



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

**ANTIBIORRESISTÊNCIA EM ESTIRPES DE *CAMPYLOBACTER*SPP. ISOLADAS EM
FRANGOS NUM MATADOURO EM PORTUGAL**

ANA CRISTINA FIGUEIREDO BORGES

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutor António Salvador Ferreira Henriques Barreto

Doutora Maria Constança Matias Ferreira Pomba

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

ORIENTADOR

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

2009

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

**ANTIBIORRESISTÊNCIA EM ESTIRPES DE *CAMPYLOBACTER*SPP. ISOLADAS EM
FRANGOS NUM MATADOURO EM PORTUGAL**

ANA CRISTINA FIGUEIREDO BORGES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR

CONSTITUIÇÃO DO JURI

Doutor António Salvador Ferreira Henriques Barreto
Doutora Maria Constança Matias Ferreira Pomba
Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

ORIENTADOR

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

2009

LISBOA

AGRADECIMENTOS

A realização desta tese de mestrado em Segurança Alimentar é o culminar de um trabalho iniciado há 2 anos. Apesar de ser um objectivo pessoal, o alcançar desta etapa não teria sido possível sem o apoio de todos os que me rodearam ao longo deste percurso. Assim, é chegada a altura de expressar os meus sinceros agradecimentos:

Aos meus pais, por acreditarem em mim e por me apoiarem e tomarem este meu objectivo possível. À minha maninha, obrigada pelo apoio e cumplicidade.

À Prof. Doutora Maria João Fraqueza, obrigada por ter aceite ser a minha orientadora, pelos conhecimentos transmitidos e por todo o apoio facultado ao longo da realização deste trabalho.

Ao corpo docente e aos colegas do Mestrado em Segurança Alimentar da Faculdade de Medicina Veterinária, obrigada pela preciosa transmissão de conhecimentos.

RESUMO

Antibiorresistência em estirpes de *Campylobacter* spp. isoladas em frangos num matadouro em Portugal

Este trabalho teve como objectivo avaliar a susceptibilidade a antibióticos de várias estirpes de *Campylobacter* spp. isoladas de amostras de frangos recolhidas num matadouro português em 2008. Considerando a rastreabilidade do lote ao nível do matadouro, foram recolhidas amostras de intestino (ceco), carcaça (pele de pescoço) e de carne de peito num matadouro de frangos em diferentes dias de trabalho e, um conjunto de 78 estirpes isoladas e identificadas como *C. coli* e *C. jejuni* foram testadas quanto à sua susceptibilidade a 11 antibióticos diferentes (método de difusão em disco). *C. coli* foi mais frequentemente isolado em amostras de ceco enquanto que a *C. jejuni* foi mais frequentemente isolado em amostras de carne de peito. Foi detectada uma elevada frequência de resistência a fluoroquinolonas entre as estirpes de *Campylobacter* spp. testadas, em particular para as estirpes de *C. coli* (100% de resistência a norfloxacina, ofloxacina, ácido nalidíxico e ciprofloxacina). Mais de 60% das estirpes isoladas demonstraram resistência a tetraciclina e ampicilina. Neste estudo, *C. coli* demonstrou frequência de resistência superiores para eritromicina (46.9%) que as estirpes de *C. jejuni* (20.7%). Quase todas as estirpes isoladas demonstraram susceptibilidade à amoxicilina potenciada com ácido clavulânico. Os antibióticos cloranfenicol e gentamicina demonstraram serem activos contra as estirpes de *Campylobacter* spp. testadas.

Palavras-chave: *Campylobacter* spp., *C. jejuni*, *C. coli*, Antibiorresistência, Fluoroquinolonas, Macrólidos.

ABSTRACT

Antimicrobial resistance among *Campylobacter*spp. strains isolated from Portuguese poultry at slaughterhouse level

The aim of work was to evaluate the antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. strains isolated from poultry samples at a Portuguese slaughterhouse in 2008. Considering flocks' traceability, sampling was performed for intestine (caecum), carcass (neck skin) and breast meat at a poultry slaughterhouse in different days of work and a collection of 78 strains isolated and identified as *C. coli* and *C. jejuni* were tested for susceptibility to 11 antimicrobial agents (disk diffusion method). *C. coli* was more frequently isolated from caecum samples and *C. jejuni* from breast meat samples. An extremely high frequency of fluoroquinolone resistance was detected among *Campylobacter* strains, particularly for *C. coli* (100% resistant to norfloxacin, ofloxacin, nalidixic acid and ciprofloxacin). More than 60% of the isolated strains showed resistance to tetracycline and ampicillin. In this study, *C. coli* strains showed a higher level of resistance to erythromycin (46.9%) than *C. jejuni* strains (20.7%). Almost all isolated strains were sensitive to amoxicillin+clavulanic acid. Chloramphenicol and gentamicin were active against both *C. coli* and *C. jejuni*.

Index Terms– *Campylobacter*spp., *C. coli*, *C. jejuni*, Antimicrobial resistance
Fluoroquinolones, Macrolides

ÍNDICE

| | |
|---|-----|
| Capa | i |
| Folha de rosto | ii |
| Declaração condições de reprodução da tese | iii |
| Agradecimentos | iv |
| Resumo | v |
| Abstract | vi |
| Índice | vii |
| Lista de figuras | ix |
| Lista de tabelas | x |
| Lista de abreviaturas | xi |
| Dissertação | 1 |
| Introdução | 1 |
| 1.Revisão bibliográfica | 3 |
| 1.1 <i>Campylobacter</i> spp . - perspectiva microbiológica | 3 |
| 1.2 Infecção por <i>Campylobacter</i> spp. em humanos | 4 |
| 1.3 Infecção por <i>Campylobacter</i> spp. em animais | 7 |
| 1.4 Epidemiologia | 7 |
| 1.5 <i>Campylobacter</i> spp. no contexto Europeu | 10 |
| 1.6 <i>Campylobacter</i> spp. caracterização do posicionamento Português | 16 |
| 1.7 <i>Campylobacter</i> spp. e resistência a antibióticos | 16 |
| 1.7.1 Resistência a fluoroquinolonas | 22 |
| 1.7.2 Resistência a macrólidos | 24 |
| 1.7.3 Resistência ao cloranfenicol | 26 |
| 1.7.4 Resistência às sulfonamidas | 26 |
| 1.7.5 Resistência aos tetraciclinas | 26 |
| 1.7.6 Resistência a trimetoprim | 27 |
| 1.7.7 Resistência a aminoglicosídeos | 27 |
| 1.7.8 Resistência ao -lactâmicos | 27 |
| 1.7.9 Multirresistência | 28 |
| 1.8 Métodos para isolamento e caracterização de <i>Campylobacter</i> spp. | 29 |
| 1.8.1 Isolamento de <i>Campylobacter</i> spp. | 30 |

| | |
|--|----|
| 1.8.2 Incubação | 30 |
| 1.8.3 Identificação de <i>Campylobacter</i> spp. ao nível da espécie | 31 |
| 1.8.4 Métodos baseados em genética molecular | 32 |
| 1.8.5 Testes imunológicos | 32 |
| 1.9 Testes de susceptibilidade a antibióticos | 32 |
| 2. Parte Experimental | 34 |
| 2.1 Objectivos do trabalho | 34 |
| 2.2 Material e métodos | 34 |
| 2.2.1 Isolados bacterianos | 34 |
| 2.2.2 Antibióticos utilizados | 34 |
| 2.2.3 Teste de susceptibilidade a antibióticos | 35 |
| 2.2.4 Análise estatística | 36 |
| 2.3 Apresentação dos resultados | 36 |
| 2.4 Discussão | 40 |
| 2.5 Conclusões | 48 |
| 2.6 Perspectivas futuras | 49 |
| Referências Bibliográficas | 50 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Vias de transmissão da Campilobacteriose (adaptado de Young et al., 2007) – pág. 8
- Figura 2** – Taxa de notificação de zoonoses em casos confirmados de humanos no contexto da UE durante o ano de 2007 (adaptado de: EFSA zoonoses, 2009) – pág. 11
- Figura 3** - Agentes etiológicos de surtos de toxinfecções alimentares no contexto da UE (Adaptado de: EFSA toxinfecções , 2009) – pág. 12
- Figura 4** - Número de casos confirmados de campilobacteriose em humanos reportados por mês no ano de 2007 (adaptado de EFSA zoonoses, 2009) – pág. 14
- Figura 5** - Distribuição das estirpes de *Campylobacter* isoladas em frangos, suínos e bovinos, 2007 (adaptado de EFSA zoonoses, 2009) – pág. 15
- Figura 6** - Mecanismos de resistência a antimicrobianos apresentados por bactérias (adaptado de EFSA, 2005) – pág. 17
- Figura 7** – Halos de inibição apresentados por uma das estirpes de *Campylobacter* spp. testadas – pág. 35

LISTA DE TABELAS

| TABELA | Pag. |
|---|-----------|
| Tabela 1 – Casos de campilobacteriose reportados em humanos entre 2003 e 2007 e taxas de notificação para o ano de 2007 (adaptado de EFSA zoonoses, 2009) | 13 |
| Tabela 2 - Distribuição do número de casos de campilobacteriose confirmados em humanos pela origem (domésticos/importados) no ano de 2007 (adaptado EFSA zoonoses, 2009) | 13 |
| Tabela 3 - Distribuição dos isolamentos por estirpe de <i>Campylobacter spp</i> em amostras de humanos no ano de 2007 (adaptado EFSA zoonoses, 2009) | 14 |
| Tabela 4 – Testes de confirmação para <i>Campylobacter</i> spp. (adaptado de OIE, 2008) | 31 |
| Tabela 5 - Características fenotípicas de estirpes de <i>Campylobacter</i> spp. responsáveis por toxinfecções em humanos (adaptado de OIE, 2008) | 32 |
| Tabela 6 - Número e frequência de estirpes de <i>Campylobacter</i> isoladas em frangos resistentes a vários antibióticos | 37 |
| Tabela 7 – Frequência de isolamento de <i>C. coli</i> e <i>C. jejuni</i> /por tipo de amostra | 37 |
| Tabela 8 – Distribuição (%) das estirpes de <i>Campylobacter</i> spp. resistentes de acordo com o tipo de amostra (ceco, pele de pescoço e peito) | 38 |
| Tabela 9 - Distribuição (%) das estirpes de <i>Campylobacter</i> spp. de acordo com o bando de origem | 39 |
| Tabela 10 - Distribuição (%) das estirpes de <i>Campylobacter</i> spp. resistentes de acordo com o bando de origem | 39 |
| Tabela 11 - Distribuição (%) das estirpes de <i>Campylobacter</i> spp. que apresentam resistência a vários antibióticos | 40 |

LISTA DE ABREVIATURAS

EFSA - *European Food Security Authority*

EM - Estados membros

MSFFG - *Microbiological Safety of Food Funders Group*

SGB - Síndrome de Guillain-Barré

PCR - Reacção de polimerase em cadeia

ICMSF - *International Commission on Microbiological Specifications of Foods*

OIE - *Office International des Epizooties*

ECDC - Centro de prevenção e controlo de doenças

UE - União Europeia

LNIV - Laboratório Nacional de Investigação Veterinária

ISO - *International Organization for Standardization*

TSA - Teste de susceptibilidade a antibióticos

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

NCCLS - *National Committee Clinical Laboratory Standards*

CLSI - *Clinical and Laboratory Standards Institute*

MIC - Concentrações mínimas inibitórias

WHO - *World Health Organization*