

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA E MOLECULAR DE *Campylobacter* TERMÓFILOS

Alves, L.^{1*}; Voss-Rech, D.²; Vaz, C. S. L.³

¹Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade do Contestado, Campus Concórdia, Estagiária da Embrapa Suínos e Aves, Bolsista CNPq/ITI. E-mail: luluka_24@hotmail.com

²Analista da Embrapa Suínos e Aves

³Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves

Palavras-chave: *Campylobacter*, identificação bioquímica, macrorestrição de DNA, PFGE.

Introdução

O *Campylobacter* é uma bactéria conhecida há mais de cem anos (3). Tem forma de bacilos curvos ou espiralados, com característica forma de “S” ou “asa de gaivota”, são móveis, Gram-negativos e crescem em microaerofilia específica de 85% de N₂, 5% de O₂ e 10% de CO₂ (1), e temperatura ótima de 41,5°C (2). São um dos principais causadores de gastroenterites veiculadas por alimentos em humanos, já que são comumente encontrados no trato digestivo de diversas espécies animais, especialmente as aves. As espécies termófilas são as mais conhecidas, das quais se destacam: *C. coli*, *C. lari* e *C. jejuni*. Técnicas moleculares e bioquímicas em conjunto com o isolamento bacteriológico vem sendo empregadas para caracterizar essas bactérias. Este trabalho teve como objetivo obter a caracterização bioquímica e molecular de isolados de *Campylobacter* sp.

Material e Métodos

Foram analisados 17 isolados de *Campylobacter* termófilos pertencentes à Bacterioteca da Embrapa Suínos e Aves. As provas bioquímicas foram realizadas conforme descrito (2). Para a macrorestrição do DNA as bactérias foram cultivadas em ágar seletivo a 37°C/48h. Uma suspensão padronizada do cultivo foi preparada em tampão de suspensão e homogeneizada com agarose de baixo ponto de fusão para obtenção dos blocos, que foram lisados sob agitação (56°C/2h) e lavados em água ultra-pura seguido de quatro lavagens em Tampão Tris-EDTA sob agitação (56°C/20min). Os DNAs nos blocos foram digeridos com 40U de *Sma*I (25°C/2h) e transferidos para gel de agarose 1,2%. Os fragmentos da restrição foram separados por PFGE em TBE 0,5X à 14°C no CHEF Mapper XA (BioRad) com pulsos alternados entre 6,75s e 35,38s a 6V/s/20h. O gel foi corado com brometo de etídio e a imagem registrada sob luz ultravioleta. Os padrões de macrorestrição obtidos foram comparados pelo software Bionumerics 6.1 (Applied Maths) com similaridade calculada pelo coeficiente de Dice e o dendrograma gerado pela análise de cluster pelo UPGMA. Como controle foi utilizado *C. fetus fetus*.

Resultados e Discussão

As provas bioquímicas permitiram identificar as espécies de *Campylobacter*, exceto nas amostras 04 e 11 que apresentaram resultados atípicos para hidrólise do hipurato e do acetato de indoxil (Tabela 1). Foram encontrados diferentes perfis de PFGE nos isolados analisados, demonstrando uma alta diversidade genotípica em *Campylobacter*. Os isolados 04 e 06; e 02 e 03 apresentaram padrões genotípicos idênticos, respectivamente (Figura 1).

Tabela 1. Características bioquímicas identificadas em *Campylobacter* sp.

Amostra	Catalase	Oxidase	Hidrólise Hipurato	Indoxil acetato	Interpretação
01	+	+	+	+	<i>C. jejuni</i>
02	+	+	+	+	<i>C. jejuni</i>
03	+	+	-	+	<i>C. coli</i>
04	+	+	+	-	Inconclusivo
05	+	+	+	+	<i>C. jejuni</i>
06	+	+	+	+	<i>C. jejuni</i>
07	+	+	+	+	<i>C. jejuni</i>
08	+	+	+	+	<i>C. jejuni</i>
09	+	+	+	+	<i>C. jejuni</i>
10	+	+	-	+	<i>C. coli</i>
11	+	+	+	-	Inconclusivo
12	+	+	+	+	<i>C. jejuni</i>
13	+	+	-	+	<i>C. coli</i>
14	+	+	+	+	<i>C. jejuni</i>
15	-	+	-	+	<i>C. upsaliensis</i>
16	+	+	-	-	<i>C. lari</i>
17	+	+	-	-	<i>C. lari</i>

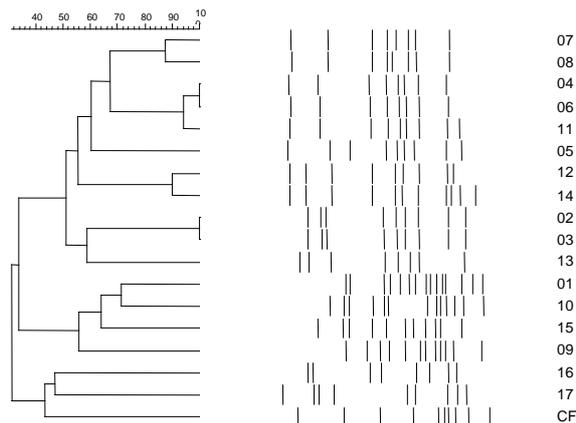


Figura 1. Similaridade entre os isolados de *Campylobacter* analisados por PFGE. CF= *C. fetus fetus* (controle).

Conclusões

A caracterização bioquímica auxilia na identificação das espécies de *Campylobacter* termófilos. A bactéria apresenta diversidade genotípica, porém isolados de espécies diferentes podem apresentar o mesmo perfil de PFGE.

Referências

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e Identificação de Bactérias de Importância Médica.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em 03/08/2009.
2. **International Organization for Standardization.** 2006. 10272- 1: Microbiology of food and animal feeding stuffs- horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp.
3. KUANA, S.L. ***Campylobacter* na avicultura.** In: V Simpósio de Sanidade Avícola da UFSM, 82-89, 2006.