

PRODUTIVIDADE DE DIFERENTES MEIOS DE CULTURA PARA CRESCIMENTO DE *Campylobacter coli* e *Campylobacter jejuni*.

Kelly Megumi Hashimoto ¹; Gabriela Viana da Silva ² e Rosa Helena Luchese ³.

1. Bolsista PIBIC, Discente do Curso de Engenharia de Alimentos, IT-DTA/UFRRJ; 2. Doutoranda do Programa de pós graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, IT-DTA/UFRRJ 3. Professora Doutora do IT-DTA/UFRRJ.

Palavras-chave: ágar Brucella, ágar Columbia, sangue, carvão e antibiótico.

Introdução

Campylobacter é uma bactéria gram negativa, não esporulada, oxidase positiva, microaerófila e é patogênica. Algumas espécies como o *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter upsaliensis* são termotolerantes e possuem temperatura de crescimento ótimo em 42 °C

O *Campylobacter* é um microrganismo fastidioso, seu isolamento demanda condições como microaerofilia (10% CO₂, 6% O₂, 84% N₂) e os meios sólidos para plaqueamento seletivo são formulados com agentes redutores de oxigênio, extinguindo os ânions superóxidos e peróxidos, como solução de FBP (bissulfito de sódio, sulfato ferroso e piruvato de sódio), carvão ativado ou sangue desfibrinado que aumentam a tolerância do *Campylobacter* ao oxigênio. Também são adicionadas combinações de antibióticos para redução da flora competidora.

Os meios para isolamento do *Campylobacter* são diversos, podendo ser citado o ágar Brucella, o ágar Columbia, ágar CCDA (*Campylobacter* charcoal diferencial agar), *Campylobacter* ágar base, dentre outros.

O presente trabalho tem como objetivo selecionar o melhor meio para crescimento de *Campylobacter coli* e *Campylobacter jejuni* utilizando ágar Columbia e ágar Brucella adicionados de suplemento FBP e combinações dos outros agentes redutores de oxigênio bem como a adição ou não de antibióticos.

Metodologia

Foi realizado o método ecométrico, que permite uma análise razoavelmente precisa das propriedades produtivas do meio utilizados. Nesse método as placas com o meio são divididas em quatro quadrantes nos quais possuem cinco linhas paralelas e uma última linha no centro da placa. São feitas estrias nas linhas, sem flambar e seguindo uma ordem, com as culturas ativadas e em seguida incubadas. Atribuiu-se 0,2 para cada linha completa de crescimento e 1,0 para a linha central, totalizando 5.

Os microrganismos utilizados foram: *Campylobacter coli* (ATCC 33559), *Campylobacter jejuni* (ATCC 33560), cepas de referências cedidas pela Fiocruz que foram ativadas no laboratório de microbiologia de alimentos da UFRRJ.

Os meios utilizados foram ágar Columbia (Difco) adicionado de 5% de suplemento FBP (bissulfito de sódio, sulfato ferroso e piruvato de sódio) mais 0,4% de carvão ativado ou 5% de sangue de carneiro desfibrinado. E ágar Brucella (Difco) adicionado de 5% de suplemento FBP mais 0,4% de carvão ativado ou 5% de sangue de carneiro desfibrinado.

Em todas as combinações foram realizados testes sem e com 0,5% de solução de antibióticos (Cefalotina, Lactato de trimetropim, Vancomicina, Acti-dione, Colistina).

As amostras foram incubadas em estufa à 42 °C por 48 horas, sob condição de microaerofilia gerada pela passivação do cobre.

Resultados e Discussão

Em todos os testes realizados sem a presença de antibióticos, o índice de crescimento absoluto foi 5, o valor máximo. Para crescimento de cepas de referência de *Campylobacter* sp. é mais prático a utilização do carvão ativado do que o sangue. O carvão ativado, por ser um produto industrializado, possui um padrão do ponto de vista químico, tem prazo de validade longo e pode ser esterilizado junto o meio, o que não ocorre com o sangue, que pode ser facilmente contaminado e possui um prazo de validade curto. Para crescimento de *Campylobacter* em material fecal, por exemplo, é necessário acréscimo de suplemento seletivo (antibióticos) visto que o mesmo inibe a flora competidora do *Campylobacter* presente no material.

Nas combinações nas quais foram adicionados 0,5% de antibióticos, o que apresentou melhor produtividade foi o ágar Brucella adicionado de 5% de suplemento FBP e 5% de sangue desfibrinado. A combinação de ágar Brucella com 5% de suplemento FBP e 0,4% de carvão ativado apresentou crescimento muito baixo. E a combinação de ágar Columbia com 5% de suplemento e 5% de sangue não apresentou crescimento. O sangue tornou o meio mais propício para crescimento do *Campylobacter* na presença de antibióticos.

Conclusão

O ágar Brucella com 5% de suplemento FBP, 5% de sangue e 0,5% de antibiótico foi o melhor meio para crescimento de *Campylobacter*. O sangue permitiu melhor crescimento quando comparado ao carvão e o antibiótico utilizado para inibição da flora que compete com o *Campylobacter*, quando a amostra é de material fecal, por exemplo, não inibe seu crescimento.

Referências Bibliográficas

FRANCO, R. M. Isolation of *Campylobacter jejuni* in food. Different methods. Rev. bras. ciênc. vet. 2(3):91-96, set./dez. 1995.

GHARST, G.; OYARZABAL, O.A.; HUSSAIN, S.K. Review of current methodologies to isolate and identify *Campylobacter* spp. from foods. Journal of Microbiological Methods 95 84–92, 2013.

JANEZ, N.; CARRILLO, C. L. Use of phages to control *Campylobacter* spp. Journal of Microbiological Methods 95 pp.68–75, 2013.

YOO, J. H *et al.* Development of a selective agar plate for the detection of *Campylobacter* spp. in fresh produce. International Journal of Food Microbiology 189 pp. 67–74, 2014.