

artigos breves\_ n. 7

Infeções Gastrointestinais

## A infeção humana por *Campylobacter* em Portugal: alguns dados epidemiológicos

Andreia Duarte<sup>1,2</sup>, Andreia Santos<sup>1</sup>, João Benoliel<sup>1</sup>,  
Fernanda Domingues<sup>2</sup>, Mónica Oleastro<sup>1</sup>.

monica.oleastro@insa.min-saude.pt

(1) Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais.  
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

(2) Centro de Investigação em Ciências da Saúde (CICS-UBI),  
Universidade da Beira Interior.

### Introdução

A infeção por *Campylobacter* spp., sobretudo por *Campylobacter jejuni*, é considerada, nos países industrializados, a causa mais frequente de gastroenterite aguda nos humanos, excedendo mesmo as infeções causadas por espécies de *Salmonella*, *Shigella* ou *Escherichia coli* enteropatogénica. Outro dado importante é a tendência crescente desta infeção, verificada nos últimos anos na Europa, comparativamente com os casos de Salmonelose que têm vindo a decrescer, segundo um relatório que incluiu dados de 24 estados membros, no período entre 2006 e 2010<sup>(1)</sup>.

O quadro clínico associado à infeção por *Campylobacter* traduz-se maioritariamente por diarreias inflamatórias acompanhadas de febre e dores abdominais. Apesar de na maioria dos casos ser uma infeção auto-limitada, podem surgir graves complicações como septicémias, infeções extraintestinais e sequelas neurológicas, como a síndrome de Guillain-Barré<sup>(2)</sup>. Está bem estabelecido que a principal fonte de infeção é o consumo ou manipulação de alimentos contaminados, sobretudo carne de aves<sup>(3)</sup>.

Em Portugal, os estudos sobre a prevalência desta doença são escassos e de carácter muito regional, sendo o panorama nacional desconhecido. A partir de 2009 foi constituído um grupo de trabalho nacional<sup>(\*)</sup>, coordenado pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), para o estudo da *Campylobacter* humana, que conta atualmente com a participação ativa de 17 laboratórios, maioritariamente laboratórios hospitalares, com uma considerável cobertura geográfica. Cada laboratório, que realiza sistematicamente a

pesquisa de *Campylobacter* em amostras fecais, envia para o INSA parte das estirpes isoladas, juntamente com alguma informação epidemiológica, permitindo assim fazer a caracterização das mesmas, incluindo vigilância da resistência aos antibióticos.

Neste trabalho, são divulgados alguns dados referentes à epidemiologia da infeção por *Campylobacter* em Portugal, tendo como base as estirpes clínicas obtidas através deste grupo de trabalho.

### Métodos

As estirpes clínicas foram identificadas ao nível da espécie por PCR em Tempo-real com sondas de hibridação. Nos casos onde não foi possível obter identificação, foi realizado um PCR para o gene que codifica o 16S rRNA, seguido de sequenciação.

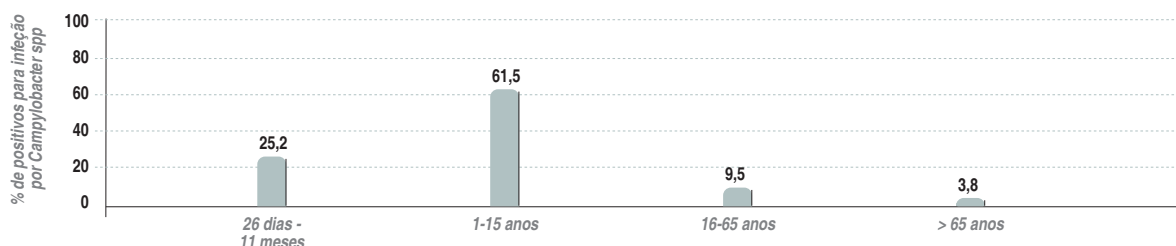
A concentração mínima inibitória (CMI) de sete antibióticos (ácido nalidíxico, amoxicilina, ciprofloxacina, doxiciclina, eritromicina, gentamicina e tetraciclina) foi determinada pelo método de diluição em agar, segundo as recomendações padrão. A suscetibilidade antimicrobiana foi interpretada de acordo com os valores epidemiológicos estabelecidos pelo *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST, 2012). As estirpes foram genotipadas por *Multi Locus Sequencing Typing* (MLST), por amplificação por PCR de sete genes *housekeeping* (*aspA*, *glnA*, *gltA*, *glyA*, *pgm*, *tkt* e *uncA*)<sup>(4)</sup>. Os produtos de PCR foram purificados e sequenciados e os tipos de sequências e complexos clonais foram identificados utilizando o banco de MLST para *Campylobacter* (<http://pubmlst.org/campylobacter>).

### Resultados

Entre 2009 e 2012, foram analisadas 837 estirpes, das quais 84,5% foram identificadas como *C. jejuni*, 14,8% *C. coli*, 0,2% *C. upsaliensis*, 0,1% *C. concisus*, e em 0,2% das amostras foi identificado *Arcobacter butzleri*.

A distribuição das estirpes por grupo etário foi a seguinte: idade entre 26 dias e 11 meses, 208 (25,2%); entre 1 e 15 anos, 507 (61,5%); entre 16-65 anos, 78 (9,5%); idade >65 anos, 31 (3,8%), sendo a infeção mais frequente no género masculino (59,3%) (Gráfico 1).

Gráfico 1: Distribuição das estirpes de *Campylobacter* spp por grupo etário.



→ continua

artigos breves\_ n. 7

Em relação à resistência aos antibióticos e tipagem molecular, foram estudadas um total de 125 estirpes, 78 *C. jejuni* e 47 *C. coli*. No geral, foi observada uma elevada taxa de estirpes resistentes (Tabela 1), sendo as estirpes de *C. coli* mais resistentes do que as estirpes de *C. jejuni*. Todas as estirpes foram resistentes ao ácido nalidíxico, 92,8% foram resistentes às fluoroquinolonas e 76% resistentes à tetraciclina/doxiciclina. De realçar ainda a elevada prevalência de estirpes multirresistentes (resistentes a pelo menos 3 antibióticos estruturalmente não relacionados), que foi de 87,2%, bem como o aparecimento de 2 (1,6%) estirpes *C. coli* resistentes à gentamicina.

Comparando o período do presente estudo (2009-12) e o período entre 1984-89, para os quais existe informação disponível para *Campylobacter* de origem humana em Portugal, observa-se um considerável aumento de estirpes resistentes aos antibióticos (5) (Gráfico 2).

Em relação à genotipagem por MLST, cada estirpe é caracterizada por uma sequência tipo, que resulta do conjunto dos alelos obtidos para os sete genes *housekeeping*. As estirpes que partilham pelo menos quatro de sete alelos idênticos são consideradas mais próximas, e como pertencendo ao mesmo complexo clonal (CC). No geral, observou-se que as estirpes de *C. coli* são mais conservadas, pertencendo todas ao CC-828, enquanto os isolados *C. jejuni* foram distribuídos em 15 CCs diferentes. Entre as estirpes estudadas, foram identificadas 19 sequências tipo, ainda sem designação na base internacional de MLST para *Campylobacter*. Aparentemente, não foi observada nenhuma relação entre o fenótipo de resistência e o genótipo das estirpes.

Tabela 1: Resistência a diversos antibióticos de estirpes de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* de origem humana, isoladas em Portugal, entre 2009-2012.

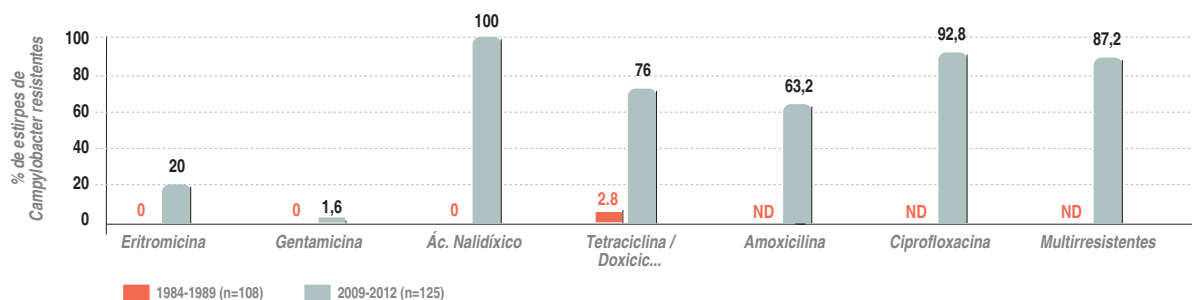
Antibióticos	Intervalo CMI <sup>a</sup>	<i>Campylobacter jejuni</i> (n=78)			<i>Campylobacter coli</i> (n=47)		
		CMI <sub>50</sub> <sup>b</sup>	CMI <sub>90</sub> <sup>c</sup>	Resistência % (n)	CMI <sub>50</sub> <sup>b</sup>	CMI <sub>90</sub> <sup>c</sup>	Resistência % (n)
Ác. Nalidíxico	2 – 32	>32	>32	100 (78)	>32	>32	100 (47)
Amoxicilina	2 – 32	32	>32	57,7 (45)	32	>32	72,3 (34)
Ciprofloxacina	0,25 – 4	>4	>4	91 (71)	>4	>4	95,7 (45)
Doxiciclina/Tetraciclina	0,125 – 2	2	>2	65,4 (51)	>2	>2	93,6 (44)
Eritromicina	1 – 16	<ou=1	4	9 (7)	4	>16	38,3 (18)
Gentamicina	0,25 – 4	<ou=0,25	0,5	0 (0)	<ou=0,25	0,5	4,3 (2)

CMI – concentração mínima inibitória

<sup>a</sup> Intervalo de concentrações testadas (µg/mL)

<sup>b,c</sup> CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> indica a concentração (µg/mL) que inibe o crescimento de 50% e 90% dos isolados.

Gráfico 2: Taxas de resistência a diversos antibióticos de estirpes de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* de origem humana, isoladas em Portugal, em dois períodos de tempo distintos, 1984-1989 (5) e 2009-2012.



artigos breves\_ n. 7

**Discussão**

A análise das características epidemiológicas da infeção por *Campylobacter* em Portugal mostra que a principal espécie que infeta o homem é *C. jejuni*, tal como descrito noutros estudos, apesar de a prevalência de *C. coli* observada ser superior ao que é reportado para os países ocidentais (6). Como era esperado, o grupo etário de maior risco foram as crianças com idade >1 ano, sendo no entanto de sublinhar a elevada taxa de infeção mesmo nos recém-nascidos e bebés (25,2%).

Em relação às antibioresistências, foram muito altas, incluindo aos macrólidos e fluoroquinolonas, que são os antibióticos mais frequentemente utilizados para tratar a infeção por *Campylobacter* mais prolongada ou severa. Além disso, observa-se uma tendência crescente de estirpes resistentes, p.ex. para a ciprofloxacina, se comparadas com as taxas descritas noutros trabalhos realizados anteriormente a 2009 (5,7), e a emergência de estirpes resistentes a outros grupos de antibióticos, como os aminoglicosídeos. As taxas de antibioresistência encontradas estão em consonância com as descritas para estirpes de *Campylobacter* de origem animal, refletindo a utilização destes antibióticos na produção animal que se destina ao consumo humano (8).

Em conclusão, estes dados mostram a importância da infeção por *Campylobacter* em Portugal e reforçam a necessidade de se manter uma vigilância epidemiológica desta infeção, já que a emergência de estirpes multirresistentes sugere um aumento do seu potencial zoonótico.

**Referências bibliográficas:**

- (1) European Food Safety Authority. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. EFSA J. 2012;10:2597.
- (2) Yuki N, Susuki K, Koga M, et al. Carbohydrate mimicry between human ganglioside GM1 and *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide causes Guillain-Barre syndrome. PNAS USA. 2004;101:11404-9.
- (3) Silva J, Leite D, Fernandes M, et al. *Campylobacter* spp. as a Foodborne Pathogen: a review. Front Microbiol. 2011;2:200.
- (4) Dingle KE, Colles FM, Wareing DR, et al. Multilocus sequence typing system for *Campylobacter jejuni*. J Clin Microbiol. 2001;39, 14-23.
- (5) Cabrita J, Pires I, Vlaes L, et al. *Campylobacter* enteritis in Portugal: epidemiological features and biological markers. Eur J Epidemiol. 1992;8(1):22-6.
- (6) Gallay A, Prouzet-Mauléon V, Kempf I, et al. *Campylobacter* antimicrobial drug resistance among humans, broiler chickens, and pigs, France. Emerg Infect Dis 2007;13(2):259-66.
- (7) Vicente A, Barros R, Florinda A, et al. High rates of fluoroquinolone resistant *Campylobacter* in Portugal: need for surveillance. Euro Surveill. 2008;13(6):pii=8031.
- (8) Carreira AC, Clemente L, Rocha T, et al. Comparative genotypic and antimicrobial susceptibility analysis of zoonotic *Campylobacter* species isolated from broilers in a nationwide survey, Portugal. J Food Prot. 2012;75(12):2100-9.

**(\*) Laboratórios que integram o grupo de trabalho para o estudo da Campylobacteriose:**

Centro Hospitalar Barreiro-Montijo, EPE  
Centro Hospitalar Cova da Beira, EPE  
Centro Hospitalar de Coimbra, EPE  
Centro Hospitalar de Lisboa Central, EPE  
Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro, EPE  
Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, EPE  
Centro Hospitalar do Tâmega e Sousa, EPE  
Centro Hospitalar entre Douro e Vouga, EPE  
Centro Hospitalar Oeste Norte, EPE  
Centro Hospitalar Póvoa Varzim/Vila Conde, EPE  
Hospital Cascais Dr. José de Almeida, HPP  
Hospital de Braga  
Hospital de São João  
Hospital Garcia de Orta  
Laboratório de Análises Clínicas Santos Monteiro  
Unidade Laboratorial Integrada de Microbiologia do INSA, IP  
Unidade Local de Saúde de Matosinhos