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in Zoonotic and Indicator Bacteria from Humans, Animals and Food 2012 Published. **EFSA Journal**, v. 19, n. 12, 2018.

HADDEN, R. D. M., GREGSON, N. A. Guillain-Barre syndrome and *Campylobacter jejuni* infection. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, n.30, p. 145-154, 2001.

HUNGARO, H. M.; MENDONÇA, R. C. S.; ROSA, V. O.; BADARÓ, A. C. L.; MOREIRA, M. A. S.; CHAVES, J. B. P. Low contamination of *Campylobacter* spp. on chicken carcasses in Minas Gerais state, Brazil: Molecular characterization and antimicrobial resistance. **Food Control**, v. 51, p. 15–22, 2015.

IOVINE, N. M. Resistance Mechanisms in *Campylobacter jejuni*. **Virulence**, v. 4, n. 3, p. 230–240, 2013.

OLAH, P. A.; DOETKOTT, C.; FAKHR, M. K.; LOGUE, C. M. Prevalence of the *Campylobacter* multi-drug efflux pump (CmeABC) in *Campylobacter* spp. Isolated from freshly processed Turkeys. **Food Microbiology**, v. 23, n. 5, p. 453–460, 2006.

PARK, S. F. The Physiology of *Campylobacter* Species and Its Relevance to Their Role as Foodborne Pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, n. 3, p. 177–188, 2002.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. Molecular Cloning. In: GREEN, M. R.; SAMBROOK, J. (Ed.). **Molecular cloning: A laboratory Manual**. Fourth ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012. p. 2028.

SKIRROW, M. B.; BLASER, M. J. Clinical aspects of *Campylobacter* infection. In: ***Campylobacter jejuni: current strategy and future***. Washington, DC: ASM Press, 2000. p. 69–88.

SZCZEPANSKA, B.; KAMINSKI, P.; ANDRZEJEWSKA, M.; SPICA, D.; KARTANAS, E.; ULRICH, W. Prevalence, virulence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in White stork Ciconia ciconia in Poland. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 12, p. 24-31, 2015.

WHITEHOUSE, C. A.; ZHAO, S.; TATE, H. **Antimicrobial Resistance in Campylobacter Species: Mechanisms and Genomic Epidemiology**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2018. v. 103.

WHO, World Health Organization. **Campylobacter**. 2018. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>>.

WIECZOREK, K.; OSEK, J. Antimicrobial Resistance Mechanisms among *Campylobacter*. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1–12, 2013.