

**ANDRÉA CÁTIA LEAL BADARÓ**

**QUALIDADE DE CARÇAÇAS DE FRANGO DE  
ABATEDOUROS DO ESTADO DE MINAS GERAIS:  
OCORRÊNCIA DE *Campylobacter jejuni* E PERFIL  
DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

B132q  
2013

Badaró, Andréa Cátia Leal, 1971-

Qualidade de carcaças de frango de abatedouros do Estado de Minas Gerais: ocorrência de *Campylobacter jejuni* e perfil de resistência a antimicrobianos / Andréa Cátia Leal Badaró. – Viçosa, MG, 2013.  
xviii, 174 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Benício Paes Chaves  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. *Campylobacter jejuni*. 2. Frango de corte. 3. Alimentos - Qualidade. 4. Saúde pública. 5. Antibióticos. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. II. Título.

CDD 22. ed. 664.939

**ANDRÉA CÁTIA LEAL BADARÓ**

**QUALIDADE DE CARÇAÇAS DE FRANGO DE  
ABATEDOUROS DO ESTADO DE MINAS GERAIS:  
OCORRÊNCIA DE *Campylobacter jejuni* E PERFIL  
DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 23 de maio de 2013

---

Prof. Nélio José de Andrade  
(Co-orientador)

---

Prof<sup>a</sup>. Regina Célia Santos Mendonça  
(Co-orientadora)

---

Prof. Wilmer Edgard Luera Peña

---

Dr<sup>a</sup>. Cláudia Lúcia de Oliveira Pinto

---

Prof. José Benício Paes Chaves  
(Orientador)

A Deus, em primeiro lugar!

Ao Anilton, meu esposo,  
eterno companheiro e maior incentivador.

Dedico!

*Algumas coisas não precisam fazer sentido,  
precisam valer a pena!*

*Renato Russo*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante, por ter me concedido a vida e me dar saúde e forças para chegar até aqui.

À Universidade Federal de Viçosa, pelas muitas oportunidades concedidas, em especial aos professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela amizade, apoio e convivência durante todos estes anos.

Ao professor José Benício Paes Chaves, pela orientação, pelos ensinamentos, conhecimentos transmitidos e pela confiança.

Aos professores Regina Célia Santos Mendonça e Nélio José de Andrade, que, como conselheiros, tanto contribuíram para este trabalho. Agradeço-lhes pelos ensinamentos compartilhados e orientações, pela disposição em ajudar a resolver os percalços do meio do caminho.

Aos demais avaliadores da banca, Prof. Wilmer Edgard e Dra. Cláudia Pinho, pelas preciosas contribuições.

Aos veterinários companheiros da fiscalização sanitária, por contribuírem com a pesquisa, ajudando no contato com proprietários dos abatedouros e por auxiliarem na coleta das amostras e dos dados.

Aos colegas do LAMPOAH, Márcia, Arthur, Delaine, Maryore, Michele, Luiz Augusto, e em especial ao amigo Humberto, que dividiu comigo o desafio de trabalhar com este tema e com quem aprendi muito. Obrigada a todos pela amizade e conhecimentos compartilhados.

Aos colegas do Laboratório de Genética Molecular e de Microrganismos, pela amizade e conhecimentos compartilhados, em especial à Profa. Mariza e aos pós-graduandos Tiago Leite, Casley e Carolina, pela presteza e disponibilidade em ensinar e contribuir com as análises moleculares.

Aos estagiários que colaboraram com a pesquisa, em especial Vinícius, Izabele, Mariana, Maíra e Bruna, pela ajuda na realização deste trabalho.

A todos meus amigos e amigas, daqui e de acolá, pela convivência e imensa ajuda, especialmente à Anna Paula, Ederson, Airmária (in memoriam), Mônica, Stael, Emiliane, Alessandra, Claudia, Thalita, Ellen, Cleusa, João Marchi, Satiko, Nilson, Jonas e Alfaro, que tanto me ouviram, me aconselharam e me ajudaram, cada um ao seu modo.

Aos amigos que me hospedaram com tanto carinho, em especial Anna Paula, Patrícia, Isadora, Lanna, Lígia, Márcia/Talles, Luciana/Ederson e Ana Clarissa, que mais que abrigo, me proporcionaram um aconchego para os momentos de repouso. Espero um dia conseguir-lhes retribuir tamanha gentileza.

Aos colegas da UTFPR, Cleusa Weber, Luciano Lucchetta, Fernando Manosso, Alexandre Alfaro e Alexandre Coelho, que representam aqui toda Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pela liberação, disponibilidade, compreensão, apoio e imenso incentivo.

À minha família, por ser o pilar que sustenta meu ser, em especial aos meus pais, Neuza e Rui, que me deram a vida e sempre me apoiaram em todas minhas decisões; à minha irmã Angela, pelo apoio de irmã e incentivo profissional, sempre um exemplo a ser seguido, e aos queridos sobrinhos, Ariel, Alexia, Maria Clara e Maria Fernanda, amores da minha vida, por serem a minha família.

Ao ser mais companheiro de toda esta jornada, minha queridinha Pitt, um exemplo de amor, amizade e cumplicidade que não encontrei igual em nenhum ser racional.

E principalmente ao meu esposo Anilton, por se dispor a ser o verdadeiro companheiro e incentivador, num momento de grandes desafios da nossa vida. Sem você, eu não teria conseguido!

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram.

Meus sinceros agradecimentos.

## BIOGRAFIA

ANDRÉA CÁTIA LEAL BADARÓ, filha de Neusa Leal Badaró e Rui Andrade Badaró, nasceu em Duque de Caxias, Estado do Rio de Janeiro, em 07 de julho de 1971.

Em fevereiro de 1991, ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, em Belo Horizonte, concluindo o bacharelado em dezembro de 1995.

Em fevereiro de 1999, ingressou no Curso de Especialização em Controle de Qualidade de Alimentos de Origem Animal da Universidade Federal de Lavras, onde concluiu a pós-graduação *lato sensu* em fevereiro de 2001.

Em fevereiro de 2005, iniciou o Mestrado no programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição da Universidade Federal de Viçosa, defendendo a dissertação em 27 de fevereiro de 2007, concluindo o Mestrado em maio de 2007.

Em agosto de 2007, iniciou o Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Viçosa, defendendo a tese em 23 de maio de 2013, concluindo o Doutorado em maio de 2013.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE QUADROS E TABELAS	x
LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E UNIDADES DE MEDIDA	xii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO I .....	1
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	4
2.1. Produção e comércio brasileiro de frango .....	4
2.2. Doenças microbianas de origem alimentar .....	6
2.3. O agente <i>Campylobacter jejuni</i> .....	8
2.3.1. Histórico e caracterização do agente .....	8
2.3.2. Surtos de infecções de origem alimentar associados a <i>Campylobacter</i> spp. ....	16
2.3.3. Associação do consumo de carnes de aves com casos de campilobacteriose .....	21
2.3.4. Carnes e vísceras de aves como vias de contaminação por <i>Campylobacter</i> spp. ....	24
2.3.5. Outros produtos envolvidos na transmissão de <i>Campylobacter jejuni</i> em humanos .....	30
2.3.6. Técnicas de detecção de <i>Campylobacter</i> spp. ....	32
2.3.7. Estratégias para o controle de <i>Campylobacter jejuni</i> na cadeia produtiva de frangos .....	37
2.3.7.1. Medidas de controle de <i>Campylobacter</i> recomendadas aos aviários .....	38
2.3.7.2. Medidas de controle de <i>Campylobacter</i> recomendadas aos abatedouros de aves .....	42
2.3.7.3. Higiene industrial e medidas de controle de <i>Campylobacter</i> spp. no processamento de aves .....	49
2.4. Resistência de bactérias aos antimicrobianos .....	52
2.4.1. Mecanismos de resistência a antimicrobianos .....	53
2.4.2. Possíveis consequências para a saúde humana .....	54
2.4.3. Uso de antimicrobianos na produção animal .....	56
2.4.4. Perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de <i>Campylobacter</i> spp. ....	58

2.4.5. Teste de sensibilidade bacteriana a antibióticos: técnica de difusão em agar .....	61
REFERÊNCIAS .....	66
CAPÍTULO II – OCORRÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE <i>Campylobacter jejuni</i> DE CARCAÇAS DE FRANGO ABATIDAS EM MINAS GERAIS .....	89
1. INTRODUÇÃO .....	89
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	92
2.1. Obtenção das amostras .....	92
2.2. Detecção, isolamento e quantificação de <i>Campylobacter jejuni</i> em carcaças de frango .....	93
2.3. Detecção e isolamento de <i>Campylobacter jejuni</i> em amostras de água .....	96
2.4. Manutenção das cepas bacterianas utilizadas como controle e das cepas obtidas pelo estudo .....	98
2.5. Identificação molecular dos isolados de <i>Campylobacter</i> spp. ....	99
2.5.1. Preparo e extração do DNA .....	99
2.5.2. Quantificação do DNA extraído em gel de agarose .....	100
2.5.3. Amplificação e sequenciamento dos fragmentos de DNA extraídos das amostras .....	101
2.6. Determinação da resistência a antimicrobianos das cepas de <i>Campylobacter jejuni</i> .....	102
2.7. Identificação dos contaminantes entéricos isolados das placas de cultivo de <i>Campylobacter</i> spp. ....	104
2.7.1. Identificação molecular dos contaminantes isolados .....	105
2.8. Determinação da resistência a antimicrobianos dos contaminantes isolados .....	105
2.9. Dados sobre as granjas e abatedouros de origem das amostras .....	106
2.10. Análise estatística .....	107
2.11. Aspectos éticos .....	107
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	108
3.1. Características dos abatedouros avaliados no estudo .....	108
3.2. Ocorrência de <i>Campylobacter jejuni</i> .....	114
3.2.1. Avaliação da contaminação em carcaças de frango .....	114
3.2.2. Avaliação das amostras de água do sistema de resfriamento por imersão .....	122

3.3. Perfil de resistência a antimicrobianos de <i>Campylobacter jejuni</i> isolados de carcaças de frango .....	124
3.4. Ocorrência e perfil de resistência a antimicrobianos dos contaminantes entéricos isolados no cultivo do <i>Campylobacter</i> spp. ....	131
4. CONCLUSÕES .....	143
REFERÊNCIAS .....	145
APÊNDICE A – Questionário para levantamento de informações sobre os abatedouros e lotes de aves das amostras avaliadas na pesquisa .....	166
APÊNDICE B – Dados sobre as amostras e contagens pelo Número Mais Provável, com intervalo de confiança de 95 %, separados por coleta .....	168
APÊNDICE C – Características morfológicas e bioquímicas das espécies de <i>Campylobacter</i> spp .....	172
APÊNDICE D – Característica das colônias de <i>Campylobacter</i> em Agar Campy Base. Colônias pequenas, puntiformes, levemente cinzas a róseas e com brilho metálico .....	173
APÊNDICE E – Imagens da Fotodocumentação na análise molecular dos isolados .....	174

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Países exportadores de carne de frango .....	5
Figura 2. Nomenclatura de grupo filogenético da superfamília VI de rRNA .....	10
Figura 3. Microscopia óptica de <i>Campylobacter</i> spp. com coloração de Gram. Bastonetes delgados gram-negativos .....	11
Figura 4. Distribuição geográfica dos abatedouros de frango fornecedores das amostras avaliadas na pesquisa, considerando as Mesorregiões do Estado de Minas Gerais e o tipo de inspeção dos estabelecimentos .....	92
Figura 5. Representação esquemática das metodologias utilizadas na pesquisa para detecção, enumeração e identificação de <i>Campylobacter</i> spp. nas amostras de carcaças de frango .....	95
Figura 6. Representação esquemática das metodologias utilizadas na pesquisa para detecção de <i>Campylobacter</i> spp. nas amostras de água dos abatedouros avaliados .....	97
Figura 7. Temperatura da água nos tanques de resfriamento por imersão ( <i>pré-chiller</i> e <i>chiller</i> ) dos abatedouros avaliados .....	110
Figura 8. Temperatura das carcaças de frango na saída do sistema de resfriamento por imersão dos abatedouros avaliados .....	110
Figura 9. Tempo médio, em minutos, de permanência das carcaças nos tanques de imersão do sistema de resfriamento ( <i>chiller</i> e <i>pré-chiller</i> ) nos abatedouros avaliados .....	111
Figura 10. Porcentagem de água absorvida pelas as carcaças após o seu resfriamento nos tanques de imersão .....	112
Figura 11. Teor de cloro livre, em mg.L <sup>-1</sup> , na água de resfriamento por imersão .....	113
Figura 12. Porcentagem de unidades amostrais avaliadas que confirmaram a presença de <i>C. jejuni</i> , por coleta .....	114
Figura 13. Número de carcaças positivas para a presença de <i>Campylobacter jejuni</i> em cada coleta, e tipo de inspeção dos abatedouros .....	117
Figura 14. Percentual de amostras positivas, de acordo com o tipo de inspeção dos abatedouros .....	118

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

	Página
Quadro 1. Sugestão do <i>FDA – Clinical Indications</i> para a família <i>Enterobacteriaceae</i> .....	63
Tabela 1. Relatos sobre ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em aves e subprodutos em diferentes países .....	26
Tabela 2. Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em amostras de aves ou relacionadas de abatedouros no Brasil .....	28
Tabela 3. Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em amostras coletadas em granjas avícolas e outros tipos de amostras, no Brasil .....	29
Tabela 4. Diâmetros dos halos inibitórios esperados para <i>Enterobacteriaceae</i> .....	64
Tabela 5. Resistência intrínseca para <i>Enterobacteriaceae</i> .....	63
Tabela 6. Diâmetro dos halos de inibição (mm) determinantes de resistência (R), reação intermediária (I) ou sensibilidade (S), segundo antimicrobiano ou quimioterápico e sua concentração .....	104
Tabela 7. Número e porcentagem de carcaças contaminadas com <i>C. jejuni</i> , de acordo com o local da coleta, tipo de inspeção, produção diária estimada e mesorregião do Estado de Minas Gerais .....	115
Tabela 8. Resultado da identificação molecular dos isolados suspeitos, por carcaça contaminada, segundo o abatedouro e ordem de coleta .....	117
Tabela 9. Teste de comparação de proporções (Qui-quadrado) aplicado aos dados obtidos no estudo, utilizando-se o R-Commander .....	118
Tabela 10. Contagens de <i>C. jejuni</i> pelo número mais provável, com intervalo de confiança de 95 %, separados por coleta .....	119
Tabela 11. Resultados obtidos pelo antibiograma realizado com as 20 cepas de <i>Campylobacter jejuni</i> isoladas, de acordo com tipo de antimicrobiano utilizado .....	125
Tabela 12. Resultados do antibiograma realizado com as 20 cepas de <i>Campylobacter jejuni</i> , de acordo com a resistência (R), reação intermediária (I) ou sensibilidade (S), segundo o antimicrobiano utilizado .....	126

Tabela 13. Resultados de Resistência e Sensibilidade das 20 cepas de <i>Campylobacter jejuni</i> aos 18 antimicrobianos avaliados	.128
Tabela 14. Tipo de Inspeção e origem das 26 cepas de contaminantes das carcaças de frango e amostras de água do sistema de resfriamento	.....132
Tabela 15. Resultado do antibiograma realizado com os contaminantes isolados, de acordo com a resistência (R), reação intermediária (I) ou sensibilidade (S), por origem das amostras e espécies identificadas	.....137
Tabela 16. Resultado do antibiograma realizado com as 26 cepas de contaminantes isolados, de acordo com a resistência (R), reação intermediária (I) ou sensibilidade (S), segundo o antimicrobiano utilizado	.....138
Tabela 17. Resultado do antibiograma das espécies isoladas como contaminantes, segundo antimicrobiano utilizado	.....140

## LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E UNIDADES DE MEDIDA

- AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AUP-DIPOA – Autorização de Uso de Produto pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
- AWWA – *American Water Works Association*
- BHI – Infuso cérebro coração
- BLAST – *Basic Local Alignment Search Tool*
- BLAST-n – *Standard Nucleotide BLAST*
- CDC – *Center for Disease Control and Prevention*
- CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*
- CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono
- CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- DO – Densidade óptica
- DTA – Departamento de Tecnologia de Alimentos
- EDTA – Ácido etilenodiamino tetracético
- FAO/OMS – *Food and Agriculture Organization of United Nations*
- FBP – Sulfato ferroso, Metabissulfito de sódio e Piruvato de sódio
- FDA – *Foods and Drugs Administration*
- GRAS – *Generally Recognized as Safe*
- GTA – Guia de Trânsito Animal
- H<sub>2</sub>S – Dióxido de enxofre
- HUA – Síndrome urêmica-hemolítica

IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária

ISO – *International Organization Standardization*

JEMRA – *Expert Committee Joint Microbial Risk Assessment*

KOH – Hidróxido de Potássio

LIA – Agar Lisina Ferro

Log<sub>10</sub> – Logarítmo na base 10

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

mg.L<sup>-1</sup> – Miligrama por litro

µg – microgramas (g<sup>-6</sup>)

N<sub>2</sub> – Nitrogênio (gás)

NaCl – Cloreto de sódio

NACMCF – *National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods*

NCBI – *National Center for Biotechnology Information*

NCCLS – *National Committee for Clinical Laboratory Standards*

NMP – Número mais provável

NMP.g<sup>-1</sup> – Número mais provável por grama

O<sub>2</sub> – Oxigênio (gás)

OIE – *World Organization of Animal Health*

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAMvet-PR – Programa Estadual de Controle de Resíduos de  
Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal  
do Paraná

PCA – Agar para contagem padrão

PCR – Reação em cadeia de polimerase

PNCRC – Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes

PTT – Púrpura trombocitopênica trombótica

RDC – Resolução de Diretoria Colegiada

RDP – *Ribosomal Database Project*

SESA – Secretaria do Estado da Saúde do Paraná

SIF – Serviço de Inspeção Federal

SISP – Serviço de Inspeção do Estado de São Paulo

TBE – TRIS, EDTA e Ácido Bórico

TRIS – Tris(hidroximetil)aminometano

TSP – Fosfato trissódico

UBABEF – União Brasileira de Avicultura / Associação Brasileira dos  
Produtores e Exportadores de Frango

UFC.mL<sup>-1</sup> – Unidades formadoras de colônias por mililitro

UFV – Universidade Federal de Viçosa

USDA / FSIS – *United States Department of Agriculture / Food Safety and  
Inspection Service*

VM-VP – Vermelho de metila e Vorges-Proskauer

VNC – Viável não cultivável

$\chi^2$  – Qui-quadrado

## RESUMO

BADARÓ, Andréa Cátia Leal, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2013. **Qualidade de carcaças de frango de abatedouros do Estado de Minas Gerais: ocorrência de *Campylobacter jejuni* e perfil de resistência a antimicrobianos**. Orientador: José Benício Paes Chaves. Co-orientadores: Nélio José de Andrade e Regina Célia Santos Mendonça.

A campilobacteriose é reconhecida como uma zoonose emergente de distribuição mundial, sendo diagnosticada com frequência nos países desenvolvidos, e tem como principal agente causal o *Campylobacter jejuni*. A maioria dos casos está associada ao consumo ou manuseio de carne de frango contaminada. Existem poucas informações oficiais sobre a ocorrência de *Campylobacter* em frangos de corte no Brasil. Considerando a escassez de trabalhos em Minas Gerais, objetivou-se estudar a ocorrência de *C. jejuni* em carcaças de frango resfriadas de abatedouros sob inspeção do Serviço de Inspeção Federal (SIF) e do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), por meio de identificação morfológica, bioquímica e molecular; avaliar a qualidade da água do sistema de resfriamento dos abatedouros; isolar e identificar os contaminantes entéricos; avaliar o perfil de resistência antimicrobiana dos microrganismos isolados durante o estudo, e obter informações sobre as granjas, abatedouros e processos envolvidos no abate das carcaças das amostras avaliadas. Das 30 unidades amostrais avaliadas, 36,7 % apresentavam-se contaminadas com *C. jejuni*. Dentre as 150 carcaças de frango avaliadas, 25 (16,7 %) apresentaram-se contaminadas, sendo 22 (88 %) de abatedouros com SIF e 3 (12 %) eram do IMA. A ordem das coletas não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o tipo de inspeção, sendo mais frequente a contaminação em carcaças dos abatedouros com inspeção do SIF. As contagens variaram entre 3,6 e 36 NMP.g<sup>-1</sup>. Nenhuma das amostras de água dos resfriadores por imersão apresentou resultado positivo para *Campylobacter jejuni*. Todas as 20 cepas de *C. jejuni* testadas

demonstraram resistência aos diferentes tipos de antimicrobianos avaliados, sendo que algumas apresentaram 72,2 % de resistência, podendo se tornar um problema para a clínica médica. Todas as cepas foram resistentes aos antimicrobianos Aztreonam, Cefalotina, Cefoxitina, Sulfa+trimetoprim e Vancomicina, e 95 % das cepas testadas foram resistentes ao Ácido Nalidíxico, Cefotaxima, Cefuroxima e à Ciprofloxacina. Todas as cepas avaliadas apresentaram sensibilidade à Polimixina B. Outros antibióticos apresentaram diferentes graus de sensibilidade, como o Cloranfenicol (95 %), Gentamicina (85 %), Imipenem (75 %) e Amoxicilina+Ácido Clavulânico (75 %). Os contaminantes mais frequentemente isolados foram *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Todos contaminantes isolados foram resistentes ao Ácido nalidíxico e à Vancomicina e maior sensibilidade foi ao Aztreonam. Observou-se ainda que alguns estabelecimentos não atendem as recomendações para garantia da qualidade do processo de abate, principalmente no que diz respeito à temperatura e teor de cloro da água dos resfriadores por imersão. Estes dados servem de alerta quanto a necessidade de se estabelecer, o quanto antes, um possível protocolo de medidas de prevenção e controle, tanto de *C. jejuni* quanto de outros contaminantes entéricos nas carcaças de frango de forma a garantir alimentos com padrões sanitários adequados à proteção da saúde do público consumidor, bem como alertar as autoridades de saúde quanto ao uso indiscriminado de antimicrobianos, que pode comprometer a eficácia das drogas no tratamento de infecções bacterianas em humanos e animais. Por fim, sugere-se que mais estudos devam ser conduzidos para se averiguar a origem da alta resistência observada em todas as cepas isoladas.

## ABSTRACT

BADARÓ, Andréa Cátia Leal, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2013. **Quality of chicken carcasses from slaughterhouses in the State of Minas Gerais: occurrence of *Campylobacter jejuni* and antimicrobial resistance profile**. Adviser: José Benício Paes Chaves. Co-Advisers: Nélio José de Andrade and Regina Célia Santos Mendonça.

Campylobacteriosis is recognized as an emerging zoonosis of worldwide distribution, and often diagnosed in developed countries, and its main causal agent *Campylobacter jejuni*. This organism is commonly conveyed to man for food of avian origin, with the majority of cases are associated with the consumption or handling of contaminated chicken. By contrast, there is little official information on the occurrence of foodborne campylobacteriosis or prevalence data of *Campylobacter* in broiler chickens in Brazil. Internationally, there are several studies showing the prevalence of this bacterium and its resistance profile to some antimicrobials. Given the scarcity of jobs in Minas Gerais, this research aimed to study the occurrence of *C. jejuni* in chicken carcasses cooled in inspection of slaughterhouses under Federal Inspection Service (SIF) and slaughterhouses inspected by the Minas Gerais Institute of Agriculture (IMA), by identifying morphological, biochemical and molecular; evaluate the water quality of the cooling system of abattoirs; isolate and identify enteric contaminants; evaluate the antimicrobial resistance profile of organisms isolated during the study, and information on the farms, slaughterhouses and processes involved in slaughtering the carcasses of the samples. Of the 30 sample units evaluated, 36.7 % were infected with *C. jejuni*. Of the 150 chicken carcasses evaluated, 25 (16.7 %) carcasses collected from 7 different establishments is presented contaminated with *C. jejuni*, and 22 (88 %) were slaughterhouses with SIF and 3 (12 %) were the IMA. The order of the samples showed no significant difference ( $p > 0.05$ ), however, significant differences ( $p < 0.05$ ) between the type of inspection being the most frequent contamination of carcasses in slaughterhouses with inspection of SIF. Counts ranged between 3.6 and 36 NMP.g<sup>-1</sup>. None of the water samples by immersion coolers tested positive for *Campylobacter jejuni*. All of the 20 strains of *C. jejuni* strains tested showed resistance to different types of antimicrobials tested, some of which showed

72.2 % resistance, and can become a problem for the medical clinic. All strains were resistant to antimicrobials Aztreonam, Cephalothin, Cefoxitin, and trimethoprim sulfa vancomycin, and 95 % of the strains were resistant to Nalidixic Acid, Cefotaxime, Cefuroxime and Ciprofloxacin. All strains tested were susceptible to Polymyxin B. Other antibiotics showed different degrees of sensitivity to Chloramphenicol (95 %), Gentamicin (85 %), Imipenem (75%) and Amoxicillin + Clavulanic Acid (75 %). The contaminants were commonly isolated *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. All contaminants isolates were resistant to Nalidixic acid and Vancomycin was greater sensitivity to Aztreonam. It was also observed that some establishments do not meet the recommendations for quality assurance of the slaughter process, especially with regard to temperature and chlorine content of the water immersion chillers. These data serve as a warning as to the need to establish, as soon as possible, a possible protocol for prevention and control of both *C. jejuni* as other enteric contaminants in chicken carcasses to ensure adequate health food standards to protect consumer health and to alert health authorities about the indiscriminate use of antibiotics, which may compromise the effectiveness of drugs in the treatment of bacterial infections in humans and animals. Finally, it is suggested that further studies should be conducted to determine the origin of the high resistance observed in all the isolates.

# CAPÍTULO I

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos 40 anos, alterações demográficas e no estilo de vida das pessoas, bem como nas preferências dos consumidores, levaram a mudanças na formulação e distribuição dos alimentos. Para satisfazer as necessidades de uma população cada vez mais exigente, novas técnicas de processamento, conservação e embalagem vêm sendo incorporadas à produção dos alimentos. As redes de distribuição se expandiram, tornaram-se mais centralizadas e complexas, afetando as características epidemiológicas dos surtos e introduzindo novos riscos, possibilitando a contaminação cruzada e o surgimento de novos patógenos (CALIL et al., 2008).

A combinação entre o desenvolvimento tecnológico e as pesquisas e seus resultados permite concluir que nas condições atuais é primordial controlar o que está sendo consumido como alimento, garantindo a segurança do consumidor. As doenças de origem alimentar causadas por micro-organismos foram e continuam sendo um grande e crescente problema de saúde pública. A maioria dos países com sistemas de vigilância dos casos de doenças de origem alimentar têm documentado aumentos significativos, nas últimas décadas, na incidência de doenças causadas por micro-organismos em alimentos, incluindo patógenos como *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* entero-hemorrágica, e parasitas tais como *Cryptosporidium*, *Cryptospora* e *Trematodes* (OMS, 2008).

Dados da Organização Mundial de Saúde mostram que cerca de 2,2 milhões de pessoas, 1,9 milhões delas crianças, morrem, anualmente, em consequência de doenças diarreicas transmitidas por alimentos ou água contaminados (OMS, 2012).

O aumento da incidência de doenças de origem alimentar por perigos microbiológicos é o resultado de uma multiplicidade de fatores, todos associados às mudanças do mundo atual, como por exemplo, o perfil

demográfico está alterando, com proporções crescentes de pessoas mais suscetíveis aos micro-organismos dos alimentos; mudanças na ecologia microbiana; sistemas complexos de distribuição de alimentos; mudanças nas práticas agrícolas (produção primária); preferência crescente para carnes e aves nos países em desenvolvimento (BROWN e STRINGER, 2002; FIGUEIREDO e MIRANDA, 2008).

Por tradição, a preocupação com a segurança dos alimentos se baseava na eventual presença de resíduos químicos do meio ambiente, de medicamentos ou outros agentes tóxicos susceptíveis de acúmulo nos tecidos animais. Recentemente, as descobertas de patógenos microbianos inócuos aos animais, mas nocivos ao homem, mudaram esta perspectiva. Na medida em que a promoção e a garantia da segurança alimentar vêm sendo incorporadas aos planos estratégicos dos governos, estudos sobre condições higiênicas e práticas de manipulação e preparo de alimentos vêm sendo conduzidos em todo o mundo e também no Brasil.

É reconhecida a importância da qualidade e do controle que incluam princípios gerais de higiene de alimentos e as Boas Práticas de Fabricação (BPF), como base para a efetiva implantação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (FAO/OMS, 2007). As BPF's devem ser adotadas pelos produtores de alimentos a fim de garantir a qualidade sanitária e a conformidade dos produtos alimentícios com as normas técnicas (BRASIL, 2002).

Nas quatro últimas décadas *Campylobacter* spp. reapareceu como micro-organismo emergente e despontou como importante agente de gastroenterite de origem alimentar em várias partes do mundo, pois, além de causar transtornos digestivos agudos às pessoas afetadas, pode causar efeitos crônicos de longa duração (BUTZLER, 2004; FREITAS e NORONHA, 2007).

A campilobacteriose é uma zoonose de distribuição mundial, sendo o *Campylobacter jejuni* considerado um micro-organismo extremamente ubiqüitário, encontrando-se tanto disperso no ambiente, como também assumindo o papel de agente patogênico ou comensal do trato gastrointestinal de animais domésticos e selvagens. A relevância das aves como portadoras intestinais de *C. jejuni* tem sido demonstrada através da

elevada frequência em isolados de material fecal e de carcaças de frangos (SCARCELLI e PIATTI, 2002; CALIL et al., 2008)

A via de transmissão para o ser humano é atribuída ao contato direto com animais portadores e ao consumo de água e alimentos de origem animal contaminados, principalmente as carnes de aves mal processadas (SCARELLI et al., 1998; CALIL et al., 2008).

Em função das exigências cada vez maiores do mercado internacional de carne de frango, o monitoramento e o controle da contaminação das carcaças por *Campylobacter jejuni* são preocupações mundiais (SCARCELLI e PIATTI, 2002; CARVALHO, 2009; LOPES, 2009).

Este estudo apresenta como objetivo geral a produção de um diagnóstico acerca da contaminação dos frangos abatidos no Estado de Minas Gerais quanto à presença de *Campylobacter jejuni*.

Especificamente, buscou-se estudar a ocorrência de *C. jejuni* em carcaças de frango resfriadas de abatedouros sob inspeção do Serviço de Inspeção Federal (SIF) e do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), por meio de identificação morfológica, bioquímica e molecular; avaliar a qualidade da água do sistema de resfriamento dos abatedouros; isolar e identificar os contaminantes entéricos; avaliar o perfil de resistência antimicrobiana dos microrganismos isolados durante o estudo, e obter informações sobre as granjas, abatedouros e processos envolvidos no abate das carcaças das amostras avaliadas, e estabelecer um perfil dos abatedouros pesquisados quanto aos fatores que podem estar influenciando o quadro microbiológico encontrado nas amostras do estudo.

Soma-se a tais objetivos a emissão de relatórios para os serviços de inspeção do IMA e SIF, assim como para os abatedouros participantes do estudo, a cerca dos resultados obtidos nas análises realizadas e as possíveis estratégias a serem implementadas para melhoria do quadro encontrado.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. Produção e comércio brasileiro de frango

A carne de frango é rica em proteínas e aminoácidos essenciais, sendo o peito sem pele, o corte que apresenta o maior índice dessas substâncias. Também é fonte importante de vitaminas do complexo B e minerais, tais como ferro, potássio, zinco e magnésio. Além disso, a carne de frango custa, em geral, menos da metade do preço da carne bovina (UBABEF, 2010).

Desde meados dos anos 80, a produção de carne de frango tem se expandido ano após ano. Grande parte deste crescimento pode ser explicada pelos avanços tecnológicos no setor, nas áreas de genética, nutrição e sanidade, tendo sido impulsionado pelo crescimento da demanda associada à mudança no padrão de consumo, ou seja, ao processo de substituição de carne vermelha pela branca (CARVALHO et al., 2008; CARVALHO, 2009).

O Brasil é o terceiro produtor e maior exportador mundial de frangos. Incentivadas pelo crescimento constante da produção de aves de corte, as indústrias experimentam destacado desenvolvimento tecnológico, com a sofisticação dos produtos e disputa crescente pelo mercado internacional. Além de ser uma potência mundial na criação de frangos de corte, o país ainda possui *status* sanitário de excelência por ser um país livre de doenças como Newcastle e Influenza Aviária (OLIVEIRA, 2006; FONSECA, 2006; MEDEIROS, 2011).

Em 2011, a média per capita de consumo de carne de frango no Brasil foi de 47,5 kg, o que equivale à média de países desenvolvidos como os EUA e União Europeia (UBABEF, 2012).

Dado o número de animais, em 2011, o Brasil encerrou o ano com 1,1 trilhões de cabeças de frangos e pintos (IBGE, 2011). Deste efetivo, o Estado de Minas Gerais contribuiu com 9 % (206,4 milhões de cabeças), sendo o 5º maior produtor do país, atrás do Paraná (22,3 %), São Paulo (17 %), Santa Catarina (15 %) e Rio Grande do Sul (12,3 %). O volume total

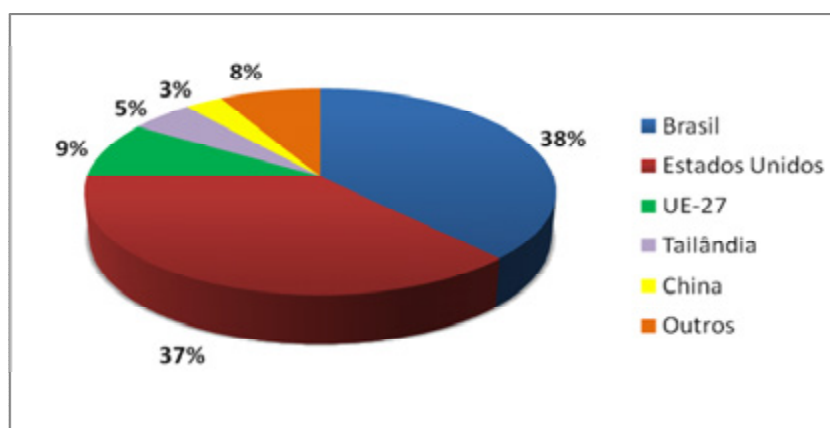
abatido em Minas Gerais foi de 406 mil toneladas, sendo a participação mineira de 8,3 % do volume nacional de abate. Considerando os municípios, Pará de Minas foi o que mais produziu frangos em 2011, com 12,3 milhões de aves, e 1,2 % do total do país (IBGE, 2011).

Neste mesmo ano, o país produziu cerca de 13 milhões de toneladas de carne de frango, com um crescimento em torno de 6 % em relação a 2010, quando foram produzidas 12,3 milhões de toneladas. Este resultado o mantém no terceiro lugar entre os maiores produtores mundiais, atrás dos Estados Unidos e China, que apresentaram produção de 16,7 e 13,3 milhões de toneladas respectivamente (UBABEF, 2012).

Deste volume, 3,9 milhões de toneladas foram destinados à exportação, sendo 56 % de cortes de frango e 35,5 % de frangos inteiros. Um aumento de 1,3 % em relação a 2010, com geração de uma receita de US\$ 6,7 bilhões, correspondendo um crescimento de quase 35 %.

A produção avícola brasileira representa hoje 1,5 % do PIB, gerando cerca de 5 milhões de empregos diretos e indiretos e quase US\$ 7 bilhões apenas em exportações. Do total de carne de frango produzida, 70 % são destinadas ao mercado doméstico e os 30 % restantes são embarcados para 153 países (ABEF, 2008; UBABEF, 2010; MEDEIROS, 2011).

A Figura 1 ilustra os maiores exportadores de carne de frango.



**Figura 1.** Países exportadores de carne de frango  
**Fonte:** UBABEF, 2012.

Estes dados refletem a importância da avicultura brasileira, um dos setores mais consideráveis da economia nacional (ABEF, 2008). O desempenho nas exportações representa um atestado de qualidade e

sanidade para o produto brasileiro, por parte dos mais variados e exigentes importadores. Portanto, é imprescindível que se dedique uma maior atenção à gestão da qualidade em toda a cadeia de produção avícola associada à segurança alimentar, ou seja, às características da qualidade quanto à sanidade dos animais, ausência de substâncias nocivas e aos padrões microbiológicos.

## **2.2. Doenças microbianas de origem alimentar**

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), Doença de Origem Alimentar (DOA) é um termo genérico, e pode ser definida como aquela, de natureza infecciosa ou tóxica, causada por agentes que entram no organismo por meio da ingestão de alimentos contaminados (OMS, 2012).

O termo é aplicado para identificar uma síndrome em geral constituída de anorexia, náuseas, vômitos e/ou diarreia. As DOA são atribuídas à ingestão de água ou alimentos contaminados com bactérias, vírus, parasitas, toxinas, príons, agrotóxicos, produtos químicos e metais pesados. O quadro clínico das DOA depende portanto do agente etiológico envolvido, e pode variar de um leve desconforto intestinal até quadros extremamente críticos, com desidratação grave, diarreia sanguinolenta, insuficiência renal aguda (síndrome hemolítica urêmica) e insuficiência respiratória (BRASIL, 2008b).

A Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (RDC 12/2001 da ANVISA), que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos destinados ao consumo humano, define doença de origem alimentar, como aquela “causada pela ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico, ou pela toxina por ele produzida, por meio da transmissão desse agente ou de seu produto tóxico” (BRASIL, 2001).

Mais de 250 diferentes tipos de DOA são descritas e as mais conhecidas são cólera, febre tifoide, botulismo, salmonelose, estafilococose e colibacilose, sendo a campilobacteriose considerada uma DOA emergente (BRASIL, 2008b).

De modo geral, estas enfermidades são identificadas por sintomas

gastrointestinais, sobretudo diarreia, vômitos e dores abdominais. Ressalte-se que, além das bactérias, outros organismos podem causar diarreia mediante a ingestão de alimentos, incluindo protozoários e vírus. No entanto, as bactérias são de maior importância e maior ocorrência, sendo as únicas cujos limites são definidos pela legislação para alimentos (BRASIL, 2001).

A frequência real das doenças de origem alimentar é desconhecida, e apenas alguns países possuem sistemas efetivos de informação. Na maioria dos países, uma pequena parcela dos casos são registrados. Acredita-se que os registros da incidência das doenças de origem alimentar seja menor do que 1 % do valor verdadeiro (OMS, 2012).

Em geral, o aumento da incidência das DOA resulta em impacto socioeconômico para a população humana e prejudica as negociações internacionais de alimentos (HANASHIRO, 2002; SANTOS, 2006).

Dados estatísticos sobre patógenos de origem alimentar e sobre seu impacto socioeconômico mundial demonstram que o tratamento das enfermidades causadas por estes agentes têm altos custos e elevado número de mortes. Na África, Ásia, e na América Latina, ocorrem mais de 1 bilhão de casos de gastroenterites por ano em crianças menores de 5 anos de idade, estimando-se que ocorra cerca de 5 milhões de óbitos. No México e Tailândia, metade das crianças entre 0 e 4 anos de idade sofrem de enterite causada por *Campylobacter*. Na Europa ocorrem 50 casos de gastroenterites agudas em cada mil habitantes. Na Holanda, aproximadamente 300 casos/mil pessoas ocorrem anualmente. Na Irlanda do Norte e na República da Irlanda, mais de 3,2 milhões de episódios de gastroenterites são relatados a cada ano. Na Austrália, 5,4 milhões de casos de gastroenterites de origem alimentar ocorrem anualmente. Na Inglaterra, 9,4 milhões de pessoas sofrem de gastroenterite aguda por ano, e os principais micro-organismos que contribuem são Norovirus, *Campylobacter*, Rotavirus e *Salmonella* spp. do tipo não tifóide (BHUNIA, 2008).

Em 2009, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), nos Estados Unidos, órgão responsável por gerir a Rede de Vigilância Ativa de Doenças de Origem Alimentar (*FoodNet*), identificou 17.468 casos de infecções de origem alimentar confirmados em laboratório, destacando-se a

incidência de infecções causadas por *Campylobacter*, *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia coli* O157, *Shigella*, *Yersinia* e *Vibrio* (CDC, 2010a).

Perdas econômicas anuais pelo resultado de mortes, doenças, ausências no trabalho, perda de mão de obra e perda de produto alcançam cerca de US\$ 35 bilhões. Soma-se a isto, o fato de que alguns tipos de gastroenterites agudas de origem alimentar deixam sequelas que podem resultar em doenças reumatóides crônicas, espondilites, síndrome urêmica hemolítica e aterosclerose devido à deposição de lipídios nas artérias, síndrome de Guillain-Barré por infecções por *Campylobacter* e doenças autoimunes, como a encefalite alérgica e a polineurite (BHUNIA, 2008).

No Brasil, a ocorrência de surtos é de notificação obrigatória desde 1999, conforme Portaria GM/MS nº 1.461, de 22/12/99, mas a subnotificação é evidente. Na maioria das vezes, isto ocorre porque a doença manifesta-se de forma leve, sem necessitar de tratamento médico. Desta forma, o consumidor, em geral não considera importante a ocorrência de distúrbios gastrintestinais esporádicos, além de desconhecer que pode e deve denunciar, contribuindo para evitar novos casos. Colabora ainda para a subnotificação, a rotina sobrecarregada dos serviços de saúde, que negligenciam a notificação dos surtos de doenças de origem alimentar. Este é um fenômeno mundial e os números de casos notificados representam apenas um pequeno percentual do real (BRASIL, 1999; VARGAS, 2002).

Assim, o perfil epidemiológico das doenças de origem alimentar no Brasil ainda é pouco conhecido e carente, pois apenas alguns estados e/ou municípios dispõem de estatísticas e dados sobre os agentes causadores das DOA, os alimentos mais frequentemente envolvidos e os fatores contribuintes (VARGAS, 2002).

## **2.3. O agente *Campylobacter jejuni***

### **2.3.1. Histórico e caracterização do agente**

Patógenos emergentes são por definição os micro-organismos infectantes cuja incidência tem aumentado ou é provável que aumente nas próximas décadas em razão de mudanças demográficas, nos hábitos

alimentares, nas práticas de preparo, comércio, fontes de água ou fatores ambientais. Estas mudanças proporcionam vantagens seletivas para patógenos de água ou de alimentos (GUGNANI, 1999; CALIL et al., 2008).

A campilobacteriose é reconhecida como um problema veterinário desde o início do século 20, quando o primeiro isolamento foi relacionado com o aborto infeccioso de ovelhas e cabras (JAY, 2005; CALIL et al., 2008).

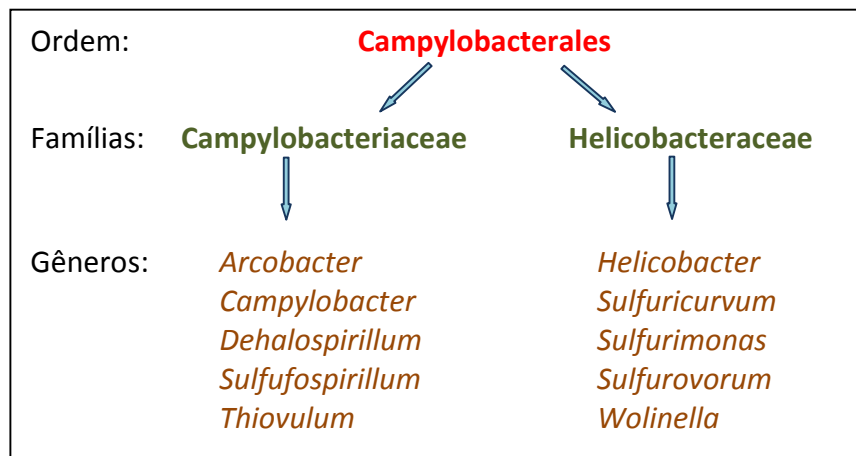
*Campylobacter jejuni* despontou como uma bactéria emergente importante, sendo a causa mais comum de diarreia em crianças de países em desenvolvimento e a causa primária de enterites em regiões industrializadas (CARVALHO et al., 2001).

Em 1946 foi descrito um surto de diarreia em humanos, sugerindo-se a ingestão de leite cru como a provável via de transmissão, estabelecendo assim, a primeira infecção humana relacionada ao *Campylobacter* spp. (PINHEIRO, 2003; CALIL et al., 2008).

Até 1963, as espécies de *Campylobacter* eram classificadas como pertencentes ao gênero *Vibrio*, e foi quando Sebald e Véron (1963) propuseram a criação do gênero *Campylobacter* (do grego *campylo* = curvo e *bacter* = bacilo), com base na taxa Guanina/Citosina (G+C) do DNA, uma vez que para o gênero *Vibrio* a taxa oscilava em torno de 47 %, enquanto que para o gênero *Campylobacter* era de 30 a 40 %. Considerando estudos filogenéticos, Véron e Chateleine (1966) propuseram a inclusão do gênero *Campylobacter* na família Spirillaceae. Krieg (1984) propôs que o gênero *Campylobacter* não fosse mais incluído na família Spirillaceae, por apresentar características filogenéticas distintas. Corroborando estas hipóteses, Vandamme e Del Ley (1991) avaliaram as características fenotípicas e genotípicas pela hibridização DNA-rRNA e propuseram a criação da família Campylobacteraceae, à qual pertencem os gêneros *Arcobacter* e *Campylobacter* (Figura 2).

O gênero *Campylobacter* engloba 17 espécies, 6 subespécies e 3 biotipos. As espécies mais frequentemente isoladas de animais e diarreia humana são: *C. jejuni* subsp. *jejuni*, *C. jejuni* subsp. *doylei*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* e *C. helveticus*. Já as espécies *C. consisus*, *C. showae*, *C. curvus*, *C. rectus*, *C. gracialis*, *C. mucosalis*, *C. sputorum* e *C. hominis* parecem estar mais relacionados à cavidade oral humana, a exceção de *C.*

*hominis* que foi encontrado no intestino grosso humano e de *C. sputorum* que também foi isolado do trato genital e entérico de animais.



**Figura 2.** Nomenclatura de grupo filogenético da superfamília VI de rRNA.

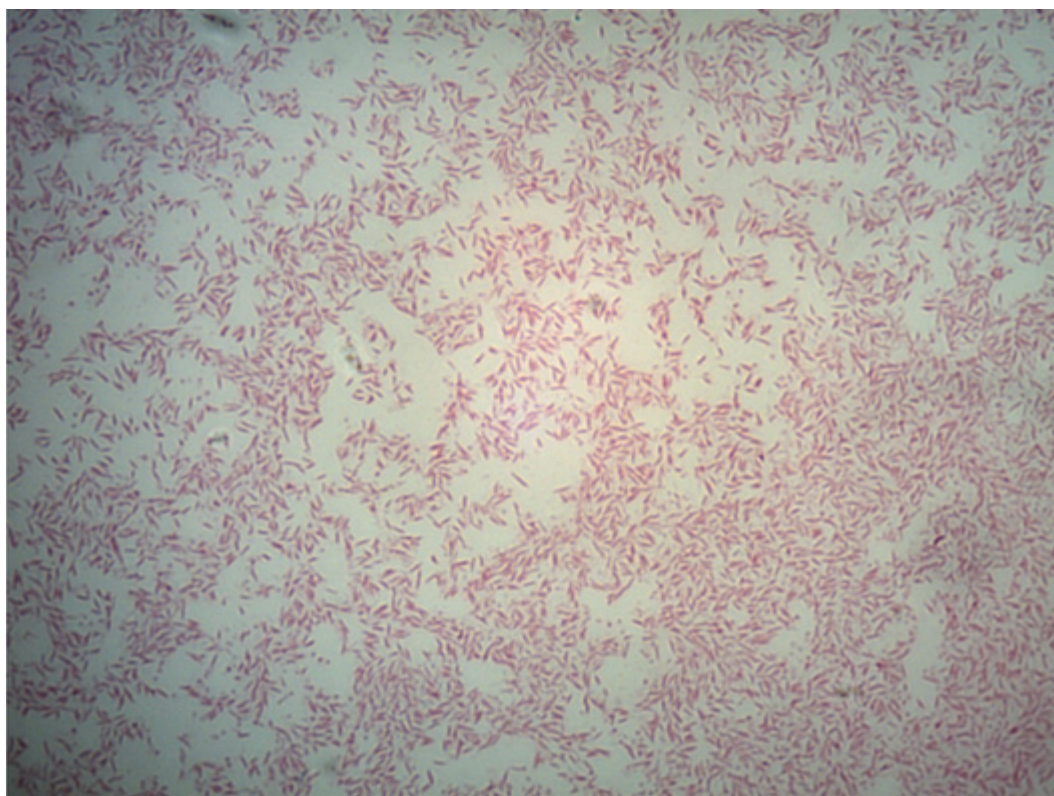
Fonte: Adaptado de Euzéby (2010).

O grupo ainda compreende as espécies *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. fetus* subsp. *venerealis*, *C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *C. hyointestinalis* subsp. *lawsonii* e *C. laniane*, que apresentam maior diversidade de habitat. O *C. fetus* está implicado em disfunção do aparelho reprodutivo de vários animais; *C. hyointestinalis* é de origem entérica e também encontrada no estômago de suínos e *C. laniane*, isolado a partir de fezes de trabalhadores sadios de abatedouros (ON, 2001; WOO et al., 2002; FOSTER et al., 2004; CALIL et al., 2008; LOPES, 2009; EUZÉBY, 2010; MEDEIROS, 2011).

*Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*, *C. coli* e *C. lari* representam o grupo de bactérias denominadas termofílicas, dado a temperatura ótima de multiplicação oscilar entre 42 e 43 °C, e constituem as espécies de *Campylobacter* mais frequentemente isoladas de enterites humanas e animais (WOO et al., 2002; FOSTER et al., 2004; CALIL et al., 2008).

As bactérias do gênero *Campylobacter* apresentam-se como bastonetes em forma de vírgula, “S”, asa de gaivota ou espiral, cujas dimensões variam entre 0,2 a 0,9 µm de largura por 0,5 a 5 µm de comprimento (Figura 3). São bactérias gram-negativas, microaerófilas, não

hemolíticas, não esporuladas e as colônias frequentemente não são pigmentadas (CALIL et al., 2008).



**Figura 3.** Morfologia de *Campylobacter* spp. sob coloração de Gram. Bastonetes delgados gram-negativos. Aumento de 1000X.  
**Fonte:** Dados da pesquisa.

São móveis por meio de flagelo único em uma ou ambas extremidades, possuem movimento característico em “serrote” ou “sacacola”, que pode ser observado claramente em microscópio de contraste de fase ou de campo escuro. Apresentam metabolismo do tipo aeróbico e não utilizam carboidratos como fonte de carbono (VANDAMME e DEL LEY, 1991; HOLT et al., 1994; CALIL et al., 2008).

À medida que os cultivos envelhecem (células com mais de 48 horas), ou sob condições adversas de cultivo, os bacilos espiralados ou curvos são substituídos por formas esféricas, podendo tornar-se predominantemente cocóide, o que representa um estágio degenerativo de seu ciclo de vida, sem levar à perda de seu poder infectante (NACHAMKIN, 2007; CALIL et al., 2008).

A transição da morfologia celular vibrióide para uma forma cocóide ocorre na fase estacionária do crescimento e, durante esse processo, não são detectáveis por metodologias convencionais, que corresponde à forma viável, mas não cultivável (VNC). Ou seja, ficam incapazes de multiplicar em meios seletivos de isolamento, mas podem ser transmitidas e causar infecção em humanos (BOVILL e MACKAY, 1997; ALTEKRUSE et al., 1999; FORSYTHE, 2002; LEE e NEWELL, 2006; LOPES, 2009). Esta característica representa um perigo potencial à saúde pública e é de grande importância em microbiologia de alimentos, uma vez que um alimento depois de analisado pode ser classificado como próprio para o consumo embora apresente células desse patógeno não detectadas previamente (FORSYTHE, 2002).

As bactérias do gênero *Campylobacter* são sensíveis a altas taxas de oxigênio. De acordo com diferentes autores, desenvolvem-se melhor em atmosfera que contenha as seguintes concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>: 5 - 10 % de O<sub>2</sub> e 3 - 5 % de CO<sub>2</sub> (ADAMS e MOSS, 1995), 3 - 15 % de O<sub>2</sub> e 3 - 5 % de CO<sub>2</sub> (JORDAN e PATTISON, 1996) e 3 - 6 % de O<sub>2</sub> e 10 % de CO<sub>2</sub> (JAY, 2005).

Bolton et al. (1984) observaram que para aumentar a tolerância ao oxigênio os meios devem conter sulfato ferroso, metabissulfito de sódio, piruvato de sódio, cuja combinação é chamada de FBP, além de carvão e sangue. Estas substâncias irão prevenir acúmulo de foto-derivativos do oxigênio nos meios de cultura e neutralizar o peróxido de hidrogênio e íons superóxido, produzidos durante a multiplicação nos meios de cultura, por serem tóxicos para *Campylobacter*, além de neutralizar os inibidores da trimetoprima (KUANA et al., 2008a; SILVA et al., 2010; MOURA, 2010).

Debruyne et al. (2008) relataram que esta bactéria não tem atividade de fermentação e oxidação de carboidratos, de lipase e de lecitinase, não formam produtos finais ácidos ou neutros, não tem a produção de indol, acetoina e qualquer tipo de pigmento. A energia é obtida pelos aminoácidos ou ciclo intermediário do ácido tricarbóxico. A maioria das espécies reduz nitratos, não hidrolisam gelatina, caseína, tirosina e hipurato, sendo este último somente hidrolisado pelo *C. jejuni*. O teste é negativo para vermelho de metila ou o teste Voges-Proskauer. A oxidase é positiva para

praticamente todas as espécies, com exceção do *C. gracilis*. O teste da urease também é negativo para a maioria das espécies de *Campylobacter* com exceção de algumas cepas de *C. lari* (MOURA, 2010).

Apresentam comparativamente um crescimento lento, demandam cerca de 48 horas para formar colônias visíveis em meio sólido à  $42 \pm 1$  °C. As espécies são identificadas principalmente baseando-se na capacidade de se multiplicar em diferentes condições de cultivo e na presença de várias substâncias inibitórias. Não são capazes de resistir à temperatura de cocção e de pasteurização, não proliferam abaixo de 28 °C e mal resistem à temperatura ambiente. Mesmo que sua viabilidade diminua durante o armazenamento em refrigeração ou em congelamento, podem permanecer viáveis durante muito tempo e tem-se registrado sobrevivência no leite e em água a 4 °C após armazenamento por quatro semanas e em carcaça de aves abatidas após vários meses (ADAMS e MOSS, 1995; CALIL et al., 2008). Segundo Frazier e Westhoff (1993), estas espécies são inativadas a temperaturas acima de 45 a 50 °C.

Para reduzir a competição com outros tipos de bactérias, os meios devem conter combinações dos antibióticos como cefoperazona, trimetoprima, vancomicina, rifampicina, anfotericina B e cicloeximida. A vancomicina inibe as bactérias gram positivas, a trimetoprima inibe *Proteus*, a cefoperazona inibe bactérias Gram negativas entéricas e algumas Gram positivas, e a anfotericina B e a cicloeximida inibem fungos (SILVA et al., 2007).

As espécies do gênero *Campylobacter* possuem uma microcápsula de glicoproteína (K), antígenos somáticos (O) típicos das bactérias Gram negativas e antígenos flagelares (H). Tem-se demonstrado que a cápsula glicoproteica é antifagocitária (CALIL et al., 2008). Antígenos majoritários incluem as proteínas porina, flagelina e a CadF, que facilitam a ligação das células de *Campylobacter* à fibronectina, desempenhando importante função no processo de adesão à mucosa intestinal da célula hospedeira (PEREZ-PEREZ e BLASER, 1991; ZIPRIN et al., 1999; OLIVEIRA, 2006).

A dose infectante é em torno de  $5 \times 10^2$  bactérias em alguns indivíduos e em outros seria necessário uma quantidade maior. A taxa de letalidade estimada para as infecções por *C. jejuni* é de 1 (um) óbito por dez

mil casos. Óbitos são raros em indivíduos saudáveis e costumam ocorrer em pacientes com câncer ou outras doenças debilitantes. O período de incubação varia de 2 a 5 dias após a ingestão de água ou alimentos contaminados. A duração da doença é de 7 a 10 dias e reincidências não são incomuns (CVE, 2011; COSTA, 2012).

O mecanismo pelo qual *C. jejuni* causa doenças em humanos ainda não está completamente elucidado. Dois tipos de diarreias são observados: uma diarreia inflamatória, com febre, fezes sanguinolentas contendo leucócitos, e uma diarreia não inflamatória, com fezes aquosas e ausência de leucócitos e sangue. Investigações da patogenicidade de *Campylobacter* permitiram reconhecer quatro propriedades diferentes de virulência: motilidade, aderência, invasão e produção de toxina.

O formato curvo da célula e o movimento típico em “saca-rolha” conferido pelos flagelos facilitam o contato com o epitélio do intestino, o que permite a adesão e a penetração na célula intestinal (FERNANDEZ, 2008; LOPEZ, 2009). A adesão da bactéria na superfície epitelial é importante no processo de colonização, e pode ser mediada por estruturas fimbriais presentes na superfície bacteriana. A invasão do epitélio celular pode ser observada *in vitro* e *in vivo*. No entanto, o grau de invasão é normalmente baixo, com menos de 1 % em testes *in vitro*. Desta forma, a produção de toxina é considerada o fator mais importante. Espécies de *Campylobacter* produzem três tipos de toxinas que contribuem de forma relevante para sua enteropatogenicidade (SOLOMON e HOOVER, 1999; FORSYTHE, 2002; OLIVEIRA, 2006):

a) As enterotoxinas termossensíveis são proteínas secretadas que se ligam a receptores celulares, dentro da célula, e aumentam a concentração de AMP cíclico das células intestinais, e causa mudanças no fluxo de íons e excesso de secreção do fluido, o que resulta em diarreia aquosa. A enterotoxina de *Campylobacter* é homóloga à toxina do *Vibrio cholerae* e à toxina termolábil de *E. coli*.

b) As citotoxinas são proteínas que causam danos às células intestinais como um pré-requisito para o início da secreção de líquidos; são invasivas e destroem as células-alvo. Seu modo de ação pode ser tanto intracelular quanto pela formação de poros nas células. As citotoxinas intracelulares

inibem a síntese proteica da célula ou a formação de filamento de actina. As citotoxinas que causam formação de poros nas células-alvo podem ser detectadas por sua atividade lítica nos eritrócitos, e resultam em diarreia inflamatória, com presença de sangue e leucócitos nas fezes.

c) As toxinas citoletais distensoras afetam o ciclo regulatório da célula hospedeira. As toxinas inibem a desfosforilação da proteína-quinase cdc2, impedem que as células realizem mitose e também pode causar diarreia.

Embora a maioria das infecções seja auto-limitante, são comuns as recidivas do quadro clínico. Nos casos de bacteremia, pode ocorrer alta mortalidade (BLASER, 1982; GERMANO e GERMANO, 2008).

Além da gastroenterite, *C. jejuni* é capaz de causar uma grave doença, a Síndrome de Guillain-Barré (SGB), uma perturbação resultante da resposta imune, em que anticorpos causam a desmielinização dos nervos, impedindo os impulsos nervosos e culminando numa progressiva paralisia neuromuscular aguda, de membros e músculos respiratórios. Estima-se que essa complicação ocorra, aproximadamente, uma vez a cada 1000 casos de campilobacteriose (ALTEKRUSE et al., 1999; BHUNIA, 2008). Mais de 40 % dos pacientes com SGB têm evidência de infecção recente por *Campylobacter* spp., podendo 5 % chegar ao óbito (STERN et al., 2001).

O mecanismo imunológico, bem como os antígenos envolvidos ainda são pouco conhecidos, mas o processo parece ser semelhante a uma resposta imune primária. Na polineuropatia inflamatória aguda demielinante a evolução dos sintomas pode ser rápida; em geral ocorre em poucos dias, embora possa ser fulminante, envolvendo dependência respiratória em 24 a 48 horas. A principal manifestação é uma paralisia ascendente com um comprometimento sensorial de leve a moderado. Febre no início dos sintomas neurológicos pode confundir o diagnóstico (ASBURY, 2000; COSTA, 2012).

Em análises sorológicas realizadas no Japão, observou-se que de 35 a 40 % dos pacientes com SGB tinham sido infectados recentemente, sugerindo que os anticorpos dirigidos contra determinados sorotipos de *C. jejuni* reagem cruzadamente com as proteínas dos nervos periféricos, causando a sua degeneração (SCARCELLI e PIATTI, 2002; COSTA, 2012).

Aproximadamente 20 % dos pacientes com Guillain-Barré sofrem sequelas motoras e em 5 % há óbito, apesar dos avanços nos cuidados dos distúrbios respiratórios (KUROKI et al., 1993; CARVALHO, 2009).

Dourado et al. (2003) pesquisaram a SGB em pacientes do Rio Grande do Norte – Brasil, no período de junho de 1994 a novembro de 1999, e detectaram em 8/21 (38,1 %) dos pacientes o anticorpo anti-*C. jejuni*. Rocha et al. (2004) avaliaram 95 casos de pacientes com Guillain-Barré internados no Hospital Santa Marcelina em São Paulo – Brasil, e observaram que em 12 % dos casos houve relato de gastroenterite prévia antes do aparecimento dos sintomas da Síndrome. Desde a erradicação da poliomielite em grande parte do mundo, a SGB tornou-se a causa mais comum de paralisia flácida aguda (FORSYTHE, 2002; CARVALHO, 2009).

A Síndrome de Reiter é outra consequência decorrente da infecção associada a essa bactéria, que ocorre em cerca de 1 % dos pacientes, 7 a 10 dias após o início da diarreia e caracteriza-se por dor nas articulações que pode durar vários meses ou se tornar crônica (ALTEKRUSE et al., 1999, STERN et al., 2001).

### **2.3.2. Surtos de infecções de origem alimentar associados a *Campylobacter* spp.**

A ocorrência de infecções associadas a *Campylobacter* notificadas tem aumentado notadamente em muitos países desenvolvidos nos últimos 20 anos. A falta de notificação é um problema na maioria dos países e as taxas de incidência só correspondem aos casos confirmados em laboratório. Em consequência, a verdadeira taxa de infecção é maior do que o número de casos notificados, estimada entre 7,6 a 100 vezes mais alta (FAO, 2011).

Causador de enterite no homem e pertencente ao grupo de *Campylobacter* termófilos, acredita-se que mais de 95 % dos casos de gastroenterites humanas sejam associadas a *C. jejuni* (PARK, 2002; CDC, 2008). Estima-se que, anualmente, mais de 2,5 milhões de casos de enterite ocorram por *C. jejuni*, em todo mundo, índice que já supera os casos de salmonelose e em muito os casos de shigelose (MADALOZZO et al., 2007a; CDC, 2010b).

Rantsiou e colaboradores (2010) destacam que, além de medidas de biossegurança no nível de produção primária, nenhuma outra medida oficial de controle tem sido recomendada para o controle deste patógeno. Isto é em decorrência da falta de dados quantitativos sobre a prevalência e o nível de contaminação de diferentes produtos alimentícios com *Campylobacter* spp., não permite uma avaliação quantitativa dos riscos.

Pesquisas sobre a epidemiologia da campilobacteriose em seres humanos vêm sendo realizadas em países da União Europeia e nos Estados Unidos. Segundo Fonseca (2006), outros países menos desenvolvidos como China, México, Chile, Guatemala, Peru, Singapura, Libéria, África do Sul e Bangladesh, também têm pesquisado a doença, mas ainda não criaram uma tradição de diagnósticos.

Em termos gerais, a dose infectante oscila entre  $10^2$  a  $10^4$  células e o período de incubação pode variar de 1 a 7 dias, e os sintomas persistem por 2 a 10 dias, com excreção de  $10^6$  a  $10^9$  células de *C. jejuni* por grama de fezes (CALIL et al., 2008).

Pacientes portadores de AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) e pacientes com algumas outras imunodeficiências individuais podem desenvolver infecções severas, persistentes ou recidivantes. A infecção por *C. jejuni* em pessoas em estágio avançado de AIDS é cerca de 40 vezes mais frequente do que na população em geral (AWWA, 2009).

A campilobacteriose é mais frequente nos meses de verão. De acordo com a FDA (2004), a suscetibilidade é geral, embora crianças menores de 5 anos e adultos jovens entre 15 a 29 anos, sejam mais acometidos do que outras idades. Há um predomínio de homens dentre as pessoas infectadas, desde a infância até a velhice. As razões destas distribuições etária e sexual são ainda desconhecidas.

As gastroenterites por *C. jejuni* são relatadas, em geral como casos esporádicos, embora os surtos também possam ocorrer (HOBBS e ROBERTS, 1999). A maioria deles são infecções esporádicas ou surtos em pequenas famílias, que afetam apenas 2 ou 3 pessoas. Grandes surtos são incomuns e normalmente não estão associados ao consumo de carne de aves cruas, mas sim à ingestão de leite cru ou de água contaminada.

Entretanto, de acordo com informações do CDC, a maioria dos casos de campilobacteriose está associada à manipulação da carne de frangos ou ao consumo deste tipo de carne crua ou mal cozida, ressaltando-se que apenas uma gota de seu líquido é suficiente para causar infecção em uma pessoa. Embora o *Campylobacter* não seja associado a ocorrência de mortes, estima-se que, aproximadamente, 100 pessoas vítimas de infecção possam morrer a cada ano (CDC, 2010a).

A campilobacteriose é a causa mais comum de doença diarreica nos Estados Unidos, e a vigilância ativa do *FoodNet* indica que cerca de 13 casos são diagnosticados por ano para cada 100.000 habitantes. Muitos outros casos não são diagnosticados ou não são notificados, mas a estimativa é de que este micro-organismo atinja 2,4 milhões de pessoas todos os anos, ou seja, 0,8 % da população americana, com 119 mortes (LOPEZ, 2009; CDC, 2010b; SCALLAN et al., 2011; MEDEIROS, 2011).

O primeiro surto de *C. jejuni* nos Estados Unidos foi de origem hídrica, pelo consumo de água de abastecimento. Cerca de dois mil indivíduos contraíram a infecção. Os sintomas foram: dores abdominais ou câimbras (88 %), diarreia (83 %), mal estar (76 %), dor de cabeça (54 %) e febre (52 %). Os sintomas desaparecem em um a quatro dias. Nos casos mais graves, fezes com sangue podem ocorrer, e a diarreia pode assemelhar-se à colite ulcerativa, na qual as dores abdominais assemelham-se a apendicite aguda (CDC, 2010b).

Em Connecticut, Estados Unidos, durante um acampamento de verão, houve um surto de gastroenterite, no qual identificaram *Campylobacter jejuni* em 16/41 (39%) pessoas. A causa do surto foi o manipulador, que doente, preparou a salada para os campistas com as mãos contaminadas pela bactéria (BLASER et al., 1980).

Outro surto foi relatado ao *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) nos EUA em outubro de 2007, quando 101 pessoas consumiram queijo produzido a partir de leite cru em uma propriedade rural no Kansas. Destas, 67 (66 %) adoeceram e em 3 pessoas foi isolado *C. jejuni*, e embora não tenha sido detectado nas amostras de queijo, os resultados da investigação epidemiológica demonstraram que houve associação entre a doença e o consumo do queijo (LOPEZ, 2009).

No Reino Unido, dos pacientes hospitalizados por causa de doenças de origem alimentar, 82 % apresentaram quadros de campilobacteriose. Em 2000 ocorreram, aproximadamente, 360.000 casos de infecções associados a *Campylobacter* spp., totalizando 27 % das doenças de origem alimentar na Inglaterra e região de Gales. Nestes países, o número de casos confirmados de *C. jejuni* pelos serviços de saúde pública tem aumentado consideravelmente, ultrapassando em 3,6 vezes os casos de infecção por *Salmonella* spp. (ADAK et al., 2005; LOPEZ, 2009; MEDEIROS, 2011).

Na Dinamarca, o número de casos registrados triplicou no período de 1992 a 1999, atingindo o índice de 78/100.000 habitantes afetados pela enfermidade, em que 95 % dos casos foram associados a *C. jejuni* (NIELSEN et al., 2000). Em Copenhagem, Dinamarca, ocorreu um surto em 2005 causado por *C. jejuni* em razão do consumo de prato à base de frango por empregados de uma empresa, que foi o primeiro grande surto identificado de campilobacteriose naquele país (MAZICK et al., 2006).

Na República Tcheca, 20.000 casos foram relatados no ano 2000, cerca de 200 casos para cada 100.000 habitantes (STEINHAUSEROVA et al., 2002). No Japão, entre os anos de 1996 a 2000, *C. jejuni* foi responsável por 40,5 % dos casos gastroenterites em pacientes que apresentavam fezes sanguinolentas (OBANA et al., 2002).

Em Madri, na Espanha, em maio de 2003 foi identificado um surto de gastroenterite por *Campylobacter* em uma escola, em que 81 casos foram identificados em um total de 253 pessoas avaliadas. O estudo revelou que uma sobremesa à base de creme produzida com leite UHT foi o veiculador do patógeno. O creme foi contaminado por *C. jejuni* proveniente do frango cru que havia sido preparado no dia anterior, na mesma cozinha (JIMÉNEZ et al., 2005).

Outro surto aconteceu no Canadá, quando em junho de 2007, água e lama contaminadas com fezes de animais foram ingeridas pelos participantes de uma longa corrida de bicicleta, que afetou mais de 200 dos 785 participantes da corrida em British Columbia (STUART et al., 2008).

No Brasil, alguns autores têm relatado a presença de *Campylobacter* spp. em casos de diarreia aguda ou crônica e até em indivíduos assintomáticos (ESCOBAR, 1993; TOSSIN e MACHADO, 1995; PALMA et

al., 1997; TRABULSI et al., 2002; PINHEIRO, 2008). Em São Paulo, nos quadros diarreicos, a incidência tem alcançado índice próximo a 26 %, sendo o segundo enteropatógeno isolado (SCARCELLI et al., 2005b; CALIL et al., 2008).

No Brasil há relatos da presença de *Campylobacter* spp. em fezes de indivíduos com diarreia aguda ou crônica e até em indivíduos assintomáticos, e a incidência de quadros diarreicos varia entre 2,3 a 17 %, dependendo da faixa etária e das condições socioeconômicas dos pacientes (PINHEIRO, 2008).

Em países em desenvolvimento, alta taxa de portadores assintomáticos está, provavelmente, relacionada com a presença de anticorpos séricos produzidos em consequência de repetidas infecções, sendo muito comum em indivíduos que vivem em condições higiênicas insatisfatórias ou, por razões laborais, mantêm estreito contato com animais ou outras fontes de infecção (FERNANDEZ, 2002; TRABULSI et al., 2002; MOURA, 2010).

Na cidade de São Paulo, Escobar (1993) estudou a doença diarreica aguda em crianças menores de 5 anos de idade. O autor observou a frequência de 10,1 % para *C. jejuni* e que este patógeno estava significativamente associado a episódios de diarreia aguda. Também na cidade de São Paulo, Calzada et al. (1994) pesquisaram durante sete anos, 7.652 amostras de fezes, isolando 285 (3,7 %) estirpes de *Campylobacter* spp., sendo 83,86 % da espécie *C. jejuni*, provenientes especialmente de crianças com idade inferior a quatro anos, e 14,38 % de adultos acima de 20 anos.

Tosin e Machado (1995) relataram a presença de portadores de *Campylobacter* spp. em 11/177 (6,2 %) dos manipuladores de alimentos da região Sul do Brasil, principalmente nos indivíduos do sexo masculino.

Palma e colaboradores (1997) observaram que o agente mais frequentemente isolado entre os casos de diarreia infantil no Hospital "Umberto I", em São Paulo, era *Escherichia coli* enteropatógena clássica com ocorrência de 20/40 (50 %), seguido pelo *Campylobacter* spp. 3/40 (7,5 %).

O Centro de Vigilância Epidemiológica de São Paulo (CVE-SP)

registrou em 2001, na cidade de Luís Antônio – SP, um surto que envolveu 11 pessoas. Foram identificados 4 agentes: *Campylobacter* spp., *E. coli* O158, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia*, porém a fonte de transmissão não foi relatada (CVE, 2001).

Outros dois surtos de *Campylobacter* foram notificados pelo CVE-SP em 2003. Em um deles, identificou-se o agente em 3 pessoas que haviam consumido ovos de páscoa contaminados, na cidade de Ribeirão Preto – SP. No outro surto, na cidade de Santo André – SP, duas pessoas foram contaminadas após ingestão de frango (CVE, 2003).

No Brasil, como em outros países em desenvolvimento, não há programas nacionais de vigilância que investiguem a incidência da campilobacteriose, o que torna os dados bastante escassos. Soma-se a isto a existência de poucos laboratórios que desenvolvem estudos sobre essa bactéria, e, por conseguinte, poucos são os relatos na literatura nacional ou internacional com dados sobre isolamentos ou caracterizações de cepas brasileiras (VAZ, 2012).

### **2.3.3. Associação do consumo de carnes de aves com casos de campilobacteriose**

Há evidências de que a modernização na agropecuária afeta a incidência de micro-organismos causadores de doenças de origem alimentar, no trato intestinal e na superfície da pele dos animais. Há uma correlação entre a incidência de salmonelose humana e, mais recentemente, de campilobacteriose, com o aumento do consumo de aves e ovos. Na cadeia produtiva de frangos, alguns micro-organismos são rotineiramente mais diagnosticados e estudados. Entre eles, há destaca-se *Salmonella*, *Yersinia*, *Escherichia coli* e *Pasteurella*. Porém, outros patógenos surgem como bactérias emergentes ou reemergentes e de grande importância, dentre as quais destacam-se espécies do gênero *Campylobacter* (CALIL et al., 2008). A contaminação de carcaças de frangos em abatedouros é considerada o principal fator de risco para ocorrência de infecções humanas (ROZYNEK et al., 2005; CARVALHO, 2009).

A contaminação das aves pode ocorrer pela exposição horizontal direta ou indireta. O trato intestinal das aves domésticas é apontado como o principal reservatório de *Campylobacter jejuni* (MACHADO et al., 1994). A intensificação da produção avícola, com maior densidade de criação e mecanização dos sistemas produtivos, contribuiu para aumentar as taxas de contaminação das aves. A adoção de medidas preventivas antes e após o abate das aves, por exemplo, torna-se de grande importância para a indústria avícola, pois permitirá a redução da contaminação por patógenos evitando que produtos contaminados cheguem até o consumidor.

Nos países industrializados, a taxa de infecção por *C. jejuni* é alta, maior do que 80 % em frangos criados comercialmente em grande escala. A infecção pode ser transmitida a frangos recém-nascidos por meio do contato com aves mais velhas ou pela ingestão de água ou alimentos contaminados (CALIL et al., 2008).

Em estudos epidemiológicos observa-se que os frangos atuam como importantes reservatórios de *Campylobacter jejuni* e são, geralmente, colonizados nos primeiros dias de vida. Como o *C. jejuni* é parte da microbiota intestinal de aves selvagens e de aves domésticas migratórias, o micro-organismo pode atingir a água e os alimentos dos animais domésticos usados para consumo humano (HOBBS e ROBERTS, 1999).

Aquino e colaboradores (2005) acreditam que a rápida transmissão dentro de um lote de aves deve-se ao hábito coprofágico das mesmas e à facilidade com que *C. jejuni* coloniza o intestino. Estas bactérias localizam-se nas criptas do ceco e não atacam as microvilosidades, sendo atraídas pela mucina, uma proteína de alto peso molecular, principal constituinte do muco intestinal. Em adição, esta proteína pode ser utilizada por *Campylobacter* como substrato (SHOENI e DOYLE, 1992; JORDAN e PATTISON, 1996; CALIL et al., 2008).

Em pesquisa conduzida sobre a prevalência de espécies bacterianas em frangos comparou-se amostras de swab cloacal de frangos criados no sistema intensivo com frangos criados no sistema semi-intensivo. Foi observado que 100 % dos lotes de frangos criados no sistema semi-intensivo (orgânico) foram positivos para *Campylobacter* spp.. Em

contrapartida, apenas 36,7 % dos lotes de frangos confinados (sistema intensivo) foram positivos para este agente. Estes resultados sugerem que a maior frequência de *Campylobacter* spp. nos lotes de frangos criados livres pode ser decorrente da alta taxa desta bactéria presente no ambiente (OLIVEIRA, 2006).

Petton et al. (2001), ao associarem as características do local de criação e práticas de manejo adotadas com a presença ou ausência de contaminação dos lotes com *Campylobacter* spp., observaram que do total de lotes avaliados, 42,7 % estavam contaminados com o agente pesquisado. O nível de contaminação pode ser afetado por fatores como: estação do ano, sistema de distribuição de ar no galpão, número de pessoas envolvidas no manejo, tratamento dado à água servida às aves e presença de insetos na cama (OLIVEIRA, 2006).

Para os avicultores, o estudo de *Campylobacter* representa um desafio especial porque, até o presente, não são descritas enfermidades nas aves, embora frequentemente excretem de  $10^4$  a  $10^8$  células de *Campylobacter* por grama de fezes. Grande número de células de *Campylobacter* pode estar presente no trato intestinal de aves sem provocar nenhuma patologia aparentemente grave. Não há síndrome clínica reconhecida em criatórios avícolas atribuída à infecção por esta bactéria (CALIL et al., 2008).

Assim, o objetivo de controlar infecção em aves é para reduzir o potencial de transmissão da bactéria para os humanos, por meio dos alimentos. A preocupação concentra-se na epidemiologia e no controle da infecção em criatórios de frangos já que o consumo e manuseio de frangos de corte são identificados como a maior fonte de infecção por *Campylobacter* em humanos (JORDAN e PATTISON, 1996; CALIL et al., 2008).

#### **2.3.4. Carne e vísceras de aves como vias de contaminação por *Campylobacter* spp.**

A carne de aves e seus derivados têm alterações microbianas semelhantes aos outros tipos de carne. Entretanto, possui algumas particularidades, pois diferem em relação ao processamento tecnológico de outros produtos de origem animal, uma vez que a pele do frango, usualmente com altos índices de contaminação microbiana, não é comumente removida durante o processamento. A superfície externa das aves tem contato com equipamentos, mãos dos operários, luvas e utensílios, e assim tem-se a contaminação cruzada, o que resulta em um produto final com alto índice de contaminação microbiana (SCARELLI e PIATTI, 2002; CALIL et al., 2008).

Muitas formas de transmissão de *Campylobacter* spp. para humanos, principalmente de origem alimentar são descritas. Os fatores de risco mais significantes incluem o consumo ou a manipulação de frango e outras carnes cruas ou mal cozidas, e a ingestão de leite cru ou água não tratada. A contaminação cruzada de alimentos prontos para consumo durante a preparação, bem como o contato direto com animais, também são fatores identificados (HUSSAIN et al., 2007; CARVALHO, 2009).

Dentre os alimentos de origem animal, as carcaças e as vísceras de aves têm sido motivo de vários estudos que associam a ocorrência de contaminação com o material fecal durante as operações de abate. A exposição das vísceras para o trabalho da inspeção pode ser feita manualmente, com algum risco de rompê-las, seja por uso de faca ou tesoura abotoada (quando uma das pontas é romba). Porém, quando o abate é automatizado com uso de evisceradoras mecânicas, a possibilidade de contaminação da carcaça e do próprio equipamento aumenta em função do número elevado de aves abatidas por hora (CALIL et al., 2008).

Dados epidemiológicos sugerem que mais de 70 % das infecções esporádicas por *Campylobacter* são adquiridas pela manipulação de frangos ou da ingestão da sua carne contaminada (AWWA, 2009).

Estudos têm demonstrado a ocorrência de *Campylobacter* em amostras coletadas em diferentes etapas da cadeia produtora de aves

em todo o mundo. Na Tabela 1 estão sumarizados alguns dados sobre ocorrência de *Campylobacter* spp. em amostras de aves coletadas em diferentes etapas da cadeia produtora e em diferentes países, publicados nos últimos anos.

Para amostras de carcaças de abatedouros, a frequência de isolamento de *Campylobacter* spp. varia de 15 a 78 % (LINDBLAD et al., 2006; GHAFIR et al., 2007; ARSENAUT et al., 2007; SON et al., 2007; ATANASSOVA et al., 2007, LOPEZ, 2009), sendo mais alta na etapa de pré-chiller, conforme verificado por Son et al. (2007) que encontraram o micro-organismo em 100 % das amostras analisadas.

Em carcaças e cortes de aves obtidos no varejo, a positividade varia de 10 a 100 % (Tabela 1) (FERNANDEZ e PISÓN, 1996; UYTENDAELE et al., 1999; HARRISON et al., 2001; DOMÍNGUEZ et al., 2002; JORGENSEN et al., 2002; PEZZOTTI et al., 2003; SCHERER et al., 2006; WHYTE et al., 2006; MELDRUM e WILSON, 2007; KLEIN et al., 2007; SALLAM, 2007; POINTON et al., 2008). Segundo estes autores, a alta ocorrência de *C. jejuni* gera um risco aos consumidores, visto que este micro-organismo é o mais frequentemente associado a doenças em humanos.

Nos Estados Unidos, o isolamento de *C. jejuni* e *C. coli* de carcaças de frango é aproximadamente seis vezes maior do que de o isolamento em carne de suínos e bovinos, variando entre 30 a 100% de positividade (CALIL et al., 2008).

No Brasil, também foram observados altos percentuais de isolamentos de *C. jejuni* e *C. coli* a partir de carcaças de frangos. Na Tabela 2 encontram-se resumidos alguns estudos sobre a ocorrência destes agentes em aves e derivados, de amostras coletadas em granjas avícolas e em abatedouros no Brasil.

**Tabela 1.** Relatos sobre ocorrência de *Campylobacter* spp. em aves e subprodutos em diferentes países.

Tipo de amostras	Nº de amostras	Prevalência	Espécie	País	Referência
Carcaças de frango de abatedouro	270	71,9 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Bélgica	Ghafir et al., 2007
Fígado de frango congelado	126	92,2 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Chile	Fernandez e Pisón, 1996
Carcaças de frango do varejo	95	77 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Reino Unido	Harrison et al., 2001
Cortes de frango	198	49,5 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Espanha	Dominguez et al., 2002
Cortes de frango	101	92 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Inglaterra	Jorgensen et al., 2002
Cortes de frango	155	81,3 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Itália	Pezzotti et al., 2003
Fígado de frango	30	100 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Nova Zelândia	Whyte et al., 2006
Carcaças de frango de abatedouro	636	15 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Suécia	Lindblad et al., 2006
Carcaças de aves do varejo	245	28,6 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Bélgica	Uyttendaele et al., 2006
Cortes de aves do varejo	418	31,6 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>		
Carne de aves processadas	70	10 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>		
Carcaças de frango do varejo	50	86 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Coréia	Scherer et al., 2006
Carcaças de frango do varejo	877	70,2 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Reino Unido	Meldrum e Wilson, 2007
Carcaças de frango de abatedouro	140	35,8 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Canadá	Arsenaut et al., 2007
Carcaças de frango do varejo	15	40 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Alemanha	Klein et al., 2007
Cortes de frango e produtos	110	64,7 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Japão	Sallam, 2007
Carcaças de frango de abatedouro	325	78,5 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	EUA	Son et al., 2007
Carne de peru de abatedouro	144	29,2 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Alemanha	Atanassova et al., 2007
Carne de peru de varejo	100	34 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Carcaças de frango do varejo	549 e 310	87,8 % e 93,2 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Austrália	Pointon et al., 2008
Carcaças de frango	218	65,5 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Polônia	Mackiw et al., 2012
	143	24,5 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Carcaças de frango do varejo	150	59,3 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Irã	Zendehbad et al., 2013
Carne de frango e peru	208	32,6 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	Itália	Nobile et al., 2013

A ocorrência de *Campylobacter* em carcaças ou cortes de aves varia com o país, etapa da cadeia produtora onde foi coletada a amostra e o método de análise empregado. Enquanto alguns pesquisadores empregam a técnica de enxágue (WHYTE et al., 2006; SON et al., 2007), outros optam por utilizar porções de pele de pescoço, peito, coxa etc. (UYTTENDAELE et al., 1999; JOGENSEN et al., 2002; SALLAN, 2007, GHAFIR et al., 2007; LOPES, 2009). Observa-se maior percentagem de positividade para *Campylobacter* ao utilizar o método de enxágue (WHYTE et al., 2006), por meio do qual foi possível detectar o patógeno em 100 % de 30 amostras de fígado de frango analisadas. Porém, deve-se considerar também a metodologia empregada para o enriquecimento e isolamento das amostras.

Diversos autores, no Brasil e em outros países, observaram diferentes percentuais de isolamentos de *C. jejuni* e *C. coli* a partir de fezes de frangos, variando em torno de 90 % (BLASER et al., 1980); 86,8 % (JARAMILLO, 1983); 17,7 % (CARVALHO et al., 2001); 42 % (CARVALHO et al., 2002); 5,2 % (GOMES et al., 2006) e 80,9 % (KUANA et al., 2008a) (Tabela 2 e 3). Na Tabela 3 encontram-se alguns estudos sobre a ocorrência de *Campylobacter* spp. em amostras coletadas em granjas avícolas e em outros tipos de amostras.

O abate consiste em sério risco de contaminação porque a dose infectiva de *C. jejuni* pode ser de apenas  $10^2$  células.g<sup>-1</sup> e no intestino aviário a contagem excede a  $10^6$  células.g<sup>-1</sup> (NERVINO e HIROOKA, 1997). A tecnologia atualmente empregada no abate não garante produtos livres de *Campylobacter*. A contaminação das aves é quase que exclusivamente de origem intestinal, que não é eliminada durante o processamento tecnológico, resultado em produtos finais contaminados (CALIL et al., 2008).

Observa-se que 30 a 100 % das aves carregam este organismo e que 20 a 100 % das aves no varejo estão contaminadas (FDA, 2011). Os números podem ser reduzidos pelo escaldamento em água, mas os microorganismos permanecem viáveis no intestino e recontaminam as carcaças durante a depenagem e evisceração (MADALOZZO et al., 2007b).

**Tabela 2.** Ocorrência de *Campylobacter* spp. em amostras de aves ou relacionadas de abatedouros no Brasil.

Tipo de amostras	Nº de amostras	Prevalência	Espécie	Estado	Referência
<b>Amostras de abatedouros</b>					
Carcaças de frango	40	47,5 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	São Paulo	Almeida e Serrano, 1987
Carcaças de frango	50	38 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	Minas Gerais	Dias et al., 1990
Carcaças de frango	200	13,5 %	<i>C. jejuni</i> e <i>C. coli</i>	São Paulo	Sakuma et al., 1992
Carcaças de frango	30	50 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	Santa Catarina	Machado et al., 1994
Carcaças de frango	120	8,3 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	São Paulo	Carvalho e Costa, 1996
Cortes de peito	20	6,6 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Coxas e sobrecoxas	20	3,3 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Asas	20	1,6 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Fezes (plataforma)	140	25,8 %	<i>Campylobacter</i> spp.	São Paulo	Castro et al., 1997
Água evisceração	14	35,7 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Carcaças de frango	140	33,6 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Fígado de frango	140	10,7 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Fezes (plataforma)	50	42 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	São Paulo	Carvalho et al., 2002
Pena (pós-depenação)	50	38 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Água de escaldamento	30	26,6 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Água de evisceração	31	61,3 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Fígado de frango	50	38 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Carcaça de frango	50	36 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Sobrecoxa de frango	80	12,5 %	<i>Campylobacter</i> spp.	São Paulo	Carvalho et al., 2003
Penas	24	79,2 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Santa Catarina	Franchin et al., 2005
Cloaca	24	75 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Gaiola de transporte	24	50 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Cama de aviário	24	37,5 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Suporte para peito	24	33 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Água de lavagem da gaiola	24	25 %	<i>Campylobacter</i> spp.		

Continua...

Continuação:

Tipo de amostras	Nº de amostras	Prevalência	Espécie	Estado	Referência
<b>Amostras de abatedouros</b>					
Carcaça de frango	74	6,75 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	São Paulo	Scarelli et al., 2005
Carcaças de Frango	288	4,9 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	São Paulo	Cortez et al., 2006
Fezes	404	5,2 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	Rio Grande do Sul	Gomes et al., 2006
Carcaça pós-depenagem	72	68 %	<i>Campylobacter</i> spp.	Santa Catarina	Franchin et al., 2007
Carcaça pós-evisceração	72	69,4 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Carcaça pós-chiller	72	84,7 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Carcaça pós-congelamento	72	63,9 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Água do chiller	23	91,3 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Superfície	24	50 %	<i>Campylobacter</i> spp.		
Carcaça de frango	96	99 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	Rio Grande do Sul	Kuana et al., 2008a
Coxas e sobrecoxas	80	12,5 %	<i>Campylobacter</i> spp.	São Paulo	Carvalho, 2009
Carcaça de frango	101	17,8 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	Distrito Federal	Moura, 2010

29

**Tabela 3.** Ocorrência de *Campylobacter* spp. em amostras coletadas em granjas avícolas e outros tipos de amostras, no Brasil.

Tipo de amostras	Nº de amostras	Prevalência	Espécie	Estado	Referência
Conteúdo cecal	110	81,8 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	Rio Grande do Sul	Kuana et al., 2008a
Fezes	110	80,9 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Swab cloacal	230	80,4 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Swab cloacal	114	100 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	Minas Gerais	Oliveira et al., 2008
Swab cloacal	192	16,7 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	São Paulo	Carvalho et al., 2001
Cama de aviário	34	1,8 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Ração	170	0,6 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Pool de fezes da cama	34	17,7 %	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Carcaças de suínos	40	35 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	São Paulo	Almeida e Serrano, 1987
Fezes de funcionários de abatedouros	15	13,3 %	<i>Campylobacter jejuni</i>	Minas Gerais	Dias et al., 1990
Hortaliças	80	3,75 %	<i>Campylobacter</i> spp.	São Paulo	Carvalho, 2009

As superfícies das carcaças de aves e dos miúdos permanecem umedecidas quando comercializadas e as bactérias do género *Campylobacter* são protegidas da dessecação ao longo do tempo da estocagem. Acredita-se, por esta razão, que estes produtos sejam os mais prováveis veículos de transmissão de *Campylobacter* ao homem (HOBBS e ROBERTS, 1999).

A manipulação inadequada e a ausência de normas e procedimentos operacionais (Boas Práticas de Manipulação e Fabricação) são responsáveis por surtos em restaurantes, cozinhas industriais e principalmente no ambiente domiciliar (MADALOZZO et al., 2007a; CALIL et al., 2008). As principais vias de transmissão são os alimentos crus ou mesmo os produtos cozidos se forem preparados com temperatura de cocção insuficiente ou submetidos à contaminação cruzada (CALIL et al., 2008).

Apesar da presença frequente em aves para abate, os ovos não parecem ser uma fonte importante de *Campylobacter*. A sobrevivência prolongada do micro-organismo na superfície externa seca do ovo não é provável. Sabe-se que a clara do ovo tem ação de inibir a contaminação bacteriana, principalmente pela ação da enzima lisozima, pois quando o ovo é de postura recente, ela tem ação bactericida e na medida que o tempo vai passando e o pH vai se tornando mais alcalino, a ação da enzima passa a ser bacteriostática (CALIL, 2000).

Além de pesquisas relacionadas com a ocorrência de *Campylobacter* na produção e processamento de frangos, existem estudos que relacionam a ocorrência de *Campylobacter* em fezes de manipuladores de alimentos, em plantas de tratamento de esgotos e em diarreia humana (TOSIN e MACHADO, 1995; LAURIA-FILGUEIRAS e HOFER, 1998; MEDEIROS et al., 2001).

### **2.3.5. Outros produtos envolvidos na transmissão de *Campylobacter jejuni* em humanos**

Segundo Germano e Germano (2008), *Campylobacter* spp. pode sobreviver por 4 semanas ou mais em água a 4 °C. Porém, de acordo

com o *Food Safety and Inspection Service* (FSIS, 1997) e Alterkruse et al. (1999), este agente não se multiplica em água, mas permanece viável e infectivo para homens e animais.

Embora a contaminação das fontes de água de bebida com fezes de animais infectados possa provocar surtos originários da água, os surtos decorrentes de alimentos, associados a *Campylobacter* spp. nos Estados Unidos tem sido mais comuns. De 57 surtos identificados, 46 foram oriundos de alimentos e 11 de ingestão de água. Porém, o número médio de casos por surto foi de 29 para alimentos e 453 para água de bebida, o que enfatiza o grande potencial de difusão da doença por ingestão de água contaminada (CALIL et al., 2008).

Hudson et al. (1984) relataram pela primeira vez a presença de *C. jejuni* no leite de vaca em um surto de infecção humana por ingestão de leite cru. Embora o leite não seja uma via comum de transmissão deste agente, o micro-organismo é raramente detectado em amostras de leite, pois apresenta baixa viabilidade neste tipo de alimento o que dificulta o seu isolamento quando a análise é precedida de resfriamento e estocagem. Peterson (2003) relatou um surto de enterite causada por *Campylobacter jejuni* em pessoas que consumiram leite cru.

Várias cepas de *C. jejuni* têm sido isoladas de carcaças e fezes de suínos, ovinos e perus, de embutidos de suínos, de várias carnes vermelhas e de cortes de carne bovina. O processo de matança, a sala de desossa e o açougue (resfriamento, secagem) não garantem a ausência de *Campylobacter* na carne. A carne suína é apontada como possível veiculadora de *Campylobacter* spp. (CALIL et al., 2008).

Há outras maneiras, menos importantes, mas bem conhecidas, de transmissão de *Campylobacter* em humanos, que incluem o consumo de carne vermelha e frutos do mar, além de bebidas contaminadas ou água de piscina. Outros alimentos admitidos como possíveis fontes do patógeno são os mariscos e cogumelos. No estudo de Adams e Moss (1995), 14 % das amostras de carne de ostra estavam contaminadas com *C. jejuni* e *C. lari*.

No Paquistão, Hussain et al. (2007) pesquisaram durante o período de janeiro de 2002 a dezembro de 2004, a prevalência de *Campylobacter*

spp. em diferentes alimentos colhidos de pontos de comércio varejista. Dentre esses alimentos, 9/22 (40,9 %) das amostras de hortaliças e saladas de frutas foram positivas para *Campylobacter* spp. Os autores detectaram também em 236/492 (48 %) das amostras de frango; 24/465 (5,2 %) das de carne de carneiro; 49/451 (10,9 %) das de carne bovina; 13/127 (10,2 %) de leite cru; 17/53 (32 %) de sanduíches e 3/26 (11,5 %) de queijos.

### **2.3.6. Técnicas para detecção de *Campylobacter* spp.**

A detecção de *Campylobacter* em alimentos é um frequente desafio. Isolar o micro-organismo de amostras altamente contaminadas é difícil e sua a detecção requer diferentes meios, ressaltando-se que o método empregado varia conforme o tipo de alimento. Grande variedade de métodos bacteriológicos envolvem meios e condições próprias e são empregados para recuperar e isolar o micro-organismo.

A técnica de enriquecimento seletivo tem como objetivo o favorecer a multiplicação e o desenvolvimento de *Campylobacter* e a inibição da microbiota contaminante. Faz-se necessário, após o período de incubação, a verificação das características morfo-tinturiais do micror-organismo. Pela microscopia de imersão pode-se observar a presença de bastonetes Gram negativos finos, espiralados ou na forma de vírgula ou asa de gaivota. A verificação das características morfo-tinturiais é indispensável para a confirmação de pureza da cultura e posterior realização dos ensaios bioquímicos para identificação (CALIL et al., 2008).

Vários meios de isolamento seletivo foram formulados para isolar *Campylobacter* spp. de ambientes, de fezes e amostras de alimentos.

Doyle e Roman (1982) desenvolveram um caldo de enriquecimento seletivo para recuperar um número reduzido de *C. jejuni* e *C. coli*. Por meio desta metodologia foi possível recuperar cerca de 0,3 - 1,0 *Campylobacter* por grama de alimento, a partir de 25 g de amostra. Wesley et al. (1983) desenvolveram um meio de enriquecimento seletivo para o isolamento de um número muito reduzido de *C. jejuni* em produtos avícolas (CALIL et al., 2008).

Segundo Bhunia (2008), no meio *Campylosel* usa-se cefoperazona, vancomicina e anfotericina B como agentes seletivos, e o agar cefoperazona, carvão e desoxicolato (CCDA) e cefoperazona, anfotericina B, teichoplanin (CAT) são meios de cultivo indicados para o isolamento de *Campylobacter*.

Para o diagnóstico são usados meios seletivos incubados a uma atmosfera microaerófila com 5 % de O<sub>2</sub>, 10 % de CO<sub>2</sub> e 85 % de N<sub>2</sub>, preferencialmente a uma temperatura de 43 °C (ACHA e SZYPRES, 2002). Meios de enriquecimento líquidos são muitas vezes mantidos com gás borbulhante contínuo para manter o ambiente microaerófilo (LEVIN, 2007).

É importante ressaltar que a temperatura de incubação de 42 à 43 °C permite o isolamento da maioria das espécies de *Campylobacter*, mas não de todas, inibie o desenvolvimento das espécies *C. fetus* subsp. *fetus*, *C. fetus* subsp. *venerealis* e *C. jejuni* subsp. *doyle*. Portanto a manutenção à 37 °C é ideal para a multiplicação das demais espécies do gênero *Campylobacter* (CALIL et al., 2008).

Na detecção de *Campylobacter* spp. em alimentos é importante considerar que a quantidade de micro-organismos presentes é, em geral, baixa, considerando que este micro-organismo não se multiplica em temperaturas abaixo de 30 °C, além de sua sensibilidade extrema ao oxigênio do ar (21 %). O sucesso da detecção depende da análise de um grande número de amostras, concentração de bactérias presentes na amostra e utilização da etapa de enriquecimento seletivo em condições de microaerofilia a 42 °C, temperatura ótima para *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari*. A manutenção de condições seletivas no enriquecimento e no plaqueamento subsequente é garantida pela utilização de meios nutritivos, como Caldo/Agar Brucella e Caldo/Agar Nutriente nº 2, suplementados com sangue de cavalo ou carneiro e diferentes combinações de antibióticos como vancomicina, polimixina, ciclohexidina, trimetropina, rifampicina, cefoperazona, anfotericina, cefalotina, colistina, cefazolina, novobiocina, e bacitracina (CALIL et al., 2008).

Segundo APHA (2001), o procedimento de análise microbiológica para a detecção de *Campylobacter* spp. em alimentos pode ser fundamentado no enriquecimento seletivo, em caldo Brucella, incubado em

microaerofilia (5 % O<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub> e 85 % N<sub>2</sub>) à 42 °C por 48 horas; plaqueamento diferencial, estriando-se uma alçada do caldo em placa de ágar de Blaser ou ágar *Campylobacter* Charcoal Diferencial, seguido de incubação em atmosfera microaerófila a 42 °C durante 48 horas.

Rosenquist et al. (2007) testaram protocolos de detecção qualitativa com e sem pré-incubação, bem como enumeração semi-quantitativas e quantitativas. Na detecção qualitativa com e sem pré-incubação o resultado aceitável é presença/ausência. Na detecção semi-quantitativa espera-se identificar um baixo número de *Campylobacter* de amostras de alimentos. Esta técnica pode ser utilizada para estimar o índice de contaminação de *Campylobacter*.

A determinação quantitativa em amostras de alimentos é realizada quando se espera um grande número de *Campylobacter* na amostra e pode ser utilizada para estimar o número de *Campylobacter* presente na amostra. A técnica baseia-se no plaqueamento direto de diluições seriadas de uma amostra, em um meio seletivo, seguido pela contagem de colônias típicas. Em todos os casos, a presença de *Campylobacter* deve ser confirmada por microscopia de contraste de fase, testes bioquímicos e moleculares.

Para obter resultados satisfatórios nas análises de identificação e quantificação de *Campylobacter* em alimentos, recomenda-se que os laboratórios prestem especial atenção às seguintes questões:

- adotar um tempo mínimo entre a preparação da amostra e a análise, para evitar a morte antecipada do *Campylobacter*;
- usar placas de ágar bem secas para evitar que as colônias se multipliquem de forma não característica no meio de cultura;
- utilizar uma técnica adequada para a etapa de confirmação do *Campylobacter*, de forma a descartar completamente outros possíveis agentes contaminantes da amostra avaliada (ROSENQUIST et al., 2007).

Vários métodos rápidos para detecção foram desenvolvidos com base na técnica de reação de polimerização em cadeia (PCR). Atualmente, é o método mais utilizado para análise de alimentos por não depender da viabilidade da bactéria, já que os alimentos industrializados contêm aditivos e conservantes que restringem o isolamento de micro-organismos. No caso do *Campylobacter*, pode-se realizar sua identificação por meio de PCR, e as

vantagens desta técnica sobre os testes tradicionais de caracterização deste agente incluem a rapidez, facilidade de uso, alta sensibilidade e especificidade (LEVIN, 2007).

Em muitas amostras de alimentos e nos meios de enriquecimento a presença de carvão e ferro é inibidora da PCR. Alguns métodos de preparação da amostra que utilizam centrifugação e tratamento térmico a 96 °C são empregados para resolver esse problema (BLACKBURN e McCLURE, 2002).

Scarcelli et al. (2005b) trabalharam com amostras de carcaças de frango analisadas pelas técnicas de isolamento convencional e PCR. Observaram que 5 (6,75 %) foram positivas para *C. jejuni* pela PCR e nenhuma pelo isolamento convencional. A técnica de PCR mostrou-se mais sensível e específica do que a técnica convencional em amostras muito contaminadas, congeladas ou com aditivos.

A técnica de imunocaptura também tem sido combinada com o PCR para identificar *Campylobacter* em alimentos, por permitir a detecção do patógeno sem a etapa de enriquecimento em, aproximadamente, 8 h. O limite de detecção pode ser de até 1 célula.mL<sup>-1</sup> (WALLER e OGATA, 2000).

Na prática, as técnicas moleculares são adaptadas rapidamente pela comunidade científica, mas sua divulgação é lenta da tecnologia nos laboratórios de diagnóstico, apesar do potencial para fornecer uma detecção prática, rápida e sensível de micro-organismos nos alimentos.

Huang et al. (2010) desenvolveram uma técnica para detecção de *C. jejuni* com base em um imunossensor eletroquímico ao utilizarem a superfície S-carboximetilquitosana modificada por nanopartículas de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, denominada como nanopartículas OCMCS-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. A técnica apresentou vantagens como a simplicidade de uso, resposta rápida, ampla faixa linear, reprodutibilidade aceitável e longa estabilidade. Além disso, o imunossensor pode ser regenerado ao ser tratado com solução tampão glicina-HCl em pH 2,8.

Suo et al. (2010) trabalharam no desenvolvimento de um microarranjo de bases de oligonucleotídeos para detectar vários agentes patogênicos de origem alimentar, dentre eles *C. jejuni*. Foram amplificados DNA-alvos específicos ao invés de amplificação aleatória do genoma inteiro, usando

antes a análise de microarranjos. Os autores constataram que o microarranjo combinado com o método de PCR multiplex permitiu detectar um único ou vários patógenos em amostras de alimentos e, forneceu ainda, informações genotípicas importantes relacionadas com a virulência dos patógenos avaliados.

Wisessombat et al. (2010) pesquisaram uma forma de detecção de células viáveis de *Campylobacter* com base nos efeitos dos estímulos quimiostáticos sobre a capacidade de motilidade do *Campylobacter* para passar por um filtro com poro de 0,45 µm de diâmetro, em condição viscosa. O número inicial de células viáveis por grama de carne de frango, artificialmente inoculadas. Foi de, aproximadamente, 10 a 10<sup>4</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Suplementos de mucina mais bile (1:1), uma variedade de aminoácidos e sais de sódio foram adicionados em uma membrana de agar que revestia o filtro. Foi usado o método de plaqueamento diferencial para determinar o número de células viáveis de *Campylobacter*. Após 6 h, os complementos de mucina mais bile, nas concentrações de 1, 5 e 10 % demonstraram aumento significativo do número de células viáveis. O número de micro-organismos a 42 °C foi maior do que a 37 °C. Entretanto, não houve diferença significativa (p < 0,05) no número de células observado pela adição de aminoácidos ou sais de sódio.

Um método simples e rápido para a detecção de *Campylobacter* spp. em amostras de carne de frango naturalmente contaminadas foi estabelecido por Kawatsu et al. (2010). Esse método consiste em uma combinação de enriquecimento de duas etapas, com um ensaio imunocromatográfico disponível comercialmente, chamado NH Immunochromato *Campylobacter* (NH IC Campy, Nippon Meat Packers, Ibaraki, Japão), por meio do qual pode-se detectar antígeno de *Campylobacter* em uma cultura enriquecida por 15 min. O método de enriquecimento não exige adição de sangue ou geração de atmosfera de microaerofilia, diferentemente do padronizado para enriquecimento de *Campylobacter* spp. em amostras de frango. Este método mostrou-se mais sensível do que o teste convencional. Considerando ainda que o método combinado pode ser realizado em cerca de 48 h, do início do enriquecimento até o resultado final, ele também é mais rápido do que o teste de cultivo

convencional, que necessita de quatro a cinco dias. Além disso, a combinação foi de simples execução. Estes resultados sugerem que a combinação do método de enriquecimento em duas etapas com NH IC Campy pode ser útil como uma alternativa simples e rápida ao teste convencional de cultivo de bactérias para a detecção de *Campylobacter* spp. em amostras de carne de frango naturalmente contaminadas (KAWATSU et al., 2010).

Para avaliar a prevalência de *C. jejuni* em produtos cárneos, Rantsiou e colaboradores (2010) utilizaram um protocolo de PCR quantitativo, com base na amplificação do gene *rpoB* de *C. jejuni*, por PCR quantitativo (qPCR), diretamente de amostras de alimentos. O limite de quantificação do método foi na ordem de 10 unidades formadoras de colônia (UFC) por g ou mL de amostra de alimento. O protocolo desenvolvido foi aplicado para o levantamento de *C. jejuni* em amostras de frango naturalmente contaminadas e, em paralelo, foi realizada também a análise pelo método tradicional. Observou-se uma alta porcentagem (87 %) de positividade por qPCR, embora não tenha sido detectado *C. jejuni* pela análise tradicional (RANTSIOU et al., 2010).

### **2.3.7. Estratégias para o controle de *Campylobacter jejuni* na cadeia produtiva de frangos**

No Brasil, não há ainda um programa para controle deste patógeno pela indústria cárnea, salvo se solicitado por cliente externo. A legislação brasileira vigente não contempla o controle de *C. jejuni* como agente infeccioso. A Portaria n° 451/1997 a citou como espécie infectante e sua presença em qualquer alimento como indicativa de produto potencialmente capaz de causar enfermidades transmitidas por alimentos (BRASIL, 1997b). Esta Portaria foi revogada pela RDC – Resolução de Diretoria Colegiada – n° 12/2001, da ANVISA, que não faz referência alguma a este agente (BRASIL, 2001).

A intensificação da produção avícola, com maior densidade de criação e mecanização dos sistemas produtivos, contribuiu para o aumento das taxas de contaminação. As aves domésticas têm *Campylobacter* spp. no

intestino, que, por meio de manipulação e as operações de abate podem contaminar as carcaças e as vísceras (OLIVEIRA et al., 2011).

O frango vivo abriga *Campylobacter* em níveis elevados e uma única ave infectada poderá contaminar, rapidamente, todo o lote. Este fato constitui uma preocupação para muitos abatedouros, uma vez que, se as aves chegam contaminadas para o abate, há grandes chances de ocorrência de contaminações cruzadas entre os lotes (MADALOZZO et al., 2007a).

#### **2.3.7.1. Medidas de controle de *Campylobacter* recomendadas aos aviários**

O controle do *Campylobacter* envolve intervenções não só na indústria, mas também no campo, com objetivo de reduzir o número de células no conteúdo intestinal das aves (WEDDERKOPP et al., 2000; VAZ, 2008). As Boas Práticas Agrícolas devem ser seguidas para que ocorra menor incidência de aves *Campylobacter* positivas no momento do abate.

Este controle deve ser indicado a partir da produção primária, já que a ausência do micro-organismo ou a baixa contaminação inicial influenciarão diretamente na probabilidade de contaminação durante o abate, pois o controle da contaminação no campo permite reduzir a incidência do agente nas carcaças de frango e em outras espécies, como suínos e bovinos (ORTEGA, 2005; MADALOZZO et al., 2007b).

Métodos específicos de intervenção nas granjas de produção têm sido eficientes para reduzir a incidência do patógeno em aves. As principais medidas para o controle são: aumento da biossegurança para evitar a transmissão direta do ambiente, rotinas de higiene para os trabalhadores da granja, controle ativo de pragas, respeitar o período de vazio sanitário, trocas da cama do aviário a cada lote ou após a saída de um lote contaminado, desinfecção de bebedouros, utilização de água potável e clorada e desinfecção de gaiolas de transporte (MADALOZZO et al., 2007b; ANDRADE, 2008).

Estes procedimentos, denominados Boas Práticas Agrícolas (BPA), diminuíram em 60 % os casos de *Campylobacter* em aves na Suíça e, em outros países, entre 10 e 50 % (MADALOZZO et al., 2007b).

Dentre as diversas observações relacionadas à biossegurança nas granjas, algumas ações são mais críticas na questão do *Campylobacter* e podem ser mais bem descritas.

A água fornecida às aves é um ponto fundamental, à qual deve ser dada uma atenção especial, e inclui não só o tratamento adequado, mas também o sistema de fornecimento. A qualidade da água pode alterar considerando-se o seu trajeto, superficial ou subterrâneo, e também ao longo do tempo. Portanto, é essencial a avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da água utilizada na produção animal (OLIVEIRA, 2006).

Alguns dados sugerem que bactérias do gênero *Campylobacter* podem difundir-se entre as carcaças de frango por meio da água de bebida. Deve-se realizar limpeza frequente dos reservatórios e das fontes nessas criações e, assim, reduzir o número de carcaças contaminadas entregues ao mercado (CDC, 2007; CALIL et al., 2008).

Bebedores do tipo *nipple* ou automáticos são mais indicados por diminuírem do contato com fezes e penas, assim previne-se a contaminação por *Campylobacter* (VAZ, 2008).

É importante o papel dos produtores avícolas no controle dessa infecção. Dada a impossibilidade de detectar se uma criação de aves está contaminada mediante uma simples observação, os produtores devem se apoiar nas boas práticas de criação, análises e investigação para manter o patógeno controlado. Por exemplo: a cloração da água de bebida não deve diferir de 3 a 5 mg.L<sup>-1</sup>. Em quantidades menores o cloro não resulta em ação bactericida efetiva e a níveis mais elevados as aves se negam a beber água (CALIL et al., 2008).

Aquino et al. (2005) sugeriram o tratamento da água fornecida diariamente às aves com hipoclorito de sódio de tal forma que a concentração de cloro da água seja de 0,2 a 0,4 mg.L<sup>-1</sup>. Propõe-se a desinfecção dos tanques e das tubulações do sistema com quaternários de amônia. Estes autores indicam a adoção do vazio sanitário com um intervalo mínimo de 3 semanas na utilização das instalações entre os lotes de aves, a fim de reduzir as chances de contaminação ambiental, visto que *C. jejuni* não sobrevive no ambiente por longos períodos.

Propõe-se ainda que seja evitada a reutilização da cama, embora alguns autores sugiram que *Campylobacter* é sensível a maravalha; que seja impedida a presença de pássaros, roedores e outros animais nos galpões e que seja feita desinfecção das botas dos tratadores na entrada dos galpões por meio de pedilúvios e eficiente limpeza e desinfecção das instalações entre um lote e outro (CALIL et al., 2008).

De modo geral, as medidas para combater a transmissão horizontal de *Campylobacter* podem ser efetivas no controle da bactéria e na redução do risco de infecção das aves, mas não impedem seu reaparecimento em ciclos de produção subsequentes. Na prática, é difícil ou quase inviável a produção de lotes de frango de corte livres de *Campylobacter*, bem como a manutenção dessa condição (VAZ, 2008).

O controle de vetores é outro item a ser observado durante todo o ano, mas pode ser intensificado nos meses de verão, período naturalmente favorável à infecção pelo *Campylobacter* (WEDDERKOPP et al., 2000; VAZ, 2008).

Como medida de controle, há tratamentos com antimicrobianos para reduzir as concentrações gastrointestinais de bactérias patogênicas, como *Campylobacter*. No entanto, por causa dos resíduos potenciais e questões relacionadas à resistência aos antimicrobianos, uso de antibióticos para o controle no pré-abate de *Campylobacter* é indesejável. Portanto, o uso de antimicrobianos deve ser criterioso, especialmente em relação às fluorquinolonas, uma vez que a emergência de linhagens resistentes isoladas de humanos é frequentemente relacionada ao uso de enrofloxacin nas aves (WHO, 2001; HUMPHREY et al., 2007).

Programas de monitoria são necessários para identificar o *status* do plantel, para traçar o perfil de risco e verificar o período mais crítico de colonização das aves, no qual devem ser focadas as intervenções. Pesquisas direcionadas para melhorar a segurança dos alimentos explorando novos métodos e tecnologias têm sido desenvolvidas, como descrito a seguir.

Alguns aditivos químicos são eficientes em reduzir a colonização de *Campylobacter* em animais e alguns, por exemplo, a suplementação com componentes nitrogenados de cadeia curta, estão sendo testados. Alguns

nitrocompostos, como 2-nitro-1-propanol, diminuíram a sobrevivência *in vitro* de *C. jejuni* e *C. coli*, bem como outros patógenos de origem alimentar, como *Salmonella* Typhimurium, *E. coli* O157:H7, *Enterococcus faecalis* e *Listeria monocytogenes*. Em resultados iniciais de estudos *in vivo* foi demonstrado o potencial dos nitrocompostos para reduzir as concentrações gastrointestinais de *Campylobacter* e *Salmonella* em aves e suínos. Os nitrocompostos inibiram consideravelmente populações mistas de micro-organismos gastrintestinais, por reduzir substratos utilizados por *Campylobacter* para conservação de energia durante a respiração, como fumarato, nitratos, sulfitos ou oxigênio (BLACKBURN e McCLURE, 2002).

Dada a natureza microaerófila e termófila do *Campylobacter*, a redução da concentração gastrointestinal do micro-organismo pode ser uma boa alternativa para reduzir a atividade microbiana no ambiente. As concentrações de *C. jejuni* e *C. coli* no intestino de frangos de corte e em perus foram significativamente reduzidas quando administrado bacteriocinas e bacteriófagos (BLACKBURN e McCLURE, 2002).

Hagens e Loessner (2007) desenvolveram uma técnica que utiliza bacteriófagos para eliminar bactérias específicas de alimentos. A especificidade dos bacteriófagos é uma característica importante e desejável para aumentar a segurança do alimento durante a produção, já que são inimigos naturais das bactérias, e podem ser utilizados para controle biológico sem que haja interferência na microbiota natural. Além disso, os fagos também podem ser usados para detectar a presença de patógenos indesejáveis nos alimentos ou em ambientes de produção, com identificação rápida e específica de células viáveis (HAGENS e LOESSNER, 2007; MEDEIROS, 2011).

Outro tratamento possível para redução de patógenos gastrintestinais é a administração de uma microbiota intestinal selecionada para promover uma exclusão competitiva. Esta exclusão é alcançada pela administração oral de cultura mista de bactérias para aumentar a resistência à infecção por patógenos antes da colonização inicial. No entanto, as melhores técnicas de exclusão competitiva reduzem as populações de *Campylobacter*, mas não evitam as concentrações de eliminação intestinal e cecal (BLACKBURN e McCLURE, 2002).

Por enquanto, exclusão competitiva tem sido indicada, principalmente em aves de um dia, para prevenir a colonização da microbiota indesejável, visto que esta medida apresenta-se menos eficaz quando usada em indivíduos já colonizados pelo *Campylobacter*. Como o nicho primário para a colonização de *C. jejuni* é o estrato de mucina no ceco, pesquisas buscam uma cultura que venha competir por este nicho. A microbiota derivada deste estrato mucoso tem alguma capacidade em proteger contra a colonização de *Salmonella* e de *C. jejuni* (JORDAN e PATTISON, 1996; CALIL et al., 2008).

Existe ainda a possibilidade de suplementar as rações com ácidos orgânicos selecionados para reduzir as concentrações fecais de *Campylobacter*, mas esta prática possui efeitos pronunciados sobre a supressão do crescimento em frangos de corte (BLACKBURN e McCLURE, 2002).

Pesquisas de vacinas contra campilobacteriose são promissoras em animais de laboratório. A determinação da sequência do genoma do *C. jejuni* poderá facilitar o desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz para a prevenção da colonização de aves por *Campylobacter* (SCOTT, 1997; LEE et al., 1999; BUTZLER, 2004; CHAVES, 2007).

Observa-se a necessidade da realização de pesquisas relacionadas à seleção de linhagens de frangos resistentes à colonização intestinal, a utilização da microbiota natural do trato gastrointestinal para exclusão competitiva e a imunização de frangos para controlar a transmissão de *C. jejuni* (MYZEWSKI e STERN, 1990; STERN et al., 1990; ALTEKRUSE et al., 1994; CALIL et al., 2008). A utilização de bacteriófagos líticos (LOCARRILO et al., 2005; GOODE et al., 2003) e exclusão competitiva (ZHANG e DOYLE, 2007) são métodos propostos como alternativas, mas ainda precisam de comprovação da sua viabilidade prática e econômica.

#### **2.3.7.2. Medidas de controle de *Campylobacter* recomendadas aos abatedouros de aves**

A incidência de *Campylobacter* em carne fresca de frango pode atingir de 30 a 100 % das carcaças (FDA, 2004; MADALOZZO et al., 2007a). As bactérias encontram-se principalmente na pele, pescoço, musculatura do peito e região da cloaca e, internamente, no fígado, moela, coração,

estômago e intestino. A frequência de amostras positivas é diminuída quando as aves são resfriadas e congeladas, mas não inteiramente eliminadas (FRANCO e LANDGRAF, 2006; MADALOZZO et al., 2007a; CALIL et al., 2008).

O abatedouro de aves é um ponto importante de contaminação pelo *Campylobacter*, com índices maiores nas carcaças do que nos animais vivos. A tecnologia de abate não garante produtos livres de *Campylobacter* (ATANASSOVA et al., 1999). Nestes estabelecimentos, os cuidados referem-se às Boas Práticas de Fabricação, à Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle, e um adequado plano de higienização, que colabore com a sanidade dos produtos.

As carcaças podem ser contaminadas durante o abate pela liberação do conteúdo intestinal das aves ou da microbiota da superfície das carcaças, (AQUINO et al., 2005). Embora *Campylobacter* não sobreviva nas superfícies de equipamentos, dada a sua característica microaerofílica, o processamento tecnológico possibilita a formação de um microambiente nas carcaças contaminadas, que permite a viabilidade deste micro-organismo (ORTEGA, 2005).

As principais etapas do processamento que podem gerar contaminação são: a sangria, a escaldagem por imersão, a depenagem, a evisceração, o resfriamento em *chiller* e o uso de água recirculada ou não tratada (KEENER et al., 2004).

Mesmo estimativas mais conservadoras apontam que 60 % da contaminação ocorre “pós-*chiller*”. A maioria dos pesquisadores concorda que o índice real está ao redor de 90 %. Em contraste, a contaminação por *Salmonella* está na faixa de 25 a 40 %, de acordo com o USDA (2012). Graças aos esforços da indústria contribuem para reduzir este índice a menos de 20 % (CALIL et al., 2008).

A depenagem e o resfriamento em *chiller*, conduzidos de forma inadequada, funcionarão como um sistema equalizador da contaminação (MADALOZZO et al., 2007b). Neste sentido, Mead (2004) cita que *Campylobacter* pode aderir e penetrar na carcaça de frango e assim sobreviver aos processos de escaldagem e resfriamento em *chiller*, os quais deveriam manter ou reduzir o número de micro-organismos.

Atanassova et al. (1999) e Vashin e Stoyachev (2004) apontaram a evisceração como um ponto importante de contaminação, com índice que varia com a eficácia do controle da dieta hídrica das aves, o que favorece o esvaziamento do conteúdo visceral e evita assim o rompimento de vísceras e do papo durante as operações de evisceração.

Berrang e Meinersmann (2005) e Ortega (2005) relataram o isolamento do micro-organismo no trato respiratório das aves, o que sugere uma fonte importante de contaminação por *C. jejuni* no interior de carcaças antes da escaldagem. A bactéria poderia ser inalada pelas aves durante a criação e transporte e contaminar outras aves por meio da água de escaldagem, o que ressalta a importância do controle deste micro-organismo no campo.

#### **- Controle nas etapas de escaldagem e depenagem dos frangos**

O processo de depenagem envolve duas etapas: a escaldagem e a depenagem propriamente dita. A escaldagem é realizada com água aquecida entre 56 a 62 °C por, aproximadamente, 1 min em contracorrente e com vazão de água suficiente para que, a cada turno de trabalho de aproximadamente 8 h, toda água do tanque seja renovada (BRASIL, 1998). A utilização de uma vazão maior é dificultada pela disponibilidade de água e pelo custo do aquecimento no tanque de escaldagem e do tratamento dos efluentes (MADALOZZO et al., 2007b).

Os folículos das penas permanecem abertos durante a escaldagem e depenagem e até que a carcaça seja resfriada em *chiller*. Assim, o mecanismo de adesão envolve a retenção da bactéria em uma película líquida sob a pele e em microcavidades, protegendo-a após o fechamento dos folículos em contato com a água de resfriamento (MADALOZZO et al., 2007b).

A escaldagem é considerada um ponto de alto risco para contaminação cruzada, mesmo tendo uma temperatura relativamente alta, pois o *C. jejuni* resiste de 1 a 3 min nesta temperatura e o tempo de passagem do frango por esta etapa é de cerca de 1 min (MADALOZZO et al., 2007b).

Berrang et al. (2000b) demonstraram que a escaldagem a uma temperatura mínima de 56 °C resulta em maior redução do número de micro-

organismos. Entretanto, Vashin e Stoyachev (2004) relataram que a carga de *C. jejuni* na superfície da pele dos frangos após a escaldagem ainda é significativa.

No que se refere ao controle químico, Kenner et al. (2004) obtiveram uma redução de 0,5 a 1 ciclo logarítmico de *C. jejuni* ao adicionar 0,1 % de ácido acético na água de escaldagem, e propuseram esta técnica como alternativa para o controle do agente.

O uso de quaternário de amônia em um processo simulado de escaldagem de aves, em concentrações de 50 e 100 mg.L<sup>-1</sup>, foi eficaz para inativar *C. jejuni* em água com temperatura acima de 50 °C (NACMCF, 1994). Essas concentrações são permitidas nos Estados Unidos (MADALOZZO et al., 2007b) porém, não são aceitas pelo MAPA (BRASIL, 1998).

Após a escaldagem, os frangos passam por um sistema giratório de dedos de borracha, para remoção das penas. A contaminação cruzada nesta etapa é significativa, já que o equipamento não possui um sistema contínuo de desinfecção (ORTEGA, 2005), e pode aumentar até três ciclos logarítmicos a contaminação por *C. jejuni* na superfície das aves (BERRANG et al.; 2000b).

A contaminação cruzada está relacionada com as fezes liberadas durante o processo de depenagem devido à pressão que os dedos de borracha exercem sobre a carcaça. Porções de 5 mg de conteúdo fecal podem causar um aumento significativo de *C. jejuni* nas carcaças, o que reforça a necessidade de um controle rigoroso na dieta hídrica das aves com objetivo de reduzir o conteúdo gastrointestinal e o potencial de contaminação fecal durante o abate (KENNER et al., 2004; MADALOZZO et al., 2007b).

No Brasil, como a presença de penas no frango após a depenagem é considerado um ponto de controle (PC), há a tendência de utilizar-se uma pressão maior dos dedos de borracha sobre as carcaças, o que poderia aumentar as chances de contaminação por fezes (MADALOZZO et al., 2007b).

Berrang et al. (2000b) estudaram o efeito da água aquecida sobre as carcaças após a depenagem, por imersão e por aspersão, mas os resultados demonstraram que o processo não foi capaz de reduzir a

contaminação superficial a índices desejados, o que leva a crer que a utilização de métodos físicos corretivos é ineficiente quando a contaminação já está instalada (MADALOZZO et al., 2007b).

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) aprovou o uso de fosfato trissódico (TSP) como coadjuvante para a redução superficial de micro-organismos. A concentração indicada é de 8 a 12 % à temperatura de 7 a 12 °C, aplicado por aspersão ou imersão por 15 segundos. O TSP é eficaz para reduzir a contaminação superficial de *C. jejuni* em frangos, aplicado antes da escaldagem, por imersão, o que reduz a contaminação entre 17 a 19,4 % (NACMCF, 1994) e, aplicado após a evisceração, reduz 1 a 2 ciclos logarítmicos (BASHOR et al., 2004).

#### **- Controle na etapa de evisceração dos frangos**

Antes da evisceração, as carcaças devem ser lavadas por aspersão com água sob pressão, com jatos orientados no sentido de que toda a carcaça seja lavada, inclusive os pés. Nas operações de evisceração devem-se observar os cuidados necessários para evitar o rompimento de vísceras e o contato das carcaças com superfícies contaminadas (BRASIL, 1998).

Após a evisceração as carcaças devem ser eficazmente lavadas por aspersão nas superfícies internas e externas, com água sob pressão adequada, e em um volume de, no mínimo, 1,5 L por carcaça, não sendo permitido qualquer manipulação após o procedimento de lavagem (BRASIL, 1998).

A sanitização da carcaça deve ser incluída como operação de rotina, no processo de abate de animais para consumo humano, para eliminar, ou pelo menos reduzir a incidência de contaminantes. É importante ressaltar que alguns micro-organismos que aderem à carcaça durante o abate, podem ser removidos após lavagem com água potável. Para higienização de animais abatidos permite-se usar ácido acético e láctico, pois estes apresentam baixa toxicidade para os humanos e alta toxicidade para os micro-organismos. Esses ácidos podem aumentar a vida de prateleira da carne de frango (VENTURINI et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2011).

### - Controle na etapa de resfriamento em *chiller*

As carcaças de frango devem ser resfriadas o mais rápido possível após os processos de abate, para prevenir a multiplicação bacteriana (ORTEGA, 2005). A multiplicação de *Campylobacter* parece não ser relacionada ao tipo de resfriamento utilizado (imersão em água ou ar resfriado). Porém, o resfriamento das carcaças com ar, que causa uma desidratação superficial, colabora para o controle da multiplicação, já que o *C. jejuni* é sensível à redução da atividade de água (NACMCF, 1994). Tal processo é pouco utilizado devido às perdas econômicas geradas pela desidratação das carcaças (MADALOZZO et al., 2007b).

O resfriamento em *chiller* de imersão com água e gelo à temperatura de 0 a 4 °C é um ponto potencial para a contaminação de carcaças. Geralmente, as carcaças de frango, com temperatura entre 40 a 42 °C passam por um sistema de pré-resfriamento (*pré-chiller*), onde a temperatura é de 16 °C, com renovação contínua de água de 1,5 L por carcaça, para frangos com massa média de 2,5 a 5,0 kg, com cerca de 1 h de passagem das carcaças pelo *pré-chiller* (BRASIL, 1998).

Conforme a Portaria do MAPA nº 210/1998, a utilização da água do *chiller* durante um turno de produção, de cerca de 8 h, deve ser feita com renovação da água de no mínimo de 1,5 L por frango no *pré-chiller* e 1,0 L por frango no *chiller* com um limite de 5 mg.L<sup>-1</sup> de cloro livre. O uso do cloro em concentrações maiores do que 1 mg.L<sup>-1</sup> normalmente não é praticado pelos abatedouros brasileiros devido às barreiras impostas pelos importadores de carne da União Europeia (BRASIL, 1998; MADALOZZO et al., 2007b).

A introdução de resfriamento por *spray* de água fria ao invés da imersão da carcaça das aves em um tanque de resfriamento e maquinários com acabamento sanitário, de material resistente, desmontáveis e de fácil higienização, são exemplos de como a contaminação cruzada pode ser reduzida (CALIL et al., 2008).

O impacto do resfriamento por imersão tem sido discutido exaustivamente e gerado algumas confusões. Existem dados disponíveis que demonstram que o tanque de resfriamento pode ser uma fonte de

contaminação cruzada ou uma oportunidade para descontaminar as carcaças (HARGINS e HIGGINS, 2004; MADALOZZO et al., 2007b).

Concentrações adequadas de cloro livre são essenciais para reduzir ou controlar a contaminação, ainda que esse cloro venha a ser inativado pela quantidade excessiva de matéria orgânica (HARGINS e HIGGINS, 2004). Mesmo com as imposições do mercado de carne mais competitivo do mundo, o europeu, o Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar (FSIS) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos recomenda a utilização de 5 mg.L<sup>-1</sup> de hipoclorito de sódio na água dos *chillers* (NACMCF, 1994; MADALOZZO et al., 2007b).

Nunes (2005) demonstrou diferença significativa na eficácia do cloro quando avaliaram o efeito do tempo de processamento e concentração de cloro na água de resfriamento (10, 30 e 50 mg.L<sup>-1</sup>) como agente bactericida sobre *C. jejuni* e outros patógenos. Estes fatores não são únicos, como afirmam Hargins e Higgins (2004) e Vanshin e Stoyachev (2004), pois microorganismos como *C. jejuni*, com habilidade e mobilidade para penetrar nos folículos da pele do frango, ficariam protegidos contra a ação bacteriana do cloro.

Em 1995, com o objetivo de prevenir a contaminação cruzada em *chillers*, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) recomendou aos abatedouros a adição de 20 a 50 mg.L<sup>-1</sup> de cloro na água. E, em 1996 e 2003, respectivamente, permitiu o uso de dióxido do cloro e ozônio também no *chiller*. Porém, alguns abatedouros reportaram a dificuldade da exportação de frangos para diversos países associado a utilização destes coadjuvantes (KEENER et al., 2004; MADALOZZO et al., 2007b).

Para Oyarzabal et al. (2004), o uso de hipoclorito de sódio sobre carcaças após o resfriamento tem demonstrado bons resultados, podendo ser aplicado por aspersão ou imersão. No Brasil, assim como em vários países exportadores, o uso deste coadjuvante tecnológico é proibido e segue os padrões que a União Europeia impõe, sendo o limite de 1 mg.L<sup>-1</sup> de cloro na água de resfriamento de *chillers* (MADALOZZO et al., 2007b).

O uso de dióxido de cloro em águas de abastecimento e de *chillers* se mostrou eficaz, pois o produto não perde seu efeito bactericida em contato

com a matéria orgânica contida na água, o que permite um efeito residual sanitizante. O produto foi reconhecido como seguro (*Generally Recognized as Safe* – GRAS) pelo USDA em 23 de setembro de 1996, sendo aprovado para uso em *chillers* com um limite de 3 mg.L<sup>-1</sup> (USDA, 1996).

Kenner et al. (2004) citam que o dióxido de cloro é sete vezes mais ativo do que o hipoclorito e em contato direto com a carne não promove alterações no gosto, apenas um leve clareamento superficial, que tende a diminuir em poucos minutos.

Conner e Bilgili (2004) estudaram o tratamento químico antimicrobiano no resfriamento de aves em *chiller* de imersão, utilizando ácidos orgânicos, láctico e tartárico, em concentrações de 0,5 e 1 %. O uso destes ácidos na água de resfriamento eliminou até 90 % das bactérias aderidas, o que inclui o *C. jejuni* e outros patógenos, mas ocorrem modificações na aparência do produto.

No que diz respeito às etapas de depenagem e resfriamento, o controle pode ser feito pela aplicação de fosfato trissódico nos frangos antes da escaldagem, para prevenir a adesão dos micro-organismos aos folículos da pele. Isso deixaria as células de *Campylobacter* menos resistentes, e aumento da eficácia do cloro que, como pesquisado, aumenta quando o micro-organismo não está aderido ou protegido sob os folículos da pele. Para promover um maior controle, o uso de dióxido de cloro na água dos *chillers*, nas concentrações recomendadas pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, parece ser eficaz, já que o mesmo permanece com um efeito residual mesmo em contato com material orgânico, e é reconhecido como seguro (GRAS) pela FSIS (MADALOZZO et al., 2007b).

### **2.3.7.3. Higiene industrial e medidas de controle de *Campylobacter* spp. no processamento de aves**

A higiene industrial é regida por um conjunto de procedimentos obrigatórios (BRASIL, 1997a) que devem ser específicos para cada empresa e tipo de alimento e são conhecidos como Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO). Tais procedimentos, aliados as Boas Práticas de

Fabricação (BPF), auxiliam na manutenção da garantia da qualidade microbiológica dos alimentos (MADALOZZO et al., 2007b).

A implementação do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) para garantia da qualidade nas plantas processadoras de frango auxilia o controle de patógenos, assim melhora a higiene e permite monitorar os pontos considerados críticos (BRASIL, 1997a; MEAD, 2004).

Para desinfecção das superfícies, recomenda-se hipoclorito de sódio e amônia quaternária (VENTURINI et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2011).

A legislação brasileira orienta o uso do cloro, em suas diversas apresentações, deve ser preparado em concentrações de até 100 mg.L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2004). O uso de outros desinfetantes, como quaternário de amônia e ácidos, deve ser feito conforme orientação do fabricante. Porém, tais produtos devem, obrigatoriamente, ser aprovados pelo Ministério da Agricultura, por meio da Autorização de Uso de Produto pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (AUP-DIPOA) (BRASIL, 2004).

Os fabricantes destes produtos recomendam concentrações de 50 a 200 mg.L<sup>-1</sup> para quaternário de amônia e ácido peracético, com tempo de contato de cerca de 15 minutos. Concentrações mais elevadas, com até 500 mg.L<sup>-1</sup>, seriam recomendadas apenas para locais onde não exista contato direto com alimentos, como superfícies de câmaras de estocagem e plataformas de recebimento. O ácido peracético é altamente oxidativo, o que diminui sua eficiência quando aplicado sobre locais com matéria orgânica considerável (CONTRERAS et al., 2003; MADALOZZO et al., 2007b).

O controle de pragas nos abatedouros e áreas de processamento também parece influenciar na contaminação por *C. jejuni* (ORTEGA, 2005). Essa afirmação pode ser reforçada por Nichols (2005) que isolou estirpes de *Campylobacter* em moscas (*Musca domestica*) de aviários e abatedouros.

A higiene dos funcionários também é um método comprovado de controle de contaminação cruzada, não só para *Campylobacter* como para vários outros micro-organismos. Vashin e Stoyachev (2004) pesquisaram a incidência deste agente nas mãos dos colaboradores que tinham contato direto com as carcaças após o *chiller* e identificaram 94 % de positividade para *Campylobacter* em amostras coletadas de 25 pessoas.

Lake et al. (2007) afirmaram que o controle da contaminação cruzada em abatedouros é complexo e sugerem as seguintes ações para prevenção desta situação:

- sistemas de escaldagem e resfriamento em fluxo contracorrente e renovável;
- aspersão de equipamentos com água clorada durante o processamento;
- aspersão das carcaças com água clorada sob pressão e abate de lotes não contaminados antes dos lotes contaminados.

Na indústria, o controle de *Campylobacter* é efetivado pela higiene no processamento e manuseio dos alimentos, refrigeração adequada e tratamento térmico dos produtos (LEITÃO et al., 1988). Quanto ao produto final, tratamentos bactericidas, como calor (cozimento ou pasteurização), e irradiação apresentam-se efetivos para eliminação do patógeno em alimentos contaminados (ANDRADE, 2008).

*Campylobacter* é mais resistente aos agentes físicos e químicos quando se encontra aderido à pele da carcaça de frango, e segundo Madalozzo et al. (2007b), os métodos físicos de descontaminação parecem menos eficientes que os agentes químicos.

A irradiação tem-se mostrado eficiente e tem a vantagem de destruir também outros patógenos. Mas há desvantagens, e a principal é que as pessoas passam a acomodar-se e deixam de se preocupar com as medidas de higiene durante a produção de aves associado à eficácia do método, além de não ser muito aceita pelos consumidores (BUTZLER, 2004; CALIL et al., 2008).

Observa-se também uma queda brusca do número de células viáveis de *Campylobacter* spp. após o congelamento e descongelamento, resultado que demonstra que o congelamento das carcaças reduz significativamente a contaminação (REITER et al., 2005; GEORSSON et al., 2006; FRANCHIN et al., 2007), sendo uma intervenção preconizada para lotes de aves positivos, embora não elimine o risco do produto.

A prevenção da campilobacteriose envolve também o incentivo contínuo às boas práticas de preparo da carne de frango pelos consumidores (CALIL et al., 2008).

Não pode ser ignorado que o envolvimento da carne de frango na transmissão da bactéria pode ter reflexos na imagem que o consumidor tem do produto. Pela importância que vem recebendo em todo o mundo e considerando a expressiva participação do frango brasileiro no concorrido mercado externo, é possível que *Campylobacter* seja uma barreira no comércio internacional. Neste cenário, as recomendações para o controle de *Salmonella* na indústria avícola e na segurança dos alimentos, pode ser empregado para melhorar o gerenciamento e *Campylobacter*, o que já vem sendo tema de debates junto às indústrias e órgãos oficiais como forma de antever o problema e garantir a qualidade do produto que é ofertado (VAZ, 2008).

Em 2009, a FAO/OMS instituiu o *Expert Committee Joint Microbial Risk Assessment* (JEMRA), que em sua 12ª reunião definiu como meta a avaliação de risco de *Campylobacter* spp. em frangos, cujo relatório técnico foi apresentado na 42ª Seção do *Codex Committee on Food Hygiene*, ocorrida em Kampala, Uganda, entre os dias 29/11 a 3/12/2010. Neste relatório, estabeleceu-se que as medidas de controle devem ser fundamentadas:

- nas boas práticas de higiene, que por serem geralmente qualitativas podem diferir consideravelmente entre os países,
- em avaliações de risco, desenvolvidas a partir do conhecimento científico, por meio de uma base quantitativa da prevalência e/ou ocorrência de *Campylobacter* spp. (CAC, 2011).

#### **2.4. Resistência de bactérias aos antimicrobianos**

Antimicrobianos é o termo, em geral, empregado para designar fármacos que inibem a multiplicação ou causam a morte de micro-organismos. Podem ser administrados em animais para prevenir ou tratar doenças infecciosas e, também, como aditivos, para melhorar o desempenho zootécnico de animais de produção (BRASIL, 2008a).

Isto inclui a utilização não terapêutica, como para a promoção de crescimento e o uso como profilaxia para tentar prevenir infecções em desenvolvimento em animais alimentos e uso terapêutico para o tratamento

de animais doentes. No entanto, esta utilização também inclui o uso de agentes definidos pela OMS como "criticamente importantes" para a medicina humana (OMS, 2011).

O uso dessas substâncias é objeto de grande preocupação na área da saúde, considerando-se os riscos de ocorrência de resíduos nos produtos derivados dos animais e de desenvolvimento de resistência bacteriana, ou seja, a capacidade de um micro-organismo continuar a multiplicar-se ou sobreviver na presença de concentrações terapêuticas de determinado agente antimicrobiano (BRASIL, 2008a).

#### **2.4.1. Mecanismos de resistência a antimicrobianos**

A resistência microbiana pode ser classificada como natural ou intrínseca, e adquirida.

A resistência intrínseca decorre de uma propriedade comum aos micro-organismos da espécie, é fundamentada em genes presentes no cromossomo, que tipicamente não são transferíveis e incluem resistência às penicilinas semi-sintéticas, cefalosporinas, aminoglicosídeos, clindamicina, lincomicina, fluorquinolonas e trimetoprim-sulfametoxazol. Um exemplo é o que ocorre com os bacilos gram-negativos (*Escherichia coli* e *Proteus*) resistentes à penicilina G. Essas bactérias sintetizam enzimas que clivam esse antibiótico, denominadas beta-lactamases, e possuem, além disso, envoltórios que dificultam o acesso da penicilina ao seu alvo molecular (PALERMO-NETO e TITZE-DE-ALMEIDA, 2002; TEIXEIRA e FACKLAM, 2003; ALEKSHUN e LEVY, 2007).

A resistência adquirida resulta da aquisição de mecanismos normalmente ausentes nos micro-organismos da espécie em questão, e normalmente resulta de uma mutação no DNA ou pela aquisição de um novo gene. Esta aquisição pode ocorrer por transformação, transdução ou conjugação. Por exemplo, a maioria dos isolados de *Staphylococcus aureus* não apresentava resistência à penicilina G, porém, já nos primeiros anos de uso desse antimicrobiano, foram detectadas linhagens resistentes (MOELLERING JR, 1992; MONROE e POLK, 2000; PALERMO-NETO e

TITZE-DE-ALMEIDA, 2002; TEIXEIRA e FACKLAM, 2003; ALEKSHUN e LEVY, 2007).

A resistência microbiana pode ocorrer em função de três principais mecanismos: inativação enzimática da molécula do antimicrobiano, alteração do alvo celular deste agente e redução da concentração intracelular do antimicrobiano (ALEKSHUN e LEVY, 2007).

A inativação enzimática decorre da ação de enzimas bacterianas sobre o princípio ativo do antimicrobiano, como ocorre em *S. aureus* produtores de enzimas beta-lactamases (penicilinase e cefaloporinase) que hidrolisam o anel beta-lactâmico de penicilinas e cefalosporinas.

O segundo mecanismo de resistência consiste em alterar ou 'camuflar' a estrutura da molécula-alvo do antimicrobiano. Por exemplo, os enterococos resistentes à vancomicina substituem o resíduo de alanina por lactato, reduzindo a afinidade da vancomicina pelo seu alvo.

E ainda, os micro-organismos podem apresentar resistência quando possuem mecanismos para reduzir a concentração intracelular do antimicrobiano, por uso das bombas de efluxo. Este mecanismo é presente em estafilococos resistentes a antibióticos macrolídios, como a eritromicina (WALSH, 2000; WHITE et al., 2006).

#### **2.4.2. Possíveis consequências para a saúde humana**

A possível transferência da resistência microbiana dos animais para o homem é um tema de grande importância e que tem mobilizado esforços de controle por parte de várias instituições internacionais, incluindo OMS, OIE e *Codex Alimentarius* (OMS, 2011).

As duas maiores preocupações são a seleção de micro-organismos resistentes que podem, assim, causar uma infecção de difícil controle, e a transferência de genes de resistência dos micro-organismos de origem animal para os micro-organismos de origem humana.

Quanto ao primeiro aspecto, sabe-se que doenças infecciosas de origem alimentar ocorrem quando bactérias patogênicas ou oportunistas do hospedeiro são ingeridas e, posteriormente, superam barreiras orgânicas como, por exemplo, o pH e as enzimas gástricas, o muco, a microbiota

normal do Trato Gastrointestinal (TGI) e a ação de leucócitos do sistema imune, podendo, assim, causar intoxicação ou infecção (BRASIL, 2008a).

As infecções são a primeira preocupação no que se refere à ingestão de alimentos contaminados com micro-organismos resistentes, uma vez que a terapia antimicrobiana pode ser ineficaz. Porém, a instalação de um processo infeccioso causado por bactérias resistentes é um processo que depende de várias etapas sucessivas.

A segunda preocupação é a transferência de genes de resistência das bactérias de origem animal para aqueles presentes na microbiota humana que, posteriormente, poderiam causar a infecção. A transferência de genes entre bactérias já foi demonstrada experimentalmente, mas a magnitude deste fenômeno, em termos de saúde pública, ainda não foi estabelecida (BARTON, 1998; APPLEY et al., 2001).

Vale destacar que o risco de ocorrência de uma infecção a partir da ingestão de alimentos varia de acordo com o micro-organismo em questão. Assim, a OMS dividiu os agentes microbianos considerados prioritários para monitoramento de resistência em duas categorias, aqueles zoonóticos, incluindo *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. e aqueles indicadores de contaminação, que compreendem *Enterococcus* e *Escherichia coli* (OMS, 2011).

Apesar destes quatro gêneros possuírem potencial de causar infecções a partir de alimentos de origem animal, o risco está mais bem caracterizado para os zoonóticos. As infecções alimentares causadas por linhagens de *Salmonella* spp. e de *Campylobacter* spp. com resistência a antimicrobianos já estão caracterizadas na literatura científica (OMS/FAO, 2011; OMS/FAO, 2012).

Como a incidência de resistência bacteriana a antimicrobianos representa risco à saúde humana e animal, o tema tem sido objeto de atenção de instituições como a OMS, OIE e *Codex Alimentarius*, que vêm discutindo soluções globais para o problema. A legislação brasileira prevê a fiscalização de produtos de uso veterinário desde o final da década de 1960, no que diz respeito à utilização, fabricação e comercialização (BRASIL, 2008a).

Dentre as drogas de uso veterinário autorizadas no Brasil, destaca-se o grupo dos antimicrobianos, fármacos que vem sendo utilizados para prevenção e tratamento de doenças infecciosas, bem como para melhorar o desempenho de animais produtores de alimentos. A utilização dos antimicrobianos tem como base informações científicas e técnicas, e devem-se respeitar as boas práticas de uso de medicamentos veterinários. Na escolha devem-se considerar a eficácia, aplicabilidade, segurança e custo (BRASIL, 2008a).

### **2.4.3. Uso de antimicrobianos na produção animal**

De acordo com Bottezini et al. (2005), os antibióticos possuem também a função de estimulantes do crescimento, pois atuam no intestino selecionando a microbiota e eliminando micro-organismos produtores de toxinas, além de melhorar o aproveitamento dos alimentos. Sua introdução nas rações, para fins de benefícios no crescimento, iniciou-se a partir dos trabalhos de Moore et al. (1946) e Stockstad e Jukes (1950), citados por Lopes (2009). A partir daí, é comum o fornecimento na alimentação animal como promotores de crescimento, para melhorar a conversão alimentar e para diminuir o desperdício na produção, além de auxiliar na terapêutica e profilaxia de infecções bacterianas, pois resultados positivos têm sido demonstrados ao longo do tempo, inclusive no controle de infecções prevalentes em fazendas e estações experimentais de criação (TITZE-DE-ALMEIDA e PALERMO-NETO, 2005; LOPES et al., 2006).

Para acompanhar a crescente demanda de produção, a avicultura industrial necessita, imprescindivelmente, do uso de técnicas ou ações que diminuam a incidência de doenças no plantel avícola. Por muitas décadas, os promotores de crescimento tiveram e ainda têm grande importância na produção de proteína animal dadas às diversas vantagens que oferecem, neutralizando ou amenizando os efeitos prejudiciais desses produtos (BRASIL, 2008a).

Contudo, a utilização indiscriminada e constante de antibióticos tem ocasionado o surgimento de populações bacterianas resistentes, resultantes do compartilhamento e/ou transferência de genes de resistência entre micro-

organismos da microbiota normal e diferentes patógenos, incluindo os de natureza zoonótica (TITZE-DE-ALMEIDA e PALERMO-NETO, 2005).

Entre os fármacos empregados, é reconhecido que alguns, como bacitracina de zinco, clortetraciclina, oxitetraciclina, penicilina, estreptomina, eritromicina, oleandomicina, virginamicina, flavomicina e lincomicina, favorecem em torno de 10 % o ganho de peso, e cerca de 10 % uma melhor conversão alimentar (BOTTEZINI et al., 2005; BACK et al., 2006).

Usualmente, as rações para produções avícolas contêm 2, 4, 10 ou 40 g.t<sup>-1</sup> de algum tipo de antibiótico, para estimular o crescimento e melhorar a conversão alimentar. O uso na terapêutica também requer o conhecimento ou suspeita quanto ao agente infeccioso e o seu perfil de sensibilidade, assim como a avaliação das condições clínicas do animal. Contempla um regime posológico cuja dosagem e duração possibilitam o controle do processo infeccioso, reduzindo-se os riscos de desenvolvimento de resistência bacteriana (BOTTEZINI et al., 2005; TITZE-DE-ALMEIDA e PALERMO-NETO, 2005).

Entretanto, seu uso é feito, muitas vezes, de forma desordenada, no setor agrícola, em que é utilizado por meio de aspersão direta, e na cadeia de produção de alimentos de origem animal, na qual são incorporados às rações. Essa condição leva à seleção de um *pool* de genes, transferíveis para bactérias comensais presentes no trato gastrointestinal humano ou enteropatógenos, levando a uma pressão seletiva, que favorece a sobrevivência e disseminação na cadeia alimentar (HASMAN, 2005).

A emergência da resistência a antimicrobianos em bactérias associadas com animais produtores de alimentos, particularmente naquelas de características zoonóticas, e a evidência de infecções humanas tendo como fontes alimentos de origem vegetal e animal, tem compelido a comunidade científica e os profissionais de saúde pública a reavaliarem os critérios que permitam o uso de antimicrobianos na agricultura e na produção de alimentos de origem animal. Por exemplo, o crescente isolamento de estirpes de *Salmonella* resistentes a um ou vários antimicrobianos a partir de fontes humanas e animais é considerado alarmante e se tem constituído um importante problema de Saúde Pública (SCHORETER et al., 2004; LARKIN et al., 2004; VARMA et al., 2005).

Portanto, a utilização de antimicrobianos na agricultura deve ser criteriosa, excluindo os agentes definidos pela OMS como "criticamente importantes" para a medicina humana. Deste modo, a Organização Mundial de Saúde elaborou um documento destinado às autoridades de saúde pública e de saúde animal de todo mundo, voltado para os profissionais da área médica e veterinária, assim como outros envolvidos na gestão da resistência antimicrobiana, para garantir que os antimicrobianos criticamente importantes sejam utilizados de forma prudente, na medicina humana veterinária (OMS, 2011).

#### **2.4.4. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de *Campylobacter* spp.**

O desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos em campilobactérias termofílicas, em especial em *C. jejuni* e *C. coli*, está tornando-se um grande problema em todo o mundo, pela sua resistência às fluoroquinolonas e aos macrolídeos. A resistência aos antimicrobianos também é comum entre campilobactérias isoladas de aves. Por esta razão a FDA proibiu o uso de suplemento de fluoroquinolonas como promotores de crescimento na produção de aves. As espécies *Campylobacter* causam diarreia auto-limitada em aves, portanto, o tratamento com antibióticos em geral não é necessário. No entanto, o antibiótico é necessário para os casos humanos graves como infecções prolongadas ou sistêmicas. Como *Campylobacter* é um patógeno zoonótico, sua transmissão aos seres humanos levanta uma questão grave, visto que os antibióticos mais comuns podem ser ineficazes para o tratamento da campilobacteriose (BHUNIA, 2008).

O aumento da taxa de infecções humanas causadas por estirpes resistentes a antimicrobianos de *C. jejuni* faz o manejo clínico dos casos de campilobacteriose cada vez mais difícil. A resistência a antimicrobianos pode prolongar a doença e comprometer o tratamento de pacientes com bacteremia (ALTEKRUSE et al., 1999).

A taxa de resistência a antimicrobianos a infecções entéricas é mais alta nos países em desenvolvimento, em que o uso de antimicrobianos em

humanos e animais é relativamente livre. Estudo realizado em 1994 foi constatado que a maioria dos isolados clínicos de *C. jejuni* na Tailândia era resistente à ciprofloxacina. Além disso, quase um terço dos isolados foi resistente a azitromicina. No mundo industrializado, o surgimento de cepas resistentes a fluoroquinolona de *C. jejuni* ilustra a necessidade de uso prudente de antimicrobianos na produção animal para consumo como alimento. Evidências experimentais demonstram que cepas de *C. jejuni* suscetíveis à fluoroquinolona facilmente tornam-se resistentes em frangos, quando estes fármacos são administrados. Depois que o uso da fluoroquinolona foi aprovado na Europa para uso em aves de granja, cepas resistentes de *C. jejuni* surgiram rapidamente nos seres humanos, durante o início dos anos 1990. Da mesma forma, após o prazo de dois anos da homologação, em 1995, do uso das fluoroquinolonas em aves de granja nos Estados Unidos, o número de casos humanos de campilobacterioses resistentes à ciprofloxacina dobrou em Minnesota. Em 1997, um estudo realizado em Minnesota, 12 (20 %) de 60 amostras de *C. jejuni* isoladas de frango comprado em mercearias foram resistentes à ciprofloxacina (ALTEKRUSE et al., 1999).

Com o objetivo de verificar a susceptibilidade a antimicrobianos de *Campylobacter* spp., Kuana et al. (2008) avaliaram 62 amostras isoladas de 22 lotes de frango de corte pelo método de difusão em Agar. As amostras foram isoladas de frangos com idade entre 3 e 5 semanas, a partir de swabs cloacais, fezes e descarga cecal obtidos nas granjas e de rinsagem de carcaças no abatedouro. O perfil de susceptibilidade a antimicrobianos apresentou 62,5 % de resistência para, no mínimo, uma droga, sobretudo para enrofloxacin (71 %), neomicina (50 %), lincomicina (50 %), tetraciclina (43 %), penicilina (42 %), ceftiofur (33 %) amoxicilina (27 %), espiramicina (20 %), ampicilina (18 %) e norfloxacina (14 %), enquanto uma percentagem menor foi observada frente eritromicina (10 %) e doxiciclina (10 %). Todas as amostras foram sensíveis a gentamicina e linco-espectinomicina e 80% à colistina (KUANA et al., 2008b).

Em outro trabalho, Marini e colaboradores (2009) isolaram cepas de *Campylobacter* de carcaças suínas em diferentes etapas da linha de abate, que foram caracterizadas e identificadas mediante testes bioquímicos e

enzimáticos, os quais foram confirmados por reação de polimerase em cadeia (PCR). As cepas também foram avaliadas quanto à resistência a antimicrobianos pela técnica de disco-difusão. Foram testados 15 diferentes princípios ativos (amoxicilina, amoxicilina + ácido clavulânico, ampicilina, azitromicina, cefalotina, ciprofloxacina, clindamicina, cloranfenicol, estreptomicina, gentamicina, ácido nalidíxico, norfloxacina, tetraciclina, trimetropina e vancomicina) e a formação de halo ao redor do disco de antibiótico foi medida para a verificação da ação inibitória do antimicrobiano. De um total de 196 amostras coletadas, foram isoladas 8 cepas que depois foram identificadas como pertencentes aos gêneros *Campylobacter* e *Arcobacter* das espécies *C. coli*, *C. jejuni* e *A. cryaerophilus*. Todas as cepas isoladas apresentaram multirresistência antimicrobiana, sendo resistentes à cefalotina, ácido nalidíxico, norfloxacina, tetraciclina, trimetropina e vancomicina. Apenas 2 antimicrobianos, ácido clavulânico + amoxicilina e cloranfenicol, mostraram inibição a todas as cepas isoladas (MARINI et al., 2009).

Gomes e colaboradores (2009) estudaram o perfil de sensibilidade de 238 estirpes de *C. jejuni* / *C. coli*, isoladas de 4 lotes de frangos na fase do abate, pelo método de difusão em agar, usando discos impregnados com substâncias antimicrobianas disponíveis no mercado. Em 136 estirpes provenientes destes lotes foram realizados, pelo mesmo método, testes para a determinação da susceptibilidade às quinolonas Enrofloxacina (5 mcg) e Ciprofloxacina (5 mcg). O perfil de resistência das cepas de *C. jejuni* / *C. coli* isoladas de frangos no momento do abate mostrou que 100 % das estirpes foram resistentes à Cefalotina, 97,9 % ao Trimetoprim/Sulfametoxazol, 59,2 % ao Ácido Nalidíxico, 20,2 % à Ampicilina, 5,9 % à Tetraciclina, 0,4 % à Eritromicina e Kanamicina. Nenhuma estirpe foi resistente ao Cloranfenicol. Em relação especificamente às quinolonas testadas, 26,5 % das estirpes avaliadas apresentaram resistência à Enrofloxacina e 27,2 % à Ciprofloxacina (GOMES et al., 2009).

Em trabalho sobre a prevalência e a resistência a antimicrobianos de *Campylobacter* spp. em frangos de corte, na China, Chen et al. (2010) avaliaram 767 amostras de material do ceco de frangos de corte, em que no total foram identificadas 208 amostras contendo *C. jejuni*, 53 amostras com

*C. coli*, e outras 14 amostras com *Campylobacter* spp. não identificados. Foi realizado teste de susceptibilidade a antimicrobianos com 202 isolados de *C. jejuni* e 52 de *C. coli*. Todos os isolados foram resistentes à tetraciclina, e 98% dos *Campylobacter* isolados testados foram resistentes às quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina e enrofloxacina) e às tetraciclinas (tetraciclina e doxiciclina). Observaram ainda que as cepas de *C. jejuni* também apresentaram uma alta taxa de resistência aos antibióticos fenicóis e uma taxa moderada de resistência aos macrolídeos e à gentamicina. Já os isolados de *C. coli* apresentaram uma alta resistência aos macrolídeos e gentamicina e pouca resistência aos antibióticos fenicóis. A grande maioria dos isolados de *Campylobacter* foi classificada como resistente à múltiplas drogas. Estes resultados revelam uma ampla extensão de resistência antimicrobiana dos exemplares de *Campylobacter* isolados de aves de granja na China, e destacam a necessidade de utilização mais racional e cautelosa de antibióticos na avicultura para minimizar a disseminação de cepas de *Campylobacter* resistentes a antibióticos (CHEN et al., 2010).

#### **2.4.5. Teste de sensibilidade bacteriana a antimicrobianos: técnica de difusão em agar**

Os testes de sensibilidade são indicados para micro-organismos que contribuem para processo infeccioso que justifiquem terapêutica antimicrobiana, sempre que sua sensibilidade não possa ser predita de maneira confiável a partir do conhecimento da identidade do organismo. Os testes de sensibilidade são indicados, com maior frequência, quando se acredita que o organismo em questão pertence a uma espécie capaz de apresentar resistência aos agentes antimicrobianos geralmente usados (CLSI, 2008).

Há diversos métodos laboratoriais usados para medir a sensibilidade *in vitro* das bactérias aos agentes antimicrobianos. Aqui está descrita a técnica padrão de difusão em agar de acordo com padronizado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Esta técnica é muito utilizada por laboratórios de microbiologia por ser um teste relativamente simples, de rápida resposta e apresenta bons resultados para bactérias patogênicas fastidiosas.

O teste por difusão em agar utiliza discos impregnados por concentrações conhecidas do antibiótico a ser testado. Baseia-se na medição da zona de inibição do crescimento microbiano, podendo ainda ser correlacionada com as concentrações mínimas inibitórias (MICs) pelo uso de tabelas padronizadas (CLSI, 2008; OPLUSTIL et al., 2010).

A técnica é destinada à determinação da sensibilidade bacteriana *in vitro* frente a agentes antimicrobianos, conhecida por teste de Kirby e Bauer ou Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA). É a mais difundida e utilizada na rotina de análises clínicas, dada a sua praticidade de execução, baixo custo e confiabilidade de seus resultados. Embora seja relativamente simples sua execução, a técnica exige que a metodologia seja seguida rigorosamente de forma que os resultados obtidos correspondam à realidade e possam ser comparados com as tabelas internacionais (OPLUSTIL et al., 2010; LABORCLIN, 2011).

O procedimento consiste no preparo de uma suspensão de bactérias de cultivo recente, inoculação desta suspensão na superfície de uma placa de Agar Müeller Hinton, e adição dos discos de papel impregnados com antimicrobianos com uma concentração padronizada. Cada disco possui impresso seu código e o valor numérico de sua concentração. Após a incubação em estufa, é analisado o padrão de crescimento ou inibição ao redor de cada disco, sendo então medido o diâmetro de cada halo e o resultado pesquisado em tabelas apropriadas segundo a espécie bacteriana em análise (CLSI, 2011, LABORCLIN, 2011).

Na escolha dos discos a serem utilizados para antibiograma, existem sugestões de padrões adotados pelo CLSI, e indicados pelo *Foods and Drugs Administration* (FDA) e pela ANVISA. São referenciados no grupo A as drogas de primeira escolha para o antibiograma, no grupo B as de segunda escolha e no grupo C as drogas suplementares, testadas quando o primeiro e segundo grupos não se apresentarem eficazes (CLSI, 2011). No Quadro 1 encontram-se listados os agentes antimicrobianos recomendados para a família Enterobacteriaceae. Na Tabela 4 encontram-se os antimicrobianos com resistência intrínseca esperada para a família Enterobacteriaceae e na Tabela 5 os valores de halos inibitórios para este grupo de micro-organismos, segundo CLSI (2007; 2011).

**Quadro 1.** Sugestão do *FDA Clinical Indications* para a família Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae	Grupo A*	Grupo B*	Grupo C*
	Ampicilina Cefazolina Gentamicina ou Tobramicina	Amicacina Amoxicilina-clavulanato Ampicilina-sulbactam Piperacilina-tazobactam Ticarcilina-clavulanato Cefuroxima Cefepime Cefotetam Cefoxitina Cefotaxima ou Ceftriaxona Ciprofloxacina Levofloxacina Ertapenem Imipenem Meropenem Doripenem Piperacilina Sulfazotrim	Aztreonam Ceftazidima Cloranfenicol Tetraciclina

\* **Grupo A:** Drogas de primeira escolha; **Grupo B:** Drogas de segunda escolha;  
**Grupo C:** Drogas suplementares, testadas quando drogas dos Grupos A e B não são eficazes.  
**Fonte:** CLSI, 2011.

**Tabela 4.** Resistência intrínseca para Enterobacteriaceae

Organismo	Agente antimicrobiano*										
	Ampicilina	Amoxicilina-Clavulanato	Ampicilina-Sulbactam	Piperacilina	Ticarcilina	Cefalosporina I: Cefazolina Cefalotina	Cefamicinas: Cefalotina Cefotetan	Cefalosporinas II: Cefuroxima	Tetraciclina	Nitrofurantoina	Polimixina B e Colistina
<i>Citrobacter freundii</i>	R	R	R			R	R	R			
<i>Citrobacter koseri</i>	R	R	R	R	R						
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R	R			R	R	R			
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R			R	R	R			
<i>Escherichia coli</i>	Não há resistência intrínseca para beta-lactâmicos neste micro-organismo										
<i>Escherichia hermannii</i>	R				R						
<i>Hafnia alvei</i>	R	R	R			R	R				
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R				R						
<i>Morganella morganii</i>	R	R				R		R	R	R	R
<i>Proteus mirabilis</i>	Não há resistência intrínseca para beta-lactâmicos neste micro-organismo										
<i>Proteus penneri</i>	R					R		R	R		R
<i>Proteus vulgaris</i>	R					R		R	R	R	R
<i>Providencia rettgeri</i>	R	R				R			R	R	R
<i>Providencia stuart</i>	R	R				R			R	R	R
<i>Salmonella e Shigella spp.</i>	Não há resistência intrínseca para beta-lactâmicos neste micro-organismo										
<i>Serratia marsescens</i>	R	R	R			R	R	R		R	R
<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R			R	R					

\* **Observação:** Cefalosporinas III (3º geração), cefepime, aztreonam, ticarcilina-clavulanato, piperacilina-tazobactam e carbapenêmicos não estão listados por não apresentam resistência intrínseca em Enterobacteriaceae. **Fonte:** CLSI, 2011.

**Tabela 5.** Diâmetros de halos de inibição para Enterobacteriaceae

Agente	Código	Concentração nos discos	Halos de inibição (mm)		
			R*	I**	S***
Ácido Nalidixico	NAL	10 µg	≤ 13	14 - 18	≥ 19
Amicacina	AMI	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17
Amoxicilina + Clavulanato	AMC	20 / 10 µg	≤ 13	14 - 17	≥ 18
Ampicilina	AMP	10 µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17
Ampicilina + Sulbactam	ASB	10 / 10 µg	≤ 11	12 - 14	≥ 15
Aztreonam	ATM	30 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21
Cefaclor	CFC	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Cefalotina	CFL	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Cefamandole	-	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Cefazolina	CFZ	30 µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Cefepime	CPM	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Cefetamet	CFT	10 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Cefixime	CFM	5 µg	≤ 15	16 - 18	≥ 19
Cefmetazole	-	30 µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16
Cefonicid	-	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Cefoperazona	-	75 µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21
Cefotaxima	CTX	30 µg	≤ 22	23 - 25	≥ 26
Cefotetan	-	30 µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16
Cefoxitina	CFO	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Cefpodoxima	-	10 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21
Cefprozil	-	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Ceftazidima	CAZ	30 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21
Ceftriaxona	CRO	30 µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Cefuroxima axetil (oral)	CRX	30 µg	≤ 14	15 - 22	≥ 18
Cefuroxima sódica (parenteral)	CRX	30 µg	≤ 14	15 - 22	≥ 23
Ciprofloxacina	CIP	5 µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21
Cloranfenicol	CLO	30 µg	≤ 12	13 - 17	≥ 18
Doripenem	-	10 µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Doxiciclina	DOX	30 µg	≤ 10	11 - 13	≥ 14
Ertapenem	-	10 µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Gatifloxacina	-	5 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Gentamicina	GEN	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15
Imipenem	IPM	10 µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Kanamicina	-	30 µg	≤ 13	14 - 17	≥ 18
Levofloxacina	LVX	5 µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17
Lomefloxacina	LMX	10 µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22
Meropenem	MER	10 µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Netilmicina	NET	30 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15
Nitrofurantoína	NIT	300 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17

\* R = Resistência; \*\* I = Reação intermediária; \*\*\* S = Sensibilidade

Continua...

Continuação:

Agente	Código	Concentração nos discos	Halos de inibição (mm)		
			R*	I**	S***
Norfloxacin	NOR	10 µg	≤ 12	13 - 16	≥ 17
Piperacilina + Tazobactam	PPT	100 / 10 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21
Ofloxacin	OFX	5 µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16
Sulfametoxazol + Trimetoprim	SUT	23,75 / 1,25 µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16
Sulfonamidas	SUL	250 ou 300 µg	≤ 12	13 - 16	≥ 17
Ticarcilina + Clavulanato	TIC	75 / 10 µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20
Tetraciclina	TET	30 µg	≤ 11	12 - 14	≥ 15
Tobramicina	TOB	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15
Trimetoprim	TRI	5 µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16

\* R = Resistência; \*\* I = Reação intermediária; \*\*\* S = Sensibilidade

Fonte: CLSI, 2007.

## REFERÊNCIAS

ABEF – Associação Brasileira de Exportadores de Frango. **Produção e exportação de frango**. 2008. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/estatisticas/mercadointerno/historico.php>>. Acesso em 14 de março de 2009.

ACHA, P.N.; SZYPRES, B. **Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales**. 3ª Ed. Washigton: Organizacion Panamericana de la Salud, 2002, p.56-67.

ACMSF – Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food. **Second Report on *Campylobacter***. 2005. Disponível em: <<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/acmsfcampyloreport.pdf>>. Acesso em 27/07/2011.

ADAK, G.K.; MEAKINS, S.M.; YIP, H.; LOPMAN, B.A.; O'BRIEN, S.J. Disease risks from foods, England and Wales, 1996-2000. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n.3, p.365-372, 2005.

ADAMS, M.R.; MOSS, M.O. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1995. p. 205-211.

AKUTSU, R. de C.; BOTELHO, R.A.; CAMARGO, E.B.; SÁVIO, K.E.O.; ARAÚJO, W.C. Adequação das Boas Práticas de Fabricação em Serviços de Alimentação. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 3, p. 419-427, 2005.

ALEKSHUN, M.; LEVY, S. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell* 128:1037-1050, 2007.

ALLOS, B.M. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends, **Clinical Infectious Diseases**, v.32, p.1201–1206, 2001.

ALMEIDA, P.F.; SERRANO, A.M. Ocorrência de *Campylobacter fetus* subespécie *jejuni* em carcaças de frangos e suínos. **Revista de Microbiologia**, v.18, n. 3, p. 279-283, 1987.

ALTEKRUSE, S.F.; STERN, N.J.; FIELDS, P.I.; SWERDLOW, D.L. *Campylobacter jejuni* — An Emerging Foodborne Pathogen Emerging. **Infectious Diseases**, v.5, n.1, p. 28-35, 1999.

ALTERKRUSE, S.F.; HUNT, J.M.; TOLLEFSON, L.K.; MADDEN, J.M. Food and animal sources of human *Campylobacter jejuni* infection. **Journal of American Veterinary Association**, v. 204, n.1, p.57-61, 1994.

ANDRADE, N.J. **Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008. 400p.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4<sup>a</sup> ed. Washington-DC: APHA. 2001. 676p.

APPLEY, M.D.; BROWN, S.A.; FEDORKA-CRAY, P.J.; FERENC, S.; HOUSE, J.K.; RIVIERE, J.E.; RICE, L.B.; THORNSBERRY, C.; WADDELL, J. Role of veterinary therapeutics in bacterial resistance development: animal and public health perspectives. **American Veterinary Medicine Association**, v.212, n. 8, p 1209-1213, 2001.

AQUINO, M.H.C.; FRANCO, R.M.; TIBANA, A. *Campylobacter jejuni* na avicultura: importância e métodos de controle. **Revista Higiene Alimentar**, v. 9, n. 36, p. 17-19, 2005.

ARRITT, F.M. **Efficacy of Selected Chemicals on the Attachment and Survival of *Campylobacter jejuni* on Chicken Breast Skin**. (2000). 38p. Thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, US. Disponível em: <<http://scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-01312001-193806/unrestricted/arritt.etd.pdf>>. Acesso em 29/07/2011.

ARSENAULT, J.; LETELLIER, A.; QUESSY, S.; BOULIANNE, M. Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada. **Journal of Food Protection**, v.70, n.8, p.1820-1828, 2007.

ASBURY, A. K. New concepts of Guillain-Barré Syndrome. **Journal Child Neurology**, v.15, n.3, p.183-191, 2000.

ATANASSOVA, V.; RING, C. Prevalence of *Campylobacter jejuni* spp. in poultry and poultry meat in Germany. **International Journal of Food Microbiology**, v. 51, p. 187-190, 1999.

ATANASSOVA, V.; REICH, F.; BECKMANN, L.; KLEIN, G. Prevalence of *Campylobacter* spp. in turkey meat from a slaughterhouse and in turkey meat retail products. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 49, n.1, p.141-145, 2007.

AWWA – AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION. Research Division Microbiological Contaminants Committee. Emerging pathogens bacteria. **Journal American Water Works Association**, v.91, n. 9, p.101-109, 2009.

BACK, A.; BELTRÃO, N.; LEÃO, J.A. Monitoria e controle de *Salmonella*: Aspectos práticos. **VII Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. Chapecó - SC. 2006.

BARTON, M.D. Does the use of antibiotics in animals affect human health? **Australian Veterinary**, v. 3, p. 177-180, 1998.

BASHOR, M.P.; CURTIS, P.A.; KEENER, K.M.; SHELDON, B.W.; KATHARIOU, S.; OSBORNE, J.A. Effects of carcass washers on large broiler processing plants. **Poultry Science**, v. 83, p. 1232-1239, 2004.

BERRANG, M.; BUHR, R.J.; CASON, J.A. *Campylobacter* recovery from external and internal organs of commercial broiler carcass prior to scalding. **Poultry Science Magazine**, v. 78, p. 286-290. 2000a.

BERRANG, M.; DICKENS, J.A.; MUSGROVE, M.T. Effects of hot water application after defeathering on the levels of *Campylobacter*, Coliform Bacteria and *E. coli* on broiler carcass. **Poultry Science Magazine**, v. 78, p. 1689-1693. 2000b.

BERRANG, M.; MEINERSMANN, R.J. Poultry *Campylobacter* source found in lungs, 2005. Disponível em: <<http://www.foodproductiondaily.com/news/ng.asp?n=60193Ec>>. Acesso em 30/09/2012.

BHUNIA, A.K. **Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis**. New York: Springer Science Business Media. 2008. 276p.

BJERKLIE, S. Control del *Campylobacter*. **Indústria Avícola**, v. 16, n.3, p.12-14, 1999.

BLACKBURN, C.W.; McCLURE, P.J. **Foodborne pathogens Hazards, risk analysis and control**. Boca Raton: Woodhead Publishing Ltda and CRC Press LLC.FL, USA. 2002.

BLASER, M.J. *Campylobacter jejuni* and food. **Food Technology**, v.36, n.89-92, 1982.

BLASER, M.J.; LA FORCE, F.M.; WILSON, N.A.; WANG, W.L.L. Reservoirs for human campylobacteriosis. **Journal Infections Diseases**, v.141, n.5, p.665-669, 1980.

BOLTON FJ, HUTCHINSON DN, COATES D. Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 19, n.2, p.169-171, 1984.

BOLTON, F.J.; ROBERTSON, L. A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni* / *coli*. **Journal of Clinical Pathology**, v.35, p. 462-467, 1982.

BOTTEZINI, I.M.P.; CORSO, M.P.; VEIT, V.M. **Uso de Antibióticos na produção de Frango**. Departamento de Tecnologia em Alimentos – Cefet/PR – Unidade de Medianeira, 2005. Disponível em <[www.dipemar.com.br/carne/309/materia\\_arttec\\_carne.htm](http://www.dipemar.com.br/carne/309/materia_arttec_carne.htm)>. Acesso em 18/04/2012.

BOVILL, R.A.; MACKEY, B.M. Resuscitation of 'non-culturable' cells from aged cultures of *Campylobacter jejuni*, **Microbiology**, v. 143, n.5, p.1575-1581, 1997.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Orientações Técnicas: Higiene do Ambiente de Inspeção ante-mortem e post-mortem**. 2004. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/lis/portal/url/ITEM/CD351889B36E588DE0300EA5FCC870>>. Acesso em 27/07/2012.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.º 368, de 4 de setembro de 1997a. **Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos**. 1997a. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em 27/07/2012.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Resolução de Diretoria colegiada RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil de 10 de janeiro de 2001b. Brasília, DF.

BRASIL. **Plano Nacional de Controle de Resíduos em produtos de origem animal - PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC**, mel - PCRM, leite - PCRL e pescado - PCRP. Instrução Normativa nº 42, de 20 de dezembro de 1999. Brasília, DF.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução - RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. **Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/ Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos**. Brasília: Diário Oficial da União. Brasília, DF.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Relatório de Pesquisa em Vigilância Sanitária de Alimentos Monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil**. Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF – Brasília, 2008a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n.210, de 10 de novembro de 1998. **Aprova o regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitário de carne de aves**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 nov. 1998. Seção 1, p. 226. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acesso em 27/07/2011.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria Nº 451, de 19 de setembro de 1997b. **Regulamento Técnico Princípios Gerais para o Estabelecimento de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Brasília: Diário Oficial da União, 22/09/1997b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. **Perspectiva sobre a análise de risco e segurança dos alimentos**. Curso de sensibilização. OPAS/OMS, 2008b. 160p.

BROWN, M.; STRINGER, M. **Microbiological risk assessment in food processing**. Boca Raton-FL: CRC Press. 2002. 301p.

BUTZLER, J.P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, n. 10, p.868-876, 2004.

BUTZLER, J.P.; SKIRROW, M.B. *Campylobacter enteritis*. **Clinical Gastroenterology**, v.8, n.737-765, 1979.

CALIL, R.M. **Atualização sobre inspeção, conservação e embalagem de ovos**. Apostila. São Paulo, 2000. 17p.

CALIL, R.M.; SCARELLI, E.; MODELLI, K.D.; CALIL, E.M.B. **Campilobacterioses: O agente, a doença e a transmissão por alimentos**. São Paulo: Livraria Varela. 1ª ed., 2008. 129p.

CALZADA, C.T.; NAKAHARA, L.K.; KANO, E.; IRINO, K. Biotype and Lior's serogroup of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated in São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 25, p. 1-5, 1994.

CARVALHO, A.C.F.B.; COSTA, F.N. Ocorrência de *Campylobacter* sp. em carcaças e cortes de frango ao nível industrial e comercial. **Revista Higiene Alimentar**, v.10, p.41-43, 1996.

CARVALHO, A.C.F.B.; LIMA, V.H.C.; PEREIRA, G.T. Determinação dos principais pontos de risco de contaminação de frangos por *Campylobacter*, durante o abate industrial. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, p. 89-94, 2002.

CARVALHO, A.C.F.B.; LIMA, V.H.C.; PEREIRA, G.T.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. *Campylobacter* em granja avícola. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 96, n. 540, p.191-195, 2001.

CARVALHO, A.F. **Detecção dos genes da toxina citolética distensiva (CDT) em estirpes de *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* isoladas de frangos de corte e hortaliças**. 2009. 56p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação, Instituto Biológico de São Paulo. 2009.

CARVALHO, F.M.; FIÚZA, M.A.; LOPES, M.A. Determinação de custos como ação de competitividade: estudo de um caso na avicultura de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.3, p.908-913, 2008.

CASTRO, A.G.M.; GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.P.; TORRES, A.P.; CARDOSO, M.V.; PASCHOAL, A.L.S.; SOUZA, C.A.I.; CARRASCO, S. Monitoramento de *Campylobacter* spp. ao longo da linha de abate de frangos de corte. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v.64, p. 21-26, 1997.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention. 2007. Disponível em: <[http://www.cdc.gov/ncidod/diseaseinfo/Campylobacter\\_g.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/diseaseinfo/Campylobacter_g.htm)> Acesso em: 17/01/2011.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention. **FoodNet**: Foodborne Diseases Active Surveillance Network. Atlanta, 2010a. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/FoodNet/>>. Acesso em 17/01/2011.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention – National Center for Zoonotic, Vector-borne and Enteric diseases. **Campylobacter general information**, 2010b. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/>>. Acesso em 29/12/2012.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention. 2008. Disponível em: <[http://www.cdc.gov/ncidod/diseaseinfo/Campylobacter\\_g.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/diseaseinfo/Campylobacter_g.htm)> Acesso em 17/03/12.

CHAVES, S.O.C. **Pesquisa de *Campylobacter* spp. em granjas e abatedouro avícolas na mesorregião metropolitana de Belém – PA**. 2007. 80p. Dissertação (Mestrado).Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Pará. Belém, 2007.

CHEN, X.; NAREN, G.W.; WU, C.M.; WANG, Y.; DAI, L.; XIA, L.N.; LUO, P.J.; ZHANG, Q.; SHEN, J.Z. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in broilers from China. **Veterinary Microbiology**, Article in press, 2010.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility tests for Bacteria isolated From Animals. Approved Standards – Third Edition. **CLSI Document M31-A3**. Pennsylvania, USA. 2008.

CLSI/NCCLS. Clinical and Laboratory Standards Institute/National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. **M101-S9, V.25 No. 1**. 2007.

CLSI/NCCLS Clinical and Laboratory Standards Institute/National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. **M100- A11, V.23**. 2011

CONNER, D.E.; BILGILI, S.F. Antimicrobial carcass treatments at processing. U.S. **Poultry and Egg Association**. 2004. Disponível em: <[http://www.poultryegg.org/resproj/proj\\_300.htm](http://www.poultryegg.org/resproj/proj_300.htm)>. Acesso em 29/07/2011.

CONTRERAS, C.C.; BROMBERG, R.; CIPOLLI, K.M.V.A.B.; MIYAGUSKU, L. **Higiene e Sanitização na Indústria de Carnes e Derivados**: Limpeza e Desinfecção de Plantas de Processamento. São Paulo: Varela, 2003, 182p.

CORTEZ, A.L.L.; CARVALHO, A.C.F.B.; SCARVELLI, E.; MIYASHIRO, S.; VIDAL MARTINS, A.M.C.; BURGER, KP. Survey of chicken abattoir for the presence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 6, n. 48, p. 307-310, 2006.

COSTA, A.M. **Detecção de *Aeromonas hydrophila* e *Campylobacter* spp. em atum (*Thunnus* spp.) fresco comercializado no Município de São Paulo**. São Paulo, 2012. 68p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação, Instituto Biológico de São Paulo. 2012.

CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica. ***Campylobacter jejuni* / Campilobacteriose**. 2011. Disponível: [ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc\\_tec/hidrica/doc/4Campylobac\\_rev2011.pdf](ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/doc/4Campylobac_rev2011.pdf). Acesso em: 30/04/2012.

CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica. **Surtos de doenças transmitidas por água e alimentos notificados à Divisão do DDTHA – CVE/SES-SP por semana epidemiológica, DIR e Município – Estado de São Paulo – ano 2001**, Disponível em [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dados/dta01\\_surtoesp.xls](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dados/dta01_surtoesp.xls). Acesso em 30/11/2012.

CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica. **Surtos de doenças transmitidas por água e alimentos notificados à Divisão do DDTHA – CVE/SES-SP por semana epidemiológica, DIR e Município – Estado de São Paulo, 2003**, Disponível em [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dados/dta03\\_surto.xls](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/dados/dta03_surto.xls). Acesso em 30/11/2012.

DEBRUYNE, L.; GEVERS, D.; VANDAMME, P. Taxonomy of the family Campylobacteriaceae. In: ***Campylobacter***, 3<sup>a</sup> Ed., 2008, p. 1-25.

DESAI, M.; LOGAN, J.M.J.; FROST, J.A.; STANLEY, J. Genome sequence-based fluorescent length polymorphism of *Campylobacter jejuni*, its relationship to serotyping, and its implications for epidemiological analysis. **Journal Clinic Microbiology**, v.39, p.3823-3829, 2001.

DE WIT, M.A.; KOOPMANS, M.P.; KORTBEEK, L.M.; VAN LEEUWEN, N.J.; VINJE, J.; VAN DUYNHOVEN, Y.T. Etiology of gastroenteritis in sentinel general practices in the Netherlands. **Clinical Infectious Diseases**, v.33, n.3, p.280-288, 2001.

DIAS, T.C.; QUEIROZ, D.M.M.; MENDES, E.N.; PERES, J.N. Chicken carcasses as a source of *Campylobacter jejuni* in Belo Horizonte, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**. São Paulo, v. 32, n. 6, p.414-418, 1990.

DOMÍNGUEZ, C.; GÓMEZ, I.; ZUMALACÁRREGUI, J. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. **International Journal of Food Microbiology**, v. 72, p. 165-168, 2002.

DOURADO, M. E.; DUARTE, R. C.; FERREIRA, L. C.; QUEIROZ, J. W.; ILLA, I.; PEREZPEREZ, G.; GUERRANT, R. L.; JERÔNIMO, S. M. B. Anti-ganglioside antibodies and clinical outcome of patients with Guillain–Barré Syndrome in northeast Brazil. **Acta Neurologica Scandinavica**, Copenhagen, v.108, p.102-108, 2003.

DOYLE, M.P.; ROMAN, D.J. Prevalence and survival of *Campylobacter jejuni* in unpasteurized milk. **Applied Environmental Microbiology**, v.44, n.5, p.1154-1158, 1982.

ENDTZ, H.P.; RUIJS, G.J.; VAN KLINGEREN, B.; JANSEN, W.H.; VAN DER REYDEN, T.; MOUTON, R.P. Quinolone resistance in *Campylobacter* isolates from mans and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.27, n.2, p.199-208, 1997.

ESCOBAR, A.M.U. **Contribuição ao estudo da doença diarreica aguda em crianças com idade inferior a 5 anos e recuperação fecal de *Campylobacter jejuni***, 1993. 194p. Tese Doutorado – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 1993.

EUZÉBY, J.P. **List of prokaryotic names with standing in nomenclature: genus *Campylobacter***. 2010. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/c/campylobacter.html>>. Acesso em: 27 dez. 2012.

FAHEY, T.; MORGAN, D.; GUNNEBURG, C.; ADAK, G.K.; MAJID, F.; KACZMARSKI, E. An outbreak of *Campylobacter jejuni* enteritis associated with failed milk pasteurization. **Journal of Infection**, n. 31, p. 137-143, 1995.

FAO. **Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens: Interpretative Summary**. Microbiological Risk Assessment Series n. 11 FAO/WHO (2011). Disponível em: <[http://www.fao.org/ag/agn/agns/jemra\\_riskassessment\\_campylobacter\\_en.asp](http://www.fao.org/ag/agn/agns/jemra_riskassessment_campylobacter_en.asp)>. Acesso em: jul.2011.

FAO/OMS. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. Joint FAO/WHO **Food Standards Programme Codex Committee on General Principles**. Proposed draft working principles for risk analysis for food safety. 24th Session; 2007 April 2-6; Paris, France. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/codex/ccgp24/gp24\\_03e.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/ccgp24/gp24_03e.pdf)>. Acesso em 22/07/2008.

FDA – US Food and Drug Administration – **Center for Food Safety and Applied Nutrition**. 2011. Disponível em <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5125a2.htm>> Acesso em 17/08/2011.

FERNANDEZ, H. Família Campylobacteriaceae. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**, 3ª Ed., São Paulo: Atheneu, 2002. p. 255-260.

FERNANDEZ, H. Família Campylobacteriaceae. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**, 5ª Ed., São Paulo: Atheneu, 2008. p. 357-362.

FERNANDEZ, H.; PISÓN, V. Isolation of thermotolerant species of *Campylobacter* from commercial chicken livers. **International Journal of Food Microbiology**, v.29, n.1, p.75-80, 1996.

FIGUEIREDO, A.V.A.; MIRANDA, M.S. Análise de Risco aplicada aos Alimentos no Brasil: perspectivas e desafios. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. ONLINE, p. 0109/2008, 2008. Disponível em: <[http://www.abrasco.org.br/cienciaesaudecoletiva/artigos/artigo\\_int.php?id\\_artigo=2012](http://www.abrasco.org.br/cienciaesaudecoletiva/artigos/artigo_int.php?id_artigo=2012)>. Acesso em 27/09/2012.

FONSECA, B.B. **Transmissão vertical de *Campylobacter* sp em sistema de produção avícola**. 2006. Dissertação Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2006.

FORSYTHE, S.J. Doenças de origem alimentar. In: FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed. 2002. Cap.3, p.65-99.

FOSTER, G.; HOLMES, B.; STEINGERWALT, A.G.; LAWSON, P.A. *Campylobacter insulaenigrae* sp nov., isolated from marine mammals. **International Journal Syst Enviromental Microbiology**, v. 54, n. 6, p. 2369-2373, 2004.

FRANCHIN, P.R.; AIDOO, K.E.; BATISTA, C.R.V. sources of poultry meat contamination with thermophilic *Campylobacter* before slaughter. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, n.2, p.157-162, 2005.

FRANCHIN, P.R.; OGLIARI, P.J.; BATISTA, C.R.V. Frequency of termophilic *Campylobacter* in broiler chickens during industrial processing in a Southern Brazil slaughterhouse. **British Poultry Science**, v. 48, n. 2, p. 127-132, 2007.

FRANCO, B.D.G. de M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 182 p.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiología de los alimentos**. 4ª ed., Zaragoza: Acribia, 1993, p. 573-575.

FREITAS, J.A.; NORONHA, G.N. Ocorrência de *Campylobacter* spp. em carne e miúdos de frango expostos ao consumo em Belém, Pará. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.3, p.813-815, 2007.

FSIS - FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE [FSIS/CDC/FDA]. **Sentinel site study**: The establishment and implementation of and active surveillance system for bacterial foodborne diseases in the united States. Report to Congress. Washington, DC, 1997.

GENIGEORGIS, C.A. A importância do *Campylobacter* na avicultura. **Avicultura Industrial**, p.6-12, 1987.

- GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.; ROJAS, S. Campilobacteriose genital: proposta de diagnóstico mais sensível em touros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.56, n.1/2, p.5-7, 1989.
- GEORGSSON, F.; PORKESSON, A.E.; GEIRSDÓTTIR, M.; REIERSEN, J.; STERN, N.J. The influence of freezing and duration of storage on *Campylobacter* and indicator bacteria in broiler carcasses. **Food Microbiology**, v.23, p.677-683, 2006.
- GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, p. 199-247. 2008.
- GHAFFIR, Y.; CHINA, B.; DIERICK, K.; ZUTTER, L.; DAUBE, G. A seven-year survey of *Campylobacter* contamination in meat at different production stages in Belgium. **International Journal of Food Microbiology**, v.116, n.1, p.111-120, 2007.
- GOMES, C.; SANTOS, A.; NETO, A. Incidência de *Campylobacter* na produção avícola perfil de resistência antimicrobiana das estirpes isoladas. **Laboratório Nacional de Investigação Veterinária**, Lisboa. 2009. Disponível em: [http://sigarra.up.pt/icbas/noticias\\_geral.noticias\\_cont?p\\_id=F722059233/Poster2Campylobacter%20INCIDENCIA.pdf](http://sigarra.up.pt/icbas/noticias_geral.noticias_cont?p_id=F722059233/Poster2Campylobacter%20INCIDENCIA.pdf).
- GOMES, F.R.; CURCIO, B.R.; LADEIRA, S.R.L.; FERNANDEZ, H.; MEIRELES, M.C.A. *Campylobacter jejuni* occurrence in chicken fecal samples from small properties in Pelotas, southern of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 3, p.375-378, 2006.
- GOODE, D.; ALLEN, V.M.; BARROW, P.A. Reduction of experimental *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of chicken skin by application of lytic bacteriophages. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.8, p.5032-6, 2003.
- GREGORY, E.; BARHAHART, H.; DRESSEN, D.W.; STERN, N.J. CORN, J.L. Epidemiological study of *Campylobacter* spp in broilers: source, time of colonization, and prevalence. **Avian Disease**, v.41, n. 4, p. 890-898, 1997.
- GUGNANI, H.C. Some emerging food and water born pathogens. **Journal Communicable Disease**, v.31, n.2, p. 65-721, 1999.
- HAGENS, S.; LOESSNER, M.J. Application of bacteriophages for detection and control of foodborne pathogens. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 76, p. 513–519, 2007.
- HANASHIRO, A. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária e nutritiva de bentos comercializados no bairro da Liberdade, São Paulo**. 2002. Dissertação Mestrado – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo. 2002.
- HARGINS, B.; HIGGINS, S.E. Logrando un major control de patogenos. **Revista Carnetec**, v.11, n.6, p.25-27, 2004.

- HARIHARAN, H.; MURPHY, G.A.; KEMPF, I. *Campylobacter jejuni*: public health hazards and potential control methods in poultry – a review. **Veterinary Medicine**, v.49, n.11, p.441-446, 2004.
- HARRISON, W.A.; GRIFFITH, C.J.; TENNANT, D.; PETERS, A.C. Incidence of *Campylobacter* and *Salmonella* isolated from retail chicken and associated packaging in South Wales. **Letters in Applied Microbiology**, v.33, n.6, p.450-454, 2001.
- HASMAN, H.; MEVIUS, D.; VELDMAN, K.; OLESEN, I.; AARESTRUP, F.M.  $\beta$ -lactamases among extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in the Netherlands. **Journal Antimicrobial Chemotherapy**, v.56, p.115-121. 2005
- HAVELAAR, A.H.; NAUTA, M.J.; MANGEN, M.J.J.; KOEIJER, A.G.; BOGAARDT, M.J.; EVERS, E.G.; JACOBS-REITSMA, W.F.; van PELT, W.; WAGENAAR, J.A.; WIT, G.A.; van der ZEE, H. Costs and benefits of controlling *Campylobacter* in the Netherlands-Integrating risk analysis, epidemiology and economics report 250911009/2005. **Campylobacter Risk Management and Assessment (CARMA)**, p. 1-53, 2005.
- HOBBS, B.C.; ROBERTS, D. **Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos**. 2ª Ed, São Paulo: Varela, 1999. p.123-124.
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9ª ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1994, 789p.
- HUANG, J.; YANG, G.; MENG, W.; WU, L.; ZHU, A.; JIAO, X. An electrochemical impedimetric immunosensor for label-free detection of *Campylobacter jejuni* in diarrhea patients' stool based on O-carboxymethylchitosan surface modified Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 25, p. 1204–1211, 2010.
- HUDSON, P.J.; VOGT, R.L.; BRONDUM, J.; PATTON, C.M. Isolation of *Campylobacter jejuni* from milk during an outbreak of Campylobacteriosis, **Journal of Infectious Diseases**, v. 150, n. 5, p.789, 1984.
- HUMPHREY, T.; O'BRIEN, S.; MADSEN, M. Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v.117, n.3, p.237-257, 2007.
- HUSS, H.H.; REILLY, A.; EMBARK, P.K.B. Prevention and control of hazards in seafood. **Food Control**, v.11, p. 149-156. 2000.
- HUSSAIN, I.; MAHMOOD, M.S.; AKHTAR, M.; KHAN, A. Prevalence of *Campylobacter* species in meat, milk and other food commodities in Pakistan. **Food Microbiology**, v.24, p. 219–222, 2007.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**, v. 39, p.1-63, 2011.

JARAMILLO, H.F. **Espécies termofílicas de *Campylobacter*; aspectos bacteriológicos, epidemiológicos e patogênicos**. 1983. 144p. Tese (Doutorado) – Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1983.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª Ed. Porto Alegre: Artmed. 2005. 711p.

JEFFREY, J.S.; TONOOKA, K.H.; LOZANOT, J. Prevalence of *Campylobacter* spp. from skin, crop and intestine of commercial broiler chicken carcasses at processing. **Poultry Science**, v.80, n.9, p.1390-1392. 2001.

JIMÉNEZ, M.; SOLER, P.; VENANZI, J.D.; CANTÉ, P.; MARTINEZ-NAVARRO, F. An outbreak of *Campylobacter jejuni* enteritis in school of Madri, Spain. **Eurosurveillance**, v. 10, cap.4, 2005. Disponível em: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=533>. Acesso em 28/11/2012.

JORDAN, E.T.W.; PATTISON, M. **Poultry Diseases**. 3ª ed. London: WB Saunders, p.101-107, 1996.

JORGENSEN, F.; BAILEY, R.; WILLIAMS, S.; HENDERSON, P.; WAREING, D.R.A.; BOLTON, F.J.; FROST, J.A.; WARD, L.; HUMPHREY, T.J. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. **Journal of Food Protection**, v.76, n.1/2, p. 151-164, Jan. 2002.

KAWATSU, K.; TAGUCHI, M.; YONEKITA, T.; MATSUMOTO, T.; MORIMATSU, F.; KUMEDA, Y. Simple and rapid detection of *Campylobacter* spp. in naturally contaminated chicken-meat samples by combination of a two-step enrichment method with an immunochromatographic assay. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, p. 256–259, 2010.

KEENER, K.M.; BASHOR, M.P.; CURTIS, P.A.; SHELDON, B.W.; KATHARIOU, S. Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. Estados Unidos: **Institute of Food Technologist**, v.3, p.105-116, 2004.

KLEIN, G.; REICH, F.; BECKMANN, L.; ATANASSOVA, V. Quantification of thermophilic *Campylobacter* spp. in broilers during meat processing. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.92, n.3, p.267-273, 2007.

KUANA, S.L. *Campylobacter* na produção e processamento de frangos de corte: prevalência, contagem, fatores de risco e perfil de resistência antimicrobiana. **Acta Scientifica Veterinaria**, v.33, p.93-94, 2005.

KUANA, S.L.; SANTOS, L.R.; RODRIGUES, L.B.; SALLE, C.T.P.; MORAES, H.L.S.; NASCIMENTO, V.P. Ocorrência de *Campylobacter* sp em lotes de frangos de corte e nas carcaças correspondentes. **Ciência Animal Brasileira**, Rio Grande do Sul, v. 9, n. 2, p. 480-486, abr./jun. 2008a.

KUANA, S.L.; SANTOS, L.R.; RODRIGUES, L.B.; BORSOI, A.; MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; NASCIMENTO, V.P. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp isolated from broiler flocks. **Brazilian Journal Microbiological**, vol.39, n.4, p. 738-740. 2008b.

KUMAR, A.; AGARWAL, R.K.; BHILEGAONKAR, K.N.; SHOME, B.R.; BACHHIL, V.N.; Occurrence of *Campylobacter jejuni* in vegetables. **International Journal of Food Microbiology**, n. 67, p.153-155, 2001.

KUROKI, S.; SAÍDA, T.; NUKINA, M.; HARUTA, T.; YOSHIOKA, M.; KOBAYASHI, Y.; NAKANISHI, H. *Campylobacter jejuni* strains from patients with Guillain-Barré Syndrome belong mostly to Penner serogroup 19 and contain beta-N-acetylglucosamine residues. **Annals of Neurology**, Boston, US, v.33, p.243-247, 1993.

LABORCLIN. Manual para Antibiograma. Trabalho elaborado pela equipe do Setor Técnico da Laborclin destinado à orientação para execução do antibiograma pela técnica de difusão em disco de Kirby & Bauer. **Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda**. 2011. Disponível em: <<http://www.slideshare.net/anaclaurod/manual-do-antibiograma>>. Acesso em 28/02/2013.

LAKE, R.; HUDSON, A.; CRESSEY, P.; GILBERT, S. Risk Profile: *Campylobacter jejuni* / *coli* in poultry (whole and pieces). ESR, 2007. Disponível em: <[http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Risk\\_Profile\\_Campylobacter\\_Jejuni-Science\\_Research.pdf](http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Risk_Profile_Campylobacter_Jejuni-Science_Research.pdf)>. Acesso em 28/07/2012.

LARKIN, C.; POPPE, C.; MCNAB, B.; MCEWEN, B.; MAHDI, A. & ODUMERU, J. Antibiotic resistance of *Salmonella* isolated from hog, beef, and chicken carcass samples from provincially inspected abattoirs in Ontario. **Journal of Food Protection**. v.67, p.448-55. 2004.

LAURIA-FILGUEIRAS, A.L.; HOFER, E. Diversity of *Campylobacter* isolates from three activated sludge systems. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.93, n.3, p.295-298, 1998.

LEE, L.H.; BURG, E.; BAQAR, S. Evaluation of a truncated recombinant flagellin subunit vaccine against *Campylobacter jejuni*. **Infection Immunology**, v.67; p.5799-5805. 1999.

LEE, M.D.; NEWELL, D.G. *Campylobacter* in poultry: filling an ecological niche. **Avian diseases**, v. 50, p. 1-9, 2006.

LEITÃO, M.F.F.; HAGLER, L.C.S.M.; HAGLER, A.L.; MENEZES, T.J.B. **Tratado de Microbiologia**, v.1, São Paulo: Editora Manole, 1988.

LEVIN, R.E. *Campylobacter jejuni*: A review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. **Food Biotechnology**, v.21, n 4, p.271-347, 2007.

LIMA, A. Pesquisas sobre bactéria que é uma das principais causadoras da gastroenterite. **Revista Minas Faz Ciência**, n. 37. 2009. Disponível em: <<http://revista.fapemig.br/materia.php?id=580>>. Acesso em 28/07/2011.

LINDBLAD, M.; LINDMACK, H.; THISTED LAMBERTZ, S.; LINDQVIST, R. microbiological baseline study of broiler chickens at Swedish slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v.69, n.12, p.2875-2882, 2006.

LOC CARRILO, C.; ATTERBURY, R. J.; EL-SHIBINY, A.; CONNERTON, P. L.; DILLON, E. ; SCOTT, A.; CONNERTON, I.F. Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.11, p.6554-6563, 2005.

LOPES, B.; PINHO, J.; PEREIRA, J.; GASPAR, L.; SILVA, P.; DI FILIPO, R. Antibióticos, probióticos e promotores de crescimento na criação de aves. UFB/EMV. 73p. 2006.

LOPES, G.V. **Campylobacter spp. no abate e varejo: ocorrência em carcaças de bovinos para exportação e em cortes refrigerados de aves e bovinos**. 2009. 130f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MACHADO, R.A.; TOSIN, I.; LEITÃO, M.F.F. Occurrence of *Salmonella* sp. and *Campylobacter* sp. in chickens during industrial processing. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.25, p.239-244, 1994.

MADALOZZO, F.R.; KOETZ, P.R.; SANTOS, L.R.; RODRIGUES, L.B. Campilobacteriose em humanos e o controle de qualidade em produtos de origem aviária. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 153; p. 59-63, 2007a.

MADALOZZO, F.R.; SANTOS, L.R.S.; RODRIGUES, L.B.; DICKEL, E.L. Controle de *Campylobacter* sp durante o processamento tecnológico de frangos de corte. **Revista Higiene Alimentar**, v.21, n.157, p. 45-51, dez. 2007b.

MARINI, M.A.S.M.; MACEDO, R.E.F.; BIASI, R. Genotipagem e suscetibilidade a antibióticos de cepas de *Campylobacter* isoladas de cortes cárneos suínos. **XVII Seminário de IC**, PUCPR – Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Curitiba, 2009.

MAZICK, A.; ETHELBERG, S.; MOLLER, E.N.; LISBY, M. An outbreak of *Campylobacter jejuni* associated with consumption of chicken, Copenhagen, 2005. **Eurosurveillance**, v.11, n.5, 2006. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=622>>. Acesso em 28/02/2013.

MEAD, G.C. Microbiological quality of poultry of poultry meat: a review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.6, n.3, p.135-142, 2004.

MEAD, G.C.; HUDSON, W.R.; HINTON, M.H. Effects of changes in processing to improve hygiene control on contamination of poultry carcasses with *Campylobacter*. **Epidemiology Infection**, v. 115, p.495-500, 1995.

MEDEIROS, M.I.C.; NEME, S.N.; SILVA, P.; CAPUANO, D.M.; ERRERA, M.C.; FERNANDEZ, S.A.; VALLE, G.R.; AVILA, F.A. Etiology of acute diarrhea among children in Ribeirão Preto-SP, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.43, n.1, p.21-24, 2001.

MEDEIROS, V.M. **Isolamento e Identificação Fenotípica e Molecular das Espécies Termofílicas de *Campylobacter* a partir de Frango Resfriado**. Dissertação (Mestrado). 2011. 94p. Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2011.

MELDRUM, R.J.; WILSON, I.G. *Salmonella* and *Campylobacter* in United Kingdom retail raw chicken in 2005. **Journal of Food Protection**, v.70, n.8, p.1937-1939, 2007.

MOELLERING Jr, R. C. - Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. **Clinical Infections Diseases**, 14: 1173-1178, 1992.

MONROE, S.; POLK, R. Antimicrobial use and bacterial resistance. **Current Opinion in Microbiology**, v.3, p.496-501, 2000.

MOURA, H.M. **Isolamento e análise de resistência a antimicrobianos de cepas de *Campylobacter jejuni* em amostras de carnes de aves resfriadas comercializadas no Distrito Federal**. Dissertação (Mestrado). 2010. 63p. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. 2010.

MYZEWSKI, M.A.; STERN, N.J. Cecal colonization by *Campylobacter jejuni* elicits limited immunoglobulin response in chicks. **Avian Diseases**, v. 34, p.588-594, 1990.

NACHAMKIN, I. *Campylobacter jejuni*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R. **Food microbiology: fundamental and frontiers**. 3.ed. Washington: ASM Press, 2007. P.237-248.

NACMCF. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. *Campylobacter* in Broiler Production and Process. **Journal of Food Protection**, v.57, 1994.

NCCLS. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada – Sexta Edição NCCLS Documento M7-A6. V. 23, n° 2, 2003.

NERVINO, C.V.; HIROOKA, E.Y. Fatores contemporâneos que afetam a incidência de patógenos causadores de doenças de origem alimentar. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v.18, n.2, p.197-206, 1997.

NICHOLS, G. Fly transmission of *Campylobacter*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 3, p. 361-364, 2005.

NIELSEN, E.M.; ENGBERG, J.; FUSSING, V.; PETERSEN, L.; BROGREN, C.H.; ON, S.L. Evaluation of phenotypic and genotypic methods for subtyping *Campylobacter jejuni* isolates from humans, poultry and cattle. **Journal Clinical Microbiology**, v. 38, n. 10, p. 3800-3810, 2000.

NUNES, F. Enfriar las canales es cuidar la calidad y el rendimiento. **Revista Industria Avícola**, v.52, n.2, p.10-16, 2005.

OBANA, M.; SAGARA, H.; AOKY, T.; KIM, R.; TAKYZAWA, Y.; TSUNODA, T.; IRIMAJIRI, S.; YAMASHITA, K. The current status of infectious enteritis in Japan: reports of the "Research Group for Infectious Enteric Diseases, Japan" in the last 5 years (1996-2000). **Kansenshog Zasshi**, v. 76, p. 355-368, 2002.

OLIVEIRA, A.V.B.; SILVA, R.A.; ARAÚJO, A.S.; BRANDÃO, P.A.; SILVA, F.B. Padrões microbiológicos da carne de frango de corte – Referencial teórico. **Revista Verde**, v. 6, n.3, p. 01-16. Jul/set, 2011. Disponível em: <<http://revista.gvaa.com.br>>. Acesso em: 27/07/2012.

OLIVEIRA, K.A.M.; MENDONÇA, R.C.S.; ANDRADE, N.J.; ALBINO, L.F.T. Ocorrência de *Campylobacter* no ambiente de criação de frangos de corte. **Revista Ceres**, v. 55, n. 6, p. 556-561, 2008.

OLIVEIRA, K.A.M. **Prevalência de *Campylobacter* spp. e *Enterococcus* spp. no ambiente de criação de frango de corte**. Tese (Doutorado). 2006. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2006.

OMS/FAO (2011): WHO Global strategy for containment of antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS/2001-2. p.11-92. 2011.

OMS/FAO (2000): Global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food. WHO/CDS/ CSR. 4:1-21. 2000.

OMS/FAO (2001): WHO Global strategy for containment of antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS/2001-2. p.11-92. 2001.

OMS. Organização Mundial da Saúde. *Food Safety and Foodborne diseases*. 2012. Disponível em: <<http://www.wpro.who.int/mediacentre/releases/2012/20121127/en/index.html>>. Acesso em 13/12/2012.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Programmes and projects. **Food safety. Microbiological risks in food**. 2008. Disponível em: <[http://www.who.int/foodborne\\_disease/en/index.html](http://www.who.int/foodborne_disease/en/index.html)>. Acesso em: 27/09/2012.

ON, S.L.W. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns, **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, p.1S-15S, 2001.

ONO, K.; YAMAMOTO, K. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. **International Journal of Food Microbiology**, v. 47, n.3, p.211-219, 1999.

OPLUSTIL, C.P.; ZOCCOLI, C.M.; TOBOUTI, N.R.; SINTO, S.I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**. 3a. Ed., Sarvier: São Paulo, 2010. 544p.

ORTEGA, T. *Campylobacter* y su control: esfuerzo integrado en granja y matadero. **Revista Carnetec**, v.12, n.1, p.49-51, 2005.

OYARZABAL, O.A.; HAWK, C.; BILGILI, S.F.; WARF, C.C.; KEMP, G.K. Effects of postchill application of acidified sodium chlorite to control *Campylobacter* and *E. coli* on commercial broiler carcass. **Journal of Food Protection**, v.67, n.10, p.2288-2291, 2004

PALERMO-NETO, J.; TITZE-DE-ALMEIDA, R. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**, 3.ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2002.

PALMA, D.; OLIVA, C.A.; TADDEI, J.A.; FAGUNDES-NETO, U. Acute diarrhea: stoolwater loss in hospitalized infants and its correlation with etiologic agent and lactose content in the diet. **Arquivo de Gastroenterologia**, v. 34, p.186-195, 1997.

PARK, C.E.; SANDERS, G.W. Occurrence of thermotolerant campylobacters in fresh vegetables sold at farmers outdoor markets and supermarkets. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.38, n.4, p.313-316, 1992.

PARK, S.F. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. **International Journal Food Microbiology**, v. 74, n. 3, p. 177-188, 2002.

PEREZ-PEREZ, G.I.; BLASER, M.J. *Campylobacter* and *Helicobacter*. In: BARON, S. **Medicine Microbiological**. New York: Churchill Livingstone, p.337-349, 1991.

PETTON, J.N.; ROSE, N.; DENIS, M.; SALVAT, G. Risk factors for *Campylobacter* spp. Contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period, **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 50, p.89-100, 2001.

PEZZOTTI, G.; SERAFIN, A.; LUZZI, I.; MIONI, R.; MILAN, M.; PERIN, R. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in Northeastern Italy. **International Journal of Food Microbiology**, v.82, n.3, p.281-287, 2003.

PINHEIRO, E.S. **Campilobacteriose intestinal**. 2008. Disponível em: <[http://www.infogibos.com/Artigos/2008\\_1/Campilobacteriose/index.htm](http://www.infogibos.com/Artigos/2008_1/Campilobacteriose/index.htm) >. Acesso em 23/01/2013.

PINHEIRO, E.S. **Caracterização genética de estirpes de *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* isoladas de diferentes espécies animais**. 2003. 69p. Tese Doutorado – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2003.

POINTON, A.; SEXTON, M.; DOWSETT, P.; SAPTURA, T.; KIEMEIER, A.; LORIMER, M.; HOLDS, G.; ARNOLD, G.; DAVOS, D.; COMBS, B.; FABIANNON, S.; RAVEN, G.; MCKENZIE, H.; CHAPMAN, A.; SUMMER, J. A baseline survey of the microbiological quality of chicken portions and carcasses at retail in two Australian states (2005 to 2006). **Journal of Food Protection**, v. 70, p.1123-1134, 2008.

RANTSIOU, K.; LAMBERTI, C.; COCOLIN, L. Survey of *Campylobacter jejuni* in retail chicken meat products by application of a quantitative PCR protocol. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p.75-79, 2010.

REITER, M.G.R.; BUENO, C.M.; LÓPEZ, C.; JORDANO, R. Occurrence of *Campylobacter* and *Listeria monocytogenes* in a poultry processing plant. **Journal of Food Protection**, v.68, n.9, p.1903-6, 2005.

RIODAN, T.; HUMPHREY, T.J.; FOWLES, A. A point source outbreak of *Campylobacter* infection related to BIRD-pecked milk. **Epidemiology and Infection**, v.110, n.2, p.261-265, 1993.

ROCHA, M.S.G.; BRUCKI, S.M.D.; CARVALHO, A.A.S.; LIMA, U.W.P. Epidemiologic features of Guillain-Barré syndrome in São Paulo, Brazil. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v.62, n.1, 2004.

ROGOL, M.; SECHTER, I.; GREENBERG, Z.; MIZRACHI, R.; SHTARK, Y.; ALFI, S.O. Contamination of chicken meat and environment with various serogroups of *Campylobacter jejuni* / *coli*. **International Journal of Food Microbiology**, v.1, n.5, p.271-276, 1985.

ROSENQUIST, H.; BENGTSSON, A.; HANSEN, T.B. A collaborative study on a Nordic standard protocol for detection and enumeration of thermotolerant *Campylobacter* in food. **NMKL 119**, 3ª Edição, 2007.

ROZYNEK, E.; DZIERZANOWSKA-FRANGAT, K.; JOZWIAK, P.; POPOWSKI, J.; KORSAK, D.; DZIERZANOWSKA, D. Prevalence of potential virulence markers in Polish *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. **Journal of Medical Microbiology**, v.54, p.615-619, 2005.

SAKUMA, H.; FRANCO, B.D.G.M.; FERNANDEZ, H. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in retail raw chicken meat and giblets in São Paulo, Brazil. **Revista de Microbiologia**, v.23, p.13-16, 1992.

SALLAM, K.I. Prevalence of *Campylobacter* in chicken and chicken by-products retailed in Sapporo area, Hokkaido, Japan. **Food Control**, v.8, n.9, p.1113-1120, 2007.

SANTOS, R.M. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de peixes comercializados em Mercados Municipais da cidade de São Paulo, SP.** 2006. Dissertação Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo. 2006.

SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R.M.; ANGULO, F.J.; TAUXE, R.V.; WIDDOWSON, M.A.; ROY, S.L.; JONES, J.L.; GRIFFIN, P.M. Foodborne illness acquired in the United States – major pathogens. **Emerging Infections Diseases**, v.17, n. 11. 2011. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/eid/content/17/1/7.htm#cit/>>. Acesso em: 18 jan. 2011.

SCARCELLI, E.; GENOVEZ, M.E.; CARDOSO, M.V.; SOUZA, M.C.A.M.; GRASSO, L.M.P.S.; SOUZA, C.A.I.; TORRES, A.P. Avaliação do potencial de disseminação de *Campylobacter* spp. por diferentes espécies animais. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 65, n.1, p.55-61, 1998.

SCARCELLI, E.; MIYASHIRO, S.; CAMPOS, F.R.; CASTRO, A.G.M.; TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.S.P. Detecção de *Campylobacter jejuni* em carcaças e cortes de frangos pela Reação da Polimerase em Cadeia. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.129, p.71-76, 2005a.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R. M.; HARAKAVA, R.; MIYASHIRO, S.; CAMPOS FERNANDES, F.M.; CAMPOS, F.R.; FRANCISCO, W.; GENOVEZ, M.E.; RICHTZENHAIN, L.J. Molecular subtyping of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* strains isolated from different animal species in the state of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.36, n.4, p.378-382, 2005b.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R.M. Patógenos emergentes relacionados à contaminação de alimentos de origem animal. **Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.123-127, jul./dez., 2002.

SCHERER, K.; BARTELT, E.; SOMMERFELD, C.; HILDEBRANDT, G. Quantification of *Campylobacter* on the surface and in the muscle of chicken legs at retail. **Journal of Food Protection**, v.69, n.4, p.757-761, 2006.

SCHROETER, A.; HOOG, B.; HELMUTH, R. Resistance of *Salmonella* Isolates in Germany. **Journal of Veterinary Medicine**, v.51, p.389–392.2004.

SCOTT, D.A. Vaccines against *Campylobacter jejuni*. **Journal Infections Diseases**, v.176, n.2, p.183-188. 1997.

SHOENI, J.L.; DOYLE, M.P. Reduction of *Campylobacter jejuni* colonization of chicks by cecum colonizing bacteria producing anti-*C. jejuni* metabolites. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 2, p. 664-670, 1992.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. *Campylobacter*, Cap. 15. In: **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 4ª Ed. Varela: São Paulo. 2010. 536p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de análises microbiológicas de alimentos**. 3ª Ed. São Paulo: Varela, 2007. 536p.

SKIRROW, M.B. Epidemiology of *Campylobacter enteritis*. **International Journal of Food Microbiology**, v.12, n.1, p.9-16, 1991.

SLUTSKER, L.; RIES, A.A.; GREENE, K.D.; WELLS, J.G.; HUTWAGNER, L.; GRIFFIN, P.M. *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in the United States: clinical and epidemiological features. **Annuary International Medicine**, v. 126, p. 505-513, 1997.

SOLOMON, E.B.; HOOVER, D.G. *Campylobacter jejuni*: a bacterial paradox, **Journal of Food Safety**, v.19, p.121–136, 1999.

SON, I.; ENGLER, M.D.; BERRANG, M.E.; FEDORKA-CRAY, P.J.; HARRISON, M.A. Prevalence of *Arcobacter* and *Campylobacter* on broiler carcasses during processing. **International Journal of Food Microbiology**. V. 113, p. 16–22, 2007.

STEINHAUSEROVA, I.; CESKOVA, J.; NEBOLA, M. PCR / Restriction fragment length polymorphism (RFLP) typing of human and poultry *Campylobacter jejuni* strains. **Letters and Applied Microbiology**, v. 34, n.5, p. 354-358, 2002.

STERN, N.J.; HERNANDEZ, M.P.; BLANKENSHIP, L.; DEIBEL, K.E.; DOORES, S.; DOYLE, M.P.; NG, H.; PIERSON, M.D.; SOFOS, J.N.; SVEUM, W.H.; WESTHOFF, D.C. Prevalence and distribution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in retail meats. **Journal of Food Protection**, v. 48, n. 7, p. 595-599, 1985.

STERN, N.J.; LINE, J.E.; CHEN, H.C. *Campylobacter* in: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, Washington, DC: APHA, 2001. Chapter 31, p. 301-310.

STERN, N.J.; MEINERSMANN, R.J.; COX, N.A.; BAILEY, J.S.; BLANKENSHIP, L.C. Influence of host lineage on cecal colonization by *Campylobacter jejuni* in chickens. **Avian Diseases**, v.34, n.3, p.602-606, 1990.

STUART, T.L.; SANDHU, J.; STIRLING, R. Na investigation points towards contaminated mud as the source of *Campylobacter jejuni* outbreak associated with a mountain bike race; British Columbia, Canada, June-July 2007. Presented at: **The International Conference on Emerging Infectious Diseases 2008**; March 16-19, 2008, Atlanta.

SUO, B.; HE, Y.; PAOLI, G.; GEHRING, A.; TU, S.; SHI, X. Development of an oligonucleotide-based microarray to detect multiple foodborne pathogens. **Molecular and Cellular Probes**, v. 24, p. 77–86, 2010.

TEIXEIRA, L.M.; FACKLAM, R.R. *Enterococcus*. In: **Manual of Clinical Microbiology**. Ed. MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; JORGENSEN, J.H.; PFALLER, M.A.; YOLKEN, R.H. 8th edition. ASM Press, Washington, D.C., 2003. p. 623-635.

TITZE-DE-ALMEIDA, R.; PALERMO-NETO, J. Uso de antimicrobianos em avicultura e o desenvolvimento de resistência bacteriana. In: PALERMO-NETO, J.; SPINOSA, S.L.; GÓRNIK, S.L. **Farmacologia Aplicada à Avicultura**. 1ª Ed. Roca editora, São Paulo, p. 161- 173, 2005.

TOSIN, I.; MACHADO, R.A. Occurrence of *Campylobacter* spp among food handlers in hospital kitchens in urban areas of the southern region of Brazil. **Revista da Saúde Pública**, São Paulo, v.29, p.472-477, 1995.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTEZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**, 3ª Ed., Atheneu, p.29-31, 2002.

UBABEF. Associação Brasileira dos Produtores e exportadores de Frango. **Plano Nacional de Prevenção da Influenza Aviária e de Controle e Prevenção da Doença de Newcastle**. 2012. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/Legislacoes/IN172006.pdf>>. Acesso em 31/12/2012.

UBABEF. Associação Brasileira dos Produtores e exportadores de Frango. **Estatísticas 2010**. 2010. Disponível em: <[http://www.abef.com.br/noticias\\_portal/exibenoticia.php?notcodigo=2389](http://www.abef.com.br/noticias_portal/exibenoticia.php?notcodigo=2389)>. Acesso em 19/09/2011.

USDA. United States Department of Agriculture. Diretiva 6255.1: Use of Chlorine dioxide in poultry chill water. 1996. Disponível em: <[http://www.fsis.usda.gov/OPP\\_DE/rdad/FSISDirectives/6355-1.pdf](http://www.fsis.usda.gov/OPP_DE/rdad/FSISDirectives/6355-1.pdf)>. Acesso em 28/07/2012.

UYTTENDAELE, M.; DE TROY, P.; DEBEVERE, J. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. **Journal of Food Protection**, v.62, n.7, p.735-749, 1999.

VAN DE GIESSEN, A.W.; TILBURG, J.J.H.C.; RITMEESTER, W.S.; VAN DER PLAS, J. Reduction of *Campylobacter* infections in broiler flocks by applications of hygiene measures. **Epidemiology and Infection**, v.121, p.57-66, 1998.

VANDAMME, P.; DEL LEY, J. Proposal for a New Family, Campylobacteraceae. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 41, n. 3, p. 451-455, 1991.

VARGAS, R.B. Surtos de doenças de transmissão alimentar: a importância da notificação. **Boletim Epidemiológico**. Porto Alegre, RS, v. 5, n. 16, p. 3, 2002.

VARMA, J.K.; MOLBAK, K.; BARRETT, T.J.; BEEBE, J.L.; JONES, T.F.; RABATSKY-HER, T.; SMITH, K.E.; VUGIA, D.J.; CHANG, H.G.; ANGULO, F.J. Antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella* is associated with excess bloodstream infections and hospitalizations. **Journal Infections Diseases**, v. 191, p. 554-61. 2005.

VASHIN, I.T.; STOYACHEV, T.T. Incidence and microbial diversity of *Campylobacter* spp. isolates during the slaughterhouse processing of poultry and critical control points of the process. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v.7, n.3, p.173-180, 2004.

VAZ, C.S.L. Anais / I **Workshop de Diagnóstico Microbiológico de *Campylobacter* Aplicado à Avicultura**. Editora - Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2012. 42 p.

VAZ, C.S.L. *Campylobacter* na segurança dos alimentos e na avicultura. **Estudos da Embrapa**, 2008. Disponível em: <[http://www.aviculturaindustrial.com.br/PortalGessulli/AppFile/Material/AI\\_0308Embrapa.pdf](http://www.aviculturaindustrial.com.br/PortalGessulli/AppFile/Material/AI_0308Embrapa.pdf)>. Acesso em 26/07/2012.

VENTURINI, K.S.; SARCIELLI, M.F.; SILVA, L.C. Características da Carne de Frango. **Boletim Técnico** - PIE-UFES:01307 - Editado: 18/08/2007.

WALLER, D.F.; OGATA, S.A. Quantitative immunocapture PCR assay for detection of *Campylobacter jejuni* in foods. **Applied Environmental Microbiology**, v.66, n.9, p.115-118, 2000.

WALSH, C. Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. **Nature**, v. 406, pp. 775-781, 2000.

WEDDERKOPP, A.; RATTENBORG, E.; MADSEN, M. National surveillance of *Campylobacter* in broilers at slaughter in Denmark in 1998. **Avian Diseases**, v.44, n.4, p.993-9, 2000.

WEMPE, J.M.; GENIGEORGIS, C.A.; FARVER, T.B.; YUSUFU, H.I. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chicken processing plants. **Applied Environmental Microbiology**, v.45, n.2, p.355-359, 1983.

WHITE, D.G., FEDORKA-CRAY, P.; CHILLER, T.C. The National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS). **NMC Annual Meeting Proceedings**. P. 56-60. 2006.

WHO. World Health Organization. **The increasing incidence of human campylobacteriosis**. Report and proceedings of a WHO consultation of experts. Copenhagen, Denmark, 2001.

WHYTE, P.; MCGILL, K.; COLLINS, J.D. An assessment of steam pasteurization and hot water immersion treatments for the microbiological decontamination of broiler carcass. **Food Microbiology Magazine**, v.20, n.1, p. 111-117, 2003.

WHYTE, R.; HUDSON, J.A.; GRAHAM, C. *Campylobacter* in chicken livers and their destruction by pan frying. **Letters and Applied Microbiology**, v. 43, n.6, p.591-595, 2006.

WISESSOMBAT, S.; KITTINIYOM, K.; SRIMANOTE, P.; WONGLUMSOM, W.; VORAVUTHIKUNCHAI, S.P. Enhancement of viable *Campylobacter* detection by chemotactic stimuli. **Journal of Microbiological Methods**, v.82, p. 170–176, 2010.

WOO, P.C.; LEUNG, K.W.; TSOI, H.W.; WONG, S.S.Y.; TENG, J.L.L.; YUEN, K.Y. Thermotolerant *Campylobacter fetus* bacteraemia, indentified by 16S ribosomal RNA gene sequencing an emerging pathogen in immunocompromised patients. **Journal Medical of Microbiology**, v. 51, p. 740-746, 2002.

YOGASUNDRAM, K.; SHANE, S.M.; GRODNER, R.M.; LAMBREMONT, E.N.; SMITH, R.E. Decontamination of *Campylobacter jejuni* on chicken drumsticks using chemical and radiation. **Veterinary Research Community**, v.11, n.1, p.31-40, 1987.

ZHANG, G.; MA, L.; DOYLE, M.P. Potential competitive exclusion bacteria from poultry inhibitory to *Campylobacter jejuni* and *Salmonella*. **Journal of Food Protection**, v.70, n.4, p.867-873, 2007.

ZIPRIN, R.I.; YOUNG, C.R.; STANKER, L.H.; HUME, M.E.; KONKEL, M.E. The absence of fecal colonization of chicks by a mutant of *Campylobacter jejuni* not expressing bacterial fibronectina-binding protein. **Avian Disease**, v.43, p.586-589, 1999.

ZOOTECNIA BRASIL. Agronegócios: Abef informa alta de 21 % nas exportações brasileiras de frango. 2008. Disponível em: <<http://www.zootecniabrasil.com.br/sistema/modules/news/article.php?storyid=1034>>. Acesso em 17/08/2011.

## CAPÍTULO II

### OCORRÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS DE *Campylobacter jejuni* DE CARÇAÇAS DE FRANGO ABATIDAS EM MINAS GERAIS

#### 1. INTRODUÇÃO

As doenças de origem alimentar (DOA) preocupam os agentes de saúde pública no mundo todo. Surtos de DOA ocorrem diariamente em todos os países. Entretanto, como a maior parte destes casos não é relatada, a verdadeira dimensão do problema é desconhecida (OMS, 2009). Alimentos de origem animal podem ser fontes de transmissão de muitos micro-organismos responsáveis pelas DOA, o que os colocam entre os que mais preocupam os serviços de saúde pública.

Associado ao seu alto valor biológico, pH, atividade de água e seu potencial redox, a carne de frango constitui um substrato para a multiplicação de muitos micro-organismos. Assim, as diversas operações que a carne é submetida, desde o abate das aves até a sua comercialização, podem comprometer a qualidade e a inocuidade do produto final, caso não sejam seguidas as Boas Práticas de Fabricação (PARDI et al., 2001a).

Vários micro-organismos patogênicos já foram relatados como agentes causadores de doenças associadas ao consumo de carne de frango e derivados, destacando-se *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga e *Campylobacter* spp. (ICMSF, 2005).

Causadores de enterite no homem, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* têm um significado especial, pois juntos, compreendem mais de 95 % das infecções humanas. Atribui-se como via de transmissão para o ser humano a ingestão de carnes de aves cruas ou mal cozidas, leite

não pasteurizado, consumo de água e alimentos de origem animal e vegetal contaminados e o contato direto com animais portadores (KUMAR et al., 2001; PARK, 2002; SCARCELLI et al., 2005a; CARVALHO, 2009; COSTA, 2012).

Sua presença em lotes de frangos é bastante variável, com taxas de positividade variáveis entre lotes abatidos e pontos ao longo da linha de abate, como por exemplo, a depenadeira e o tanque de resfriamento, que atuam como importante fator de contaminação de carcaças negativas para este agente (KUANA, 2008; PERDONCINI, 2012).

No Brasil, também tem sido observada a presença de *C. jejuni* e *C. coli* em amostras de alimentos (CASTRO et al., 1997; CARVALHO et al., 2002; FRANCHIN et al., 2005; SCARCELLI et al., 2005a e 2005b; FONSECA, 2006; GOMES et al., 2006; OLIVEIRA, 2006; SANTOS, 2006; CHAVES, 2007; FRANCHIN et al., 2007; KUANA et al., 2008; CARVALHO, 2009; LOPES, 2009; MOURA, 2010; MEDEIROS, 2011; COSTA, 2012) e em indivíduos assintomáticos, o que evidencia a existência de portadores assintomáticos desses micro-organismos (MADALOZZO et al., 2007a; COSTA, 2012).

A produção e o consumo de carne de aves tem aumentado consideravelmente, uma vez que esta fonte proteica tornou-se a mais econômica entre as proteínas de origem animal. O Brasil apresenta um consumo per capita de 47,5 kg/habitante/ano, o que em 1989 era 10 kg/habitante/ano. A produção avícola brasileira representa 55 % da produção da América Latina, sendo responsável anualmente por mais de 13 milhões de toneladas de carne de frango, e ocupa o 3º lugar no *ranking* mundial, sendo os Estados Unidos os maiores produtores, com o volume total de 16,6 milhões de toneladas, seguido pela China, com 13,3 milhões de toneladas (UBABEF, 2012).

O Brasil é o maior exportador deste produto. Segundo a União Brasileira de Avicultura / Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (UBABEF), as exportações de carne de frango totalizaram, no ano de 2011, 3,8 milhões de toneladas. A receita cambial gerada foi de US\$ 6,7 bilhões, com um incremento de 35 % em comparação com o ano anterior. Os Estados Unidos da América ocupam o segundo lugar

no *ranking*, totalizando 3,2 milhões de toneladas exportadas (UBABEF, 2012).

Em função das exigências crescentes do mercado internacional da carne de frango, o monitoramento e o controle da contaminação das carcaças com *Campylobacter jejuni* são preocupações em todo mundo (SCARCELLI et al., 2005a). Embora o Brasil esteja entre os maiores produtores e ocupe posição de destaque no panorama mundial, dados sobre a incidência de *Campylobacter* em aves no Brasil ainda são limitados (CARVALHO, 2009; UBABEF, 2012).

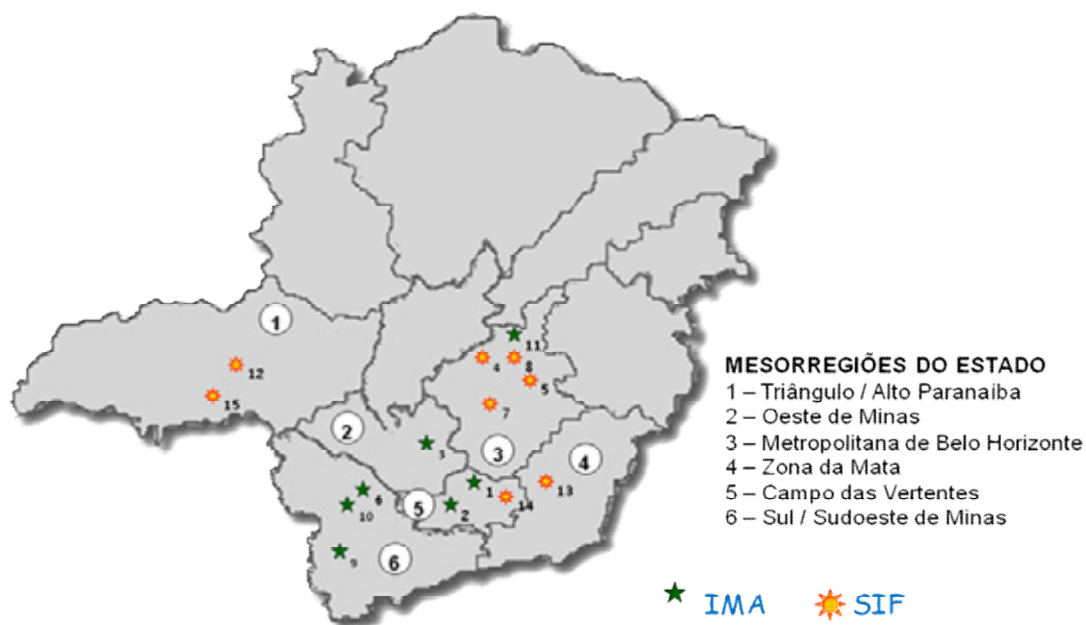
Pelo exposto, o objetivo do presente estudo foi verificar a ocorrência de *C. jejuni* em carcaças de frango provenientes de abatedouros de Minas Gerais, e avaliar o perfil de resistência antimicrobiana dos isolados obtidos; avaliar a qualidade da água utilizada nos tanques de resfriamento dos abatedouros; isolar, identificar e avaliar a resistência a antimicrobianos das espécies de contaminantes entéricos, e obter informações sobre as granjas, abatedouros e processos envolvidos no abate de frango.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análises Microbiológicas de Patógenos de Origem Alimentar e Hídrica do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), e no Laboratório de Genética Molecular e de Micro-organismos do Departamento de Microbiologia, ambos da Universidade Federal de Viçosa – MG.

### 2.1. Obtenção das amostras

Foram coletadas amostras de 15 abatedouros, representando 44 % (15/34) do total de estabelecimentos de abate de aves em Minas Gerais, selecionados aleatoriamente por sorteio. Destes, oito abatedouros eram fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal – SIF, e os outros sete são inspecionados pelo Instituto Mineiro de Agropecuária – IMA. Na Figura 4 ilustra-se a distribuição destes estabelecimentos por Mesorregiões do Estado de Minas Gerais (MINAS ON LINE, 2010).



**Figura 4.** Distribuição geográfica dos abatedouros de frango fornecedores das amostras avaliadas na pesquisa, considerando as Mesorregiões do Estado de Minas Gerais e o tipo de Inspeção dos estabelecimentos.

Foram realizadas duas coletas de amostras em cada um dos estabelecimentos, intervaladas de seis meses (janeiro/fevereiro e agosto/setembro de 2012). Cada unidade amostral continha 5 carcaças de frangos inteiros e crus, coletadas imediatamente após o abate, logo após a embalagem e antes do congelamento, portanto, foram avaliadas, 10 carcaças de cada estabelecimento.

As amostras foram armazenadas, individualmente, em sacolas plásticas esterilizadas, pesadas e mantidas sob refrigeração monitorada a  $6 \pm 2$  °C, em recipiente isotérmico contendo gelo reciclável, transportadas até o laboratório. As análises foram realizadas com o máximo de 24 h após a coleta.

Durante a segunda coleta de amostras foi aplicado um questionário, para obter dados sobre os estabelecimentos e sobre os lotes/granjas de origem das carcaças (Apêndice A).

Em cada estabelecimento também coletou-se amostras de água na saída do sistema de resfriamento (pré-*chiller* e *chiller*), e de abastecimento da unidade. Foram coletados 500 mL de água em frascos esterilizados contendo 0,5 mL de solução de Tiosulfato de Sódio 10 % (p/v), mantidos em refrigeração monitorada a  $6 \pm 2$  °C, em recipiente isotérmico. As amostras foram analisadas com no máximo 24 h após a coleta.

## **2.2. Detecção, isolamento e quantificação do *Campylobacter jejuni* em carcaças de frango**

Foram realizados testes laboratoriais piloto para definição da melhor metodologia a ser empregada durante a pesquisa para detecção, isolamento e quantificação do *Campylobacter jejuni* em amostras de carne de frango. Isto foi necessário em razão da grande dificuldade de se recuperar a atividade das células de *Campylobacter* nas amostras avaliadas pelos métodos recomendados como referência pela *International Organization for Standardization* (ISO 10272-1 e ISO 10272-2, 2006).

Empregou-se a detecção e enumeração pela metodologia de contagem do Número Mais Provável (NMP), de acordo com recomendações

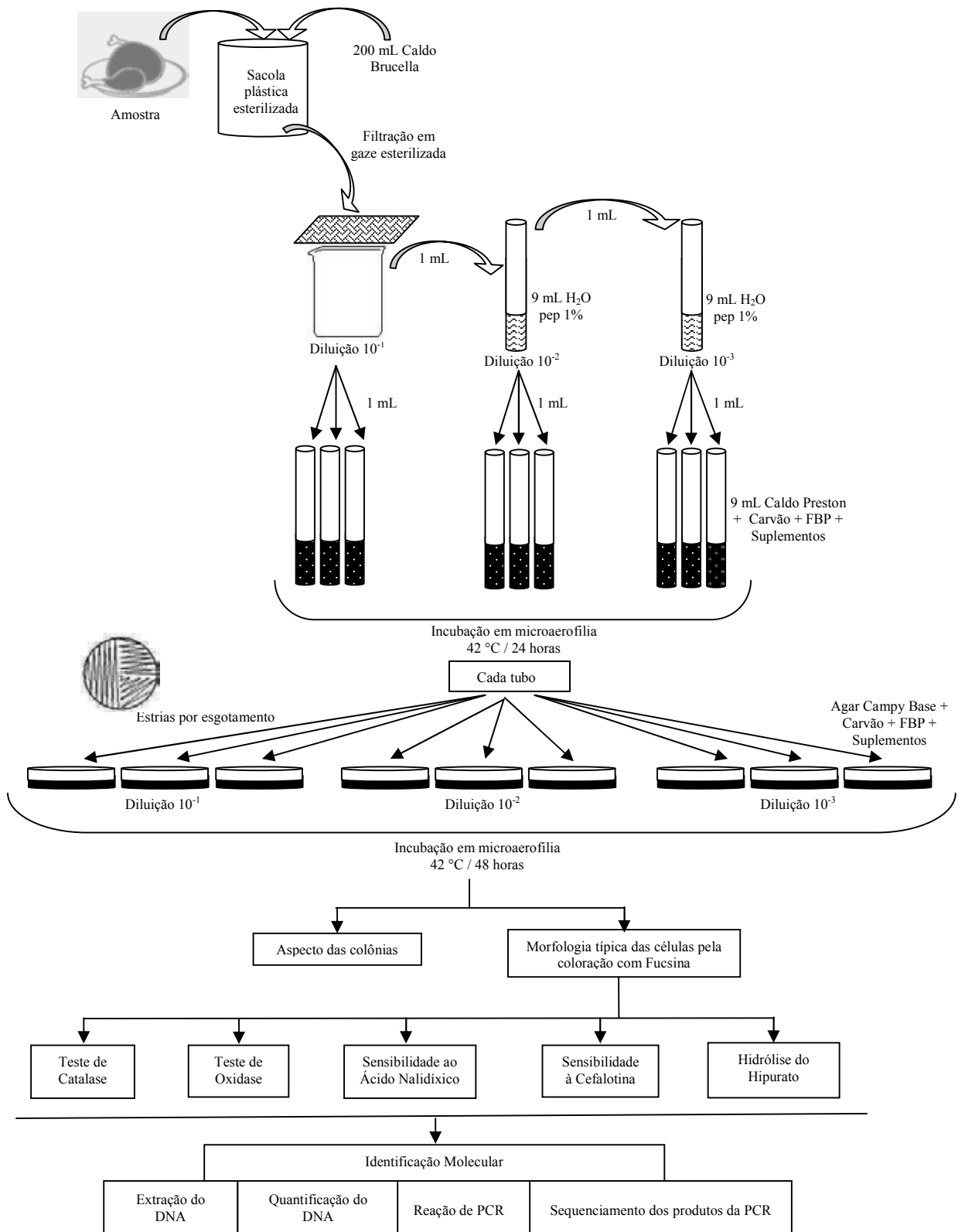
contidas no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (APHA, 2004) e do *Bacteriological Analytical Manual Online* (BAM, 2003), seguido de plaqueamento seletivo, tendo como referência os protocolos adaptados de Scherer et al. (2006) e Tang et al. (2010), conforme representado no esquema da Figura 5 e descrito a seguir:

As carcaças de frango foram retiradas da embalagem original de forma asséptica, acondicionadas em sacos plásticos de polietileno previamente esterilizados e submetidas ao procedimento de rinsagem das carcaças, segundo recomendado por USDA/FSIS (2004). Para isto, adicionou-se 200 mL de caldo Brucella ao saco contendo a carcaça, agitou-se durante 1 min (35 rpm), de forma a rinsar toda a superfície externa e interna da carcaça. O líquido de rinsagem obtido foi filtrado para remoção de partículas de gordura e tecidos que por ventura tenham se soltado das carcaças durante a fricção (BAM, 2003 APHA, 2004; SILVA et al., 2010).

Alíquotas do caldo de rinsagem das amostras foram utilizadas para detecção e enumeração de *Campylobacter*. Esta solução corresponde a diluição  $10^{-1}$  (1:10) e a partir dela foram preparadas diluições seriadas em água peptonada 1 % (p/v) tamponada, até a diluição  $10^{-3}$  (1:1000) (SILVA et al., 2010).

Alíquotas de 1 mL de cada diluição foram adicionadas em 3 séries de 3 tubos de ensaio contendo 9 mL de caldo Preston (Extrato de carne [ $10 \text{ g.L}^{-1}$ ], Peptona bacteriológica [ $10 \text{ g.L}^{-1}$ ] e Cloreto de sódio [ $5 \text{ g.L}^{-1}$ ]) suplementado com solução redutora FBP (Sulfato ferroso, Metabissulfito de sódio e Piruvato de Sódio [ $0,25 \text{ g.L}^{-1}$  de cada]), carvão bacteriológico [ $4 \text{ g.L}^{-1}$ ] e suplemento seletivo contendo os seguintes antimicrobianos: Lactato de trimetoprim [ $20 \text{ mg.L}^{-1}$ ], Cefalotina [ $15 \text{ mg.L}^{-1}$ ], Anfotericina B solubilizada [ $2 \text{ mg.L}^{-1}$ ], Vancomicina [ $20 \text{ mg.L}^{-1}$ ] e Polimixina B [ $2.500 \text{ IU.L}^{-1}$ ] (BAM, 2003; HUNT et al., 2001).

Os conteúdos dos tubos foram então homogeneizados em agitador tipo vórtex (Bio Braun Biotech International) e incubados a  $42 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , por 24 h, em condições de microaerofilia na estufa da câmara de anaerobiose (Thermo Scientific), empregando-se gás contendo 5 % (v/v) de  $\text{O}_2$ , 10 % (v/v) de  $\text{CO}_2$  e 85 % (v/v) de  $\text{N}_2$  (White Martins).



**Figura 5.** Representação esquemática das metodologias utilizadas na pesquisa para detecção, enumeração e identificação de *Campylobacter* spp. nas amostras de carcaças de frango.

Após a incubação dos tubos, foi realizado o plaqueamento por estrias em meio seletivo. Inoculou-se 0,01 mL de cada tubo em placas contendo Agar *Campylobacter* Base (Himedia) (Agar Campy), suplementado com solução redutora FBP, carvão bacteriológico e suplemento seletivo contendo os antimicrobianos e concentrações adicionados ao caldo Preston (HUNT et al., 2001; BAM, 2003). As placas foram então incubadas à  $42 \pm 1$  °C, por 48 h, em estufa da câmara de microaerofilia.

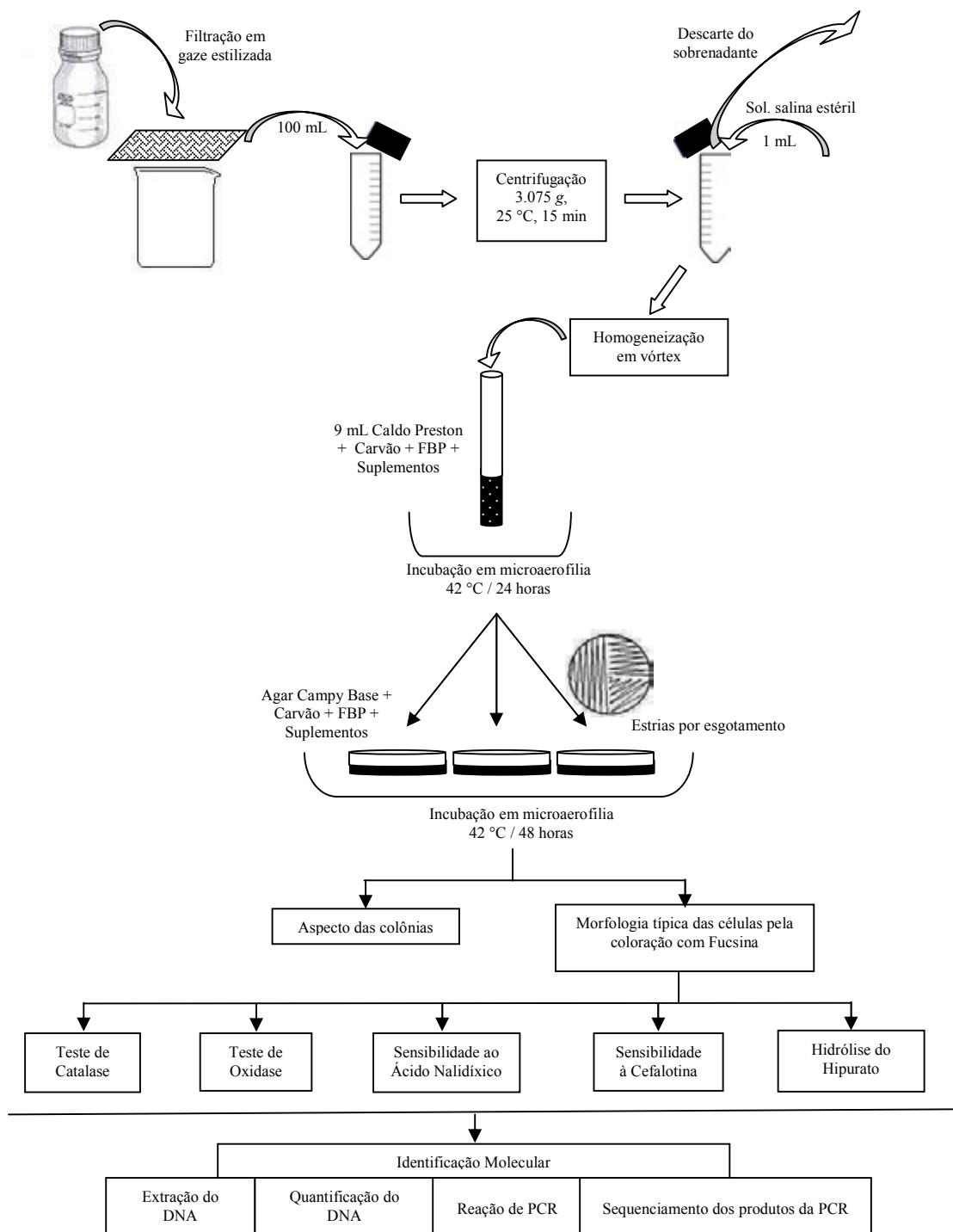
Colônias típicas foram submetidas à coloração com fucsina (BAM, 2003) e testes de confirmação bioquímica por meio de testes complementares de oxidase, catalase, hidrólise do hipurato, resistência ao ácido nalidíxico (30 µg) e à cefalotina (30 µg) (CLSI, 2008; SILVA et al., 2010).

As colônias que apresentaram as características esperadas em todos estes testes foram então consideradas positivas e os tubos que lhes deram origem recebiam a classificação de presença do *Campylobacter*, procedendo-se o cálculo do resultado do teste de diluição múltipla utilizando a tabela de Número Mais Provável (NMP) com intervalo de confiança de 95 % de probabilidade, para séries de três tubos (BAM, 2003).

### **2.3. Detecção e isolamento de *Campylobacter jejuni* em amostras de água**

As amostras de água obtidas do sistema de abastecimento, do pré-chiller e do chiller do abatedouros, durante a 2ª coleta, foram avaliadas quanto à presença de *Campylobacter jejuni* segundo protocolo descrito por BAM (2003), como descrito a seguir e representado na Figura 6.

Após homogeneizar adequadamente a amostra, era realizada filtração para remoção de partículas de gordura e tecidos que por soltos das carcaças durante a passagem pelos sistemas de resfriamento. Em seguida, 100 mL de água foram submetidos à centrifugação a 3.075 g, à 25 °C, por 15 min. Removeu-se o sobrenadante e o pellet foi ressuspenso em 1 mL de solução salina 0,85 % (p/v) e passado em agitador tipo vórtex (Bio Braun Biotech International) para homogeneização.



**Figura 6.** Representação esquemática das metodologias utilizadas na pesquisa empregada para detecção e identificação de *Campylobacter* spp. nas amostras de água dos abatedouros avaliados.

Este volume foi então transferido para tubo de ensaio contendo 9 mL de Caldo Preston suplementado com solução redutora FBP, carvão bacteriológico e suplemento seletivo contendo os mesmos antimicrobianos listados anteriormente (BAM, 2003).

O conteúdo dos tubos foram então homogeneizados em agitador tipo vortex e incubados a  $42 \pm 1$  °C, por 24 h, sob microaerofilia. Em seguida, foi realizado o plaqueamento por estrias em meio seletivo, inoculando 0,01 mL de cada tubo em placas contendo Agar Campy, suplementado com solução redutora FBP, carvão bacteriológico e suplemento seletivo (BAM, 2003). As placas foram incubadas à  $42 \pm 1$  °C, por 48 h, sob microaerofilia (Figura 6).

As etapas seguintes de avaliação microscópica e identificação bioquímica (testes complementares de oxidase, catalase, hidrólise do hipurato) foram idênticas ao procedimento realizado com as amostras de carcaças de frango, no entanto, o resultado da análise da água era fornecido apenas de forma qualitativa, ou seja, presença ou ausência de *Campylobacter* em 100 mL de amostra de água.

#### **2.4. Manutenção das cepas bacterianas utilizadas como controle e das cepas obtidas pelo estudo**

Como controle, foram empregadas as cepas padrão de *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 (Campy 419), *Campylobacter coli* ATCC 33559 (Campy 1003) e *Campylobacter lari* NCTC 11352 (Campy 1012), todas exemplares da coleção de *Campylobacter* do Instituto Oswaldo Cruz, cedidas para a realização deste estudo.

Para manutenção, estas cepas controle e as cepas isoladas identificadas como *Campylobacter* foram armazenadas de duas formas:

- armazenamento por longo período de tempo: congeladas e mantidas a -18 °C em Caldo BHI adicionado de 20 % de Glicerol (p/v) (Synth);

- utilizadas durante a realização do experimento: mantidas ativas em Agar Brucella semissólido com vermelho neutro 0,2 % (p/v), por 14 dias em estufa bacteriológica a 37 °C, pois assim multiplicam-se lentamente abaixo da superfície do meio, permanecendo viáveis.

Quando necessário, eram reativadas em Agar Columbia enriquecido com carvão bacteriológico, e incubadas sob atmosfera microaerófila a 42 °C, por 24 h sob microaerofilia. Após esta reativação, eram novamente mantidas em Agar Brucella semissólido, repetindo-se este procedimento durante toda execução da pesquisa, de forma a manter as cepas utilizadas como padrão sempre ativas.

Os isolados como contaminantes foram armazenadas em microtubos, congeladas e mantidas a -18 °C, em Caldo BHI adicionado de 20 % de Glicerol (p/v) (Synth).

## **2.5. Identificação molecular dos isolados de *Campylobacter* spp.**

### **2.5.1. Preparo e extração do DNA**

Os isolados suspeitos de pertencerem ao gênero *Campylobacter* e as cepas controle foram semeados em Agar Campy e incubados a 42 ± 1 °C, por 24 h, em condições de microaerofilia. Colônias de células obtidas deste cultivo foram diluídas em microtubos contendo 1 mL de solução salina 0,85 % (p/v) para obter uma concentração de 10<sup>8</sup> a 10<sup>9</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> (escala 4 de McFarland). As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Genética Molecular e de Microrganismos – BIOAGRO/UFV.

Para extração do fragmento correspondendo ao rDNA 16S das amostras contidas nos microtubos, foi utilizado o kit comercial *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega, USA) de acordo com as instruções do fabricante, a saber:

Os microtubos contendo a suspensão de células foram centrifugados a 15.000 g, por 4 min em centrífuga (Eppendorf 5415D). Descartou-se o sobrenadante e ao pellet formado adicionou-se 0,6 mL da *Nuclei Lysis Solution*, pipetando-se várias vezes, cuidadosamente, até ressuspender as células e dissolver o pellet.

Em seguida, os microtubos foram incubados em banho maria a 65 °C por 15 min para lisar as células. Após resfriar-se à temperatura ambiente de 23 ± 1 °C, adicionaram-se 3 µL da *RNAse Solution*, invertendo o microtubo 5x para misturar bem. Incubou-se à 37 °C, por 60 min.

Após resfriar-se à temperatura ambiente ( $23 \pm 1$  °C) adicionaram-se 200  $\mu\text{L}$  de *Protein Precipitation Solution* nos microtubos, e em seguida, agitou-se em vortex durante 20 segundos.

Incubou-se os microtubos em gelo, por 5 min, e seguiu-se para centrifugação a 15.000 g, por 5 min em centrífuga Eppendorf (5415D). Transferiu-se o sobrenadante, aproximadamente 750  $\mu\text{L}$ , para um microtubo esterilizado, adicionou-se 600  $\mu\text{L}$  de isopropanol à temperatura ambiente, misturou-se por inversão dos microtubos, formando uma pequena massa visível no líquido. Centrifugou-se à 15.000 g, por 3 min e logo após descartou-se o sobrenadante e secaram-se os microtubos com ajuda de papel absorvente. Adicionou-se 600  $\mu\text{L}$  de etanol 70 % (v/v) e inverteram-se os microtubos várias vezes para lavar o pellet de DNA. Centrifugou-se a 15.000 g, por mais 2 min, e descartou-se o etanol.

Secou-se o microtubo com papel toalha absorvente e secou-se ao ar por 15 min. Em seguida, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de *DNA Rehydration Solution* para rehidratar o DNA e incubou-se em banho-maria a 65 °C por uma hora. Periodicamente, os microtubos eram invertidos para misturar o seu conteúdo e facilitar a rehidratação do DNA.

Depois desta etapa, procedeu-se a quantificação em gel de agarose.

### **2.5.2. Quantificação do DNA extraído em gel de agarose**

Em um gel preparado com 0,8 % (p/v) de agarose (Sigma) contendo brometo de etídeo [ $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ] (Sigma), distribuiu-se o marcador de quantidade  $\lambda$  de 25 ng (Promega), usando 1  $\mu\text{L}$ , 2  $\mu\text{L}$  e 4  $\mu\text{L}$  (25, 50 e 100 ng, respectivamente), e 3  $\mu\text{L}$  de tampão de carregamento. De cada amostra, foi dispensado nas canaletas da placa do gel de agarose 1  $\mu\text{L}$  de DNA extraído com 3  $\mu\text{L}$  do tampão de carregamento.

A placa foi então submergida em uma cuba com tampão TBE (Tris + EDTA + Ácido bórico) e realizada a corrida em eletroforese em tampão TBE 0,5X [0,9 M Tris, 0,9 M ácido bórico, 0,02 M EDTA – pH 8,2] disposto em cuba horizontal por 30 min a 60 V. Em seguida, a placa foi fotografada no fotodocumentador L-PIX CHEMI (Loccus Biotechnology Molecular Imagim) sob transiluminação a UV 302 nm.

Compararam-se as bandas formadas com os marcadores  $\lambda$  e quantificou-se, aproximadamente, o volume de DNA obtido na extração. Para realização da reação de PCR, as amostras muito concentradas foram diluídas com água Milli-Q esterilizada (Millipore, EUA) até uma concentração final entre 25 e 50 ng. $\mu\text{L}^{-1}$ .

As amostras de material genético foram então armazenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização da amplificação.

### **2.5.3. Amplificação e sequenciamento dos fragmentos de DNA extraídos das amostras**

Para identificação molecular dos isolados de bactérias, o fragmento correspondendo ao rDNA 16S extraído e quantificado foi amplificado pela técnica de PCR, utilizado-se os oligonucleotídeos iniciadores P027F (*Forward primer* 5'-3': 5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') (LANE et al., 1991) e 1492R (*Reverse primer* 5'-3': 5' – TACGGTTACCTTGTACGACTT-3') (TURNER et al., 1999), de acordo com a lista de *primers* universais da Macrogen (MACROGEN INC, 2008).

A reação de amplificação foi realizada para um volume final de 25  $\mu\text{L}$  contendo:

- 5  $\mu\text{L}$  do tampão *Colorless Go Taq<sup>®</sup> Flexi Buffer* [5X] (Promega);
- 2,5  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  [25  $\mu\text{M}$ ] (Promega);
- 1,0  $\mu\text{L}$  de dNTPs [2,5  $\mu\text{M}$  cada dNTP – A, C, G e T] (Promega);
- 1,0  $\mu\text{L}$  do oligonucleotídeo P027F [5  $\mu\text{M}$ ] (IDT - Integrated DNA Technologies);
- 1,0  $\mu\text{L}$  do oligonucleotídeo 1492R [5  $\mu\text{M}$ ] (IDT - Integrated DNA Technologies);
- 0,25  $\mu\text{L}$  de *Go Taq<sup>®</sup> DNA Polymerase* [5 U. $\mu\text{L}^{-1}$ ] (Promega);
- 1  $\mu\text{L}$  de DNA genômico [25 ng. $\mu\text{L}^{-1}$ ]; e
- 13,25  $\mu\text{L}$  de água ultrapura autoclavada.

Um controle negativo, com mistura do PCR sem o DNA, foi incluído em todos os experimentos de PCR.

Utilizou-se o termociclador 1000 Series Thermal Cycling Platform (Bio-Rad, USA), programado para realizar uma desnaturação inicial a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 4 min, seguido de 30 ciclos a  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 30 segundos,  $63\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 1 min e

30 segundos para anelamento, e 72 °C por 1 min e 30 segundos, sendo que após os ciclos houve uma extensão final a 72 °C por 7 min. A temperatura ao final foi mantida a 12 °C.

Após a amplificação, os produtos da PCR, juntamente com o marcador de 1 kb plus DNA Ladder (Invitrogen), foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,2 % (p/v) contendo brometo de etídeo [0,2 µg.mL<sup>-1</sup>] em tampão TBE 0,5X por 30 min a 100 V. Após a eletroforese, o gel foi observado com auxílio do fotodocumentador L-PIX CHEMI (Loccus Biotechnology Molecular Imagim) sob transiluminação a UV 302 nm.

O produto de PCR foi enviado para purificação e sequenciamento na empresa Macrogen<sup>®</sup> Inc., em Seul, Coreia do Sul, onde foi utilizado o sequenciador Applied Biosystems 3730XL.

Os produtos do sequenciamento de ambas as fitas de DNA foram agrupados em contíguos, alinhados e corrigidos manualmente, utilizando o programa *Sequencher* versão 4.1.4 (Genecodes Corporation, Ann Arbor, Michigan, USA).

A identificação dos isolados foi realizada por comparação com duas bases de dados: do *GenBank*, utilizando um algoritmo de alinhamento local para as sequências de nucleotídeos (BLAST-n) da *National Center for Biotechnology Information* (NCBI); e do *Ribossomal Database Project* (RDP) do *Center for Microbial Ecology – Michigan State University*, utilizando o aplicativo *Sequence Match*, para verificar a similaridade das sequências obtidas com aquelas armazenadas nos bancos de dados e classificá-las a nível de espécie.

## **2.6. Determinação da resistência a antimicrobianos das cepas de *Campylobacter jejuni***

Os isolados foram avaliados quanto a resistência a antimicrobianos pela a metodologia de disco de difusão em placas conforme recomendado pelo Instituto de Padronização Clínica e Laboratorial (CLSI, 2008).

As culturas a serem testadas foram ativadas em Agar Columbia suplementado com 5 % de sangue de carneiro desfibrinado com pérolas de vidro, obtido no Departamento de Veterinária da UFV. Foi realizada a técnica

de semeadura por esgotamento e em seguida as placas foram incubadas a 37 °C por 24 h em condições de microaerofilia.

A massa de células obtida foi então ressuspensa em solução de NaCl 0,85 % (p/v), e a turbidez ajustada para 0,5 na escala padrão de McFarland, equivalente a  $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>, utilizando-se a medida de 0,08 a 0,1 de densidade óptica (DO) em espectrofotômetro (Bioespectro, SP-22) a 625 nm.

Após o ajuste da turbidez, o inóculo foi espalhado com auxílio de um *swab* esterilizado sobre a superfície das placas de Agar Müller-Hinton suplementado com 5 % de sangue de carneiro, de modo a formar uma camada uniforme de células. Deixou-se as placas secarem por, aproximadamente, 5 min e, em seguida, discos de antimicrobianos comerciais foram dispostos sobre a superfície das placas de Agar inoculadas com *Campylobacter* (6 discos / placa), de forma que os halos de inibição de crescimento não se sobrepusessem.

Foram utilizados discos de antimicrobianos padrão contendo os antibióticos listados na Tabela 6. A escolha destes compostos se deu pelo fato de que a maioria se trata de antimicrobianos frequentemente indicados para tratamentos de infecções em humanos e em terapia animal, juntamente com aqueles empregados como agentes seletivos nos meios de cultura utilizados para isolamento do *Campylobacter* spp..

As placas contendo os discos foram incubadas a 37 °C por 48 h em condições de microaerofilia e avaliadas quanto à presença e tamanho de halo de inibição de crescimento.

Para interpretação dos resultados de inibição para espécies de *Campylobacter*, foram utilizados critérios propostos no CLSI (2008a) para os antimicrobianos avaliados, sendo que os diâmetros dos halos de inibição foram considerados os mesmos empregados pelo CLSI para família Enterobacteriaceae (CLSI, 2008b). As cepas de *Campylobacter jejuni* (Campy 419) e de *Campylobacter coli* (Campy 1003) foram utilizadas como espécies de referência nos testes de sensibilidade a antimicrobianos.

**Tabela 6.** Diâmetros dos halos de inibição (mm) determinantes de resistência (R), reação intermediária (I) ou sensibilidade (S), segundo antimicrobiano ou quimioterápico e sua concentração.

Antibióticos	Classes	Concentração (µg)	Diâmetro do halo de inibição (mm)		
			R	I	S
Ácido Nalidíxico	Quinolonas	30	≤ 13	14 - 18	≥ 19
Amoxicilina + Ác. clavulânico	Betalactâmico + Inibidor de betalactamases	30	≤ 13	14 - 17	≥ 18
Ampicilina	Aminopenicilinas	10	≤ 13	14 - 16	≥ 17
Aztreonam	Monobactam	30	≤ 17	18 - 20	≥ 21
Cefalotina	Cefalosporina 1ª geração	30	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Cefepime	Cefalosporina 4ª geração	30	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Cefotaxima	Cefalosporina 3ª geração	30	≤ 22	23 - 25	≥ 26
Cefoxitina	Cefalosporina 2ª geração	30	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Ceftazidima	Cefalosporina 3ª geração	30	≤ 17	18 - 20	≥ 21
Cefuroxima	Cefalosporina 2ª geração	30	≤ 14	15 - 17	≥ 18
Ciprofloxacina	Fluorfenicol	5	≤ 15	16 - 20	≥ 21
Cloranfenicol	Fenicol	30	≤ 12	13 - 17	≥ 18
Gentamicina	Aminoglicosídeo	10	≤ 12	13 - 14	≥ 15
Imipenem	Carbapenens	10	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Polimixina B	Polipeptídeo poliênico básico	300	≤ 08	09 - 11	≥ 12
Sulfametoxazol + Trimetoprim	Inibidores do ácido fólico	25	≤ 10	11 - 15	≥ 16
Tetraciclina	Tetraciclinas	30	≤ 11	12 - 14	≥ 15
Vancomicina	Glicopeptídeos	30	≤ 09	10 - 11	≥ 12

**Fontes:** Classes – Oplustil et al. (2010).  
Concentração dos antibióticos – Fabricantes dos discos.  
Diâmetros dos halos de inibição – CLSI, 2008a.

## 2.7. Identificação dos contaminantes entéricos isolados das placas de cultivo de *Campylobacter* spp.

Durante os procedimentos analíticos para avaliar a prevalência de *Campylobacter* nas amostras de carcaças de frango, observou-se que, mesmo ao adotar procedimentos de seletividade para reduzir a multiplicação de contaminantes, naturalmente presentes nas amostras, vários micro-organismos desenvolviam-se na presença dos suplementos seletivos empregados, assim como em ambiente de microaerofilia.

Estes contaminantes foram então investigados, por análises morfológicas, bioquímicas e moleculares para identificação de *Enterobacteriaceae*, assim como avaliação da resistência antimicrobiana destes isolados.

As colônias que não apresentaram morfologia típica de *Campylobacter* pela coloração com fucsina foram isoladas após o plaqueamento por estrias em Agar para Contagem Padrão (PCA) e avaliadas pela coloração de Gram convencional, e em seguida foram realizados os testes bioquímicos indicados para bactérias de origem entérica, a saber: produção de oxidase, produção de catalase, teste de citrato, fermentação da lactose e de açúcares, indol, urease, LIA, motilidade, vermelho de metila e Voges-Proskauer (SILVA et al., 2010).

### **2.7.1. Identificação molecular dos contaminantes isolados**

Dentre os isolados obtidos como contaminantes, foram selecionadas 26 cepas diferentes após a triagem realizada com os testes bioquímicos acima. Estas cepas foram estriadas em placas com Agar Infuso Cérebro Coração (BHI) e incubadas a  $35 \pm 1$  °C, por 24 h em estufa de cultivo microbiano. Para garantir a pureza da cepa a ser avaliada, uma colônia isolada obtida deste plaqueamento foi reincubada em tubos contendo Agar BHI inclinado a  $35 \pm 1$  °C, por 24 h em estufa de cultivo microbiano. Uma porção celular deste cultivo foi transferida para microtubos contendo 1 mL de solução salina 0,9 % (p/v) a fim de obter uma concentração de, aproximadamente,  $10^8$  a  $10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup>, correspondente a escala 4 de McFarland, e conduzidas até o Laboratório de Genética Molecular e de Microrganismos – BIOAGRO/UFV, para realização das análises moleculares, de acordo com as etapas descritas no item 2.5.

### **2.8. Determinação da resistência a antimicrobianos dos contaminantes isolados**

Após o isolamento, identificação bioquímica e molecular dos contaminantes, 26 cepas foram avaliadas quanto à resistência a antimicrobianos segundo a metodologia de disco de difusão em placas conforme recomendado pelo Instituto de Padronização Clínica e Laboratorial (CLSI, 2008).

As culturas a serem testadas foram ativadas em meio sólido, utilizando-se placas com Agar BHI, pela técnica de semeadura por esgotamento, e incubadas a 37 °C, por 24 h.

Uma colônia isolada foi então inoculada em 4 mL de Caldo BHI e incubado a 35 °C, por 2 a 4 h, até a turbidez desejada de 0,5 na escala padrão de McFarland, equivalente a  $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>, utilizando-se a medida de 0,08 a 0,1 de densidade óptica (DO) a 625 nm em espectrofotômetro (Bioespectro, SP-22). Quando se excedia a esta densidade celular, utilizou-se solução salina 0,9 % (p/v) esterilizada para obter a turbidez adequada.

Após o ajuste da turbidez, o inóculo foi espalhado com auxílio de um *swab* esterilizado sobre a superfície das placas de Agar Müeller-Hinton de modo a formar uma camada uniforme de células. Deixou-se as placas secarem por, aproximadamente, 5 min e, em seguida, discos de antimicrobianos comerciais foram dispostos sobre a superfície das placas de ágar inoculadas com a cepa a ser testada (6 discos / placa), de forma que os halos de inibição de crescimento não se sobrepussem. Foram utilizados os mesmos antimicrobianos listados na Tabela 6.

As placas contendo os discos foram incubadas a 35 °C por 18 h em estufa bacteriológica e avaliadas quanto à presença e diâmetro dos halos de inibição de crescimento. Para interpretação dos resultados, foram considerados os critérios usados pelo CLSI para família Enterobacteriaceae (CLSI, 2008b) que estabelece a referência nos testes de sensibilidade a antimicrobianos, também descritos na Tabela 6.

## **2.9. Dados sobre as granjas e abatedouros de origem das amostras**

As informações obtidas por meio da aplicação do questionário (Apêndice A) foram tabuladas em planilhas do programa *Microsoft Office Excel 2007*<sup>®</sup>, fornecendo índices de estatística descritiva (média, desvio padrão e variância), e produzindo-se tabelas e gráficos para facilitar a apresentação e discussão dos resultados.

## 2.10. Análise estatística

Para a análise estatística dos resultados obtidos, inicialmente foi aplicado o teste Shapiro-Wilk à todos resultados obtidos dos conjuntos de variáveis para verificar se apresentavam distribuição normal.

Nos casos em que os valores amostrais apresentaram uma distribuição normal, foram aplicados os testes paramétricos para avaliar se havia ou não diferença entre as médias. Aos conjuntos em que o teste de Shapiro-Wilk indicava que os dados não provinham de populações com distribuição normal, aplicou-se testes não-paramétricos para avaliar se existe diferença entre as medianas.

Para comparação de proporções dos resultados entre os diferentes abatedouros, entre tipos de inspeção (estadual ou federal), e entre as amostras da 1ª e 2ª coleta, foi empregado o teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), que é indicado para obter um valor da dispersão para duas variáveis nominais, avaliando a associação existente entre variáveis qualitativas. É um teste não paramétrico, ou seja, não depende dos parâmetros populacionais, como média e variância.

Em todas estas avaliações o nível de significância foi de  $\alpha = 5\%$ , utilizando-se o programa *R-Commander*, versão 2.10.1 (R-COMMANDER, 2009; FOX, 2005).

## 2.11. Aspectos éticos

Os responsáveis pelos abatedouros assinaram termo de anuência referente a permissão de entrada dos pesquisadores no estabelecimento para realização da coleta das amostras, garantindo a confidencialidade dos dados e o anonimato dos estabelecimentos participantes do estudo.

Para o levantamento das informações sobre os lotes abatidos, foi aplicado um questionário aos funcionários do serviço de inspeção, com informações sobre a granja e manejo adotado com o lote das amostras, e sobre o abatedouro e o processo de abate.

Os resíduos laboratoriais gerados pelo estudo foram acondicionados em sacos plásticos, autoclavados e enviados para o descarte pelo setor de resíduos sólidos da Universidade Federal de Viçosa – UFV.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Características dos abatedouros avaliados no estudo

Como o questionário foi aplicado de forma voluntária aos funcionários do serviço de inspeção do frigorífico, apenas 10 abatedouros, dentre os 15 participantes da pesquisa, responderam. Destes, seis estavam sob inspeção estadual e quatro sob inspeção federal.

A capacidade de abate variou entre 1.500 a 90.000 aves/dia, com média de 34.350 aves. Considerando o número médio de aves abatidas, pode-se observar que 4 abatedouros excediam sua capacidade de abate diário, o que pode afetar o processo e os controles de segurança e eficiência adotados na linha de abate.

De modo geral, o tempo decorrido do início do abate até o momento da coleta das amostras variou de 1 a 7 h. Desta forma, amostras coletadas próximo ao final do período de abate tiveram contato com mais de uma provável fonte de contaminação cruzada, como superfície de equipamentos contaminados e insuficientemente higienizados, bem como a água do *chiller* que não é completamente trocada entre lotes. Este tempo pode ter influenciado no grau de contaminação das carcaças, visto que em vários estudos demonstram que alguns pontos da linha de abate podem facilitar a contaminação das carcaças (SCARELLI et al., 2005; FRANCHIN et al., 2005; GOMES et al., 2006; CORTEZ et al., 2006; MADALOZZO et al., 2007b; FRANCHIN et al., 2007; CALIL et al., 2008). Em relação aos procedimentos de limpeza e sanitização, foi informado que os tanques são completamente esvaziados e limpos no máximo a cada 8 h, ou seja, ao final de cada turno de trabalho. Foi citado que para sanitização eram utilizados produtos comerciais a base de Amônia quaternária, Ácido peracético e Hipoclorito de Sódio, nas diluições e tempos de contato indicados pelos fabricantes.

Quanto a procedência das aves, 50 % dos abatedouros, localizados nas regiões Campos das Vertentes, Metropolitana, e Sul/Sudoeste de Minas, recebiam frangos de granjas do município de Pará de Minas, e o percurso de transporte era de 10 a 310 km até a entrega nos abatedouros. As demais

amostras foram de aves originárias de várias outras cidades do estado, percorrendo a distância entre 2 e 200 km. O transporte é uma das etapas importantes na cadeia produtiva de aves para abate, pois pode afetar o seu estado geral, seja por lesões físicas, seja pelo estresse causado pelo movimento não habitual dos animais.

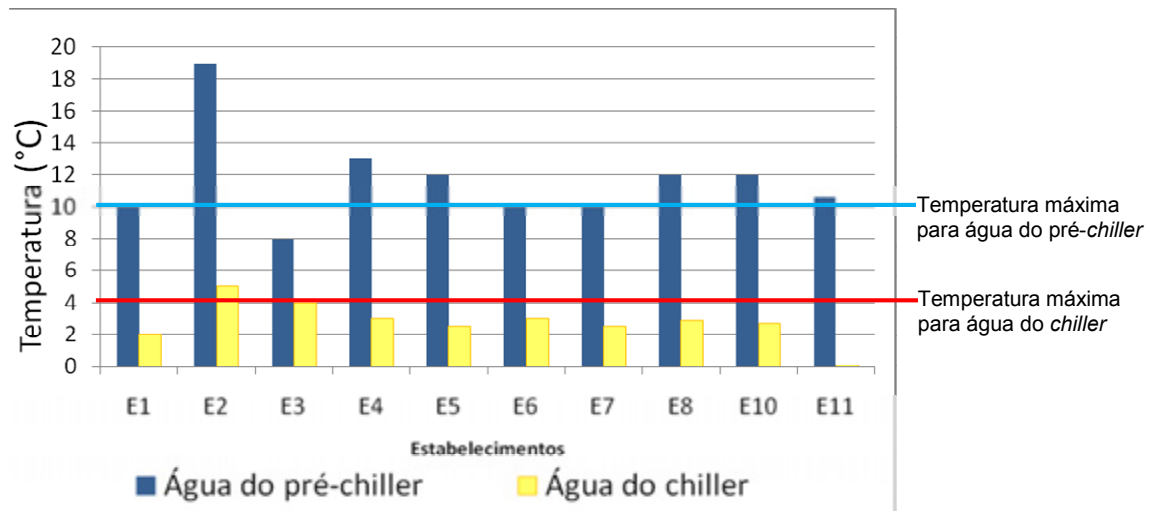
A idade dos lotes variou de 40 a 47 dias, com média de  $44,2 \pm 2,4$  dias, e alimentação foi suspensa com um mínimo de 15 h antes do abate. O peso médio das carcaças avaliadas neste estudo foi 2,012 kg, compatível com a idade média de abate e classificando os frangos como Tipo Médio (TIBURCIO, 2011).

Com relação às instalações do abatedouro e ao processo de abate, todos utilizavam o resfriamento por imersão das carcaças (tipo *chiller*). Destes, 50 % possuem hidrômetros para medição adequada da vazão de água no *chiller*. Os demais abatedouros, ou não possuíam controle adequado do volume de água recirculada, assim trabalhavam com estimativas (30 %) ou desconheciam se o volume de água circulado no sistema de resfriamento atendia à legislação pertinente (20 %). Em todos, o sistema de resfriamento possuía renovação da água que circulava contra o fluxo das carcaças, e com a temperatura inferior a 4 °C.

Para Madalozzo et al. (2007), a depenagem e resfriamento em *chiller* conduzidos de forma inadequada funcionam como um sistema equalizador da contaminação. Neste sentido, alguns autores citam que *Campylobacter* pode aderir e penetrar na carcaça de frango e assim sobreviver aos processos de escaldagem e de resfriamento em *chiller*, procedimentos estes indicados para manter ou reduzir o número de micro-organismos (MEAD, 2004; HARGINS e HIGGINS, 2004; MADALOZZO et al., 2007b; CALIL et al., 2008).

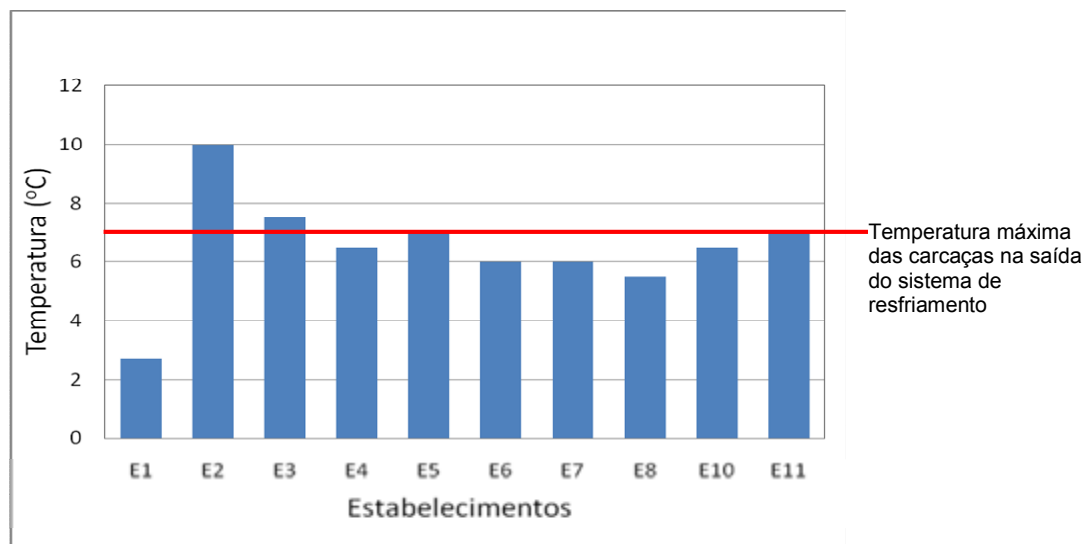
Todos os frigoríficos mantinham sistema de monitoramento da temperatura e da cloração da água de abastecimento do abatedouro. Como apresentado na Figura 7, a temperatura da água medida no pré-*chiller* variou entre 8 °C e 19 °C (média de  $11,66 \pm 2,96$  °C) e no *chiller* variou entre 0,1 °C a 5 °C (média de  $2,77 \pm 1,27$  °C). Considerando que a temperatura da água no pré-*chiller* deve ser  $\leq 10$  °C e no *chiller*  $\leq 4$  °C, observou-se que em

um dos abatedouros pesquisados (E2) estes limites não estavam de acordo com a legislação vigente (BRASIL, 1998).



**Figura 7.** Temperatura da água nos tanques de resfriamento por imersão (pré-chiller e chiller) dos abatedouros avaliados.

A temperatura das carcaças ao final do resfriamento deve ser  $\leq 7\text{ }^{\circ}\text{C}$  (BRASIL, 1998). Nas amostras coletadas a temperatura variou de  $2,7\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sendo a média  $6,47\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,82\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura 8).

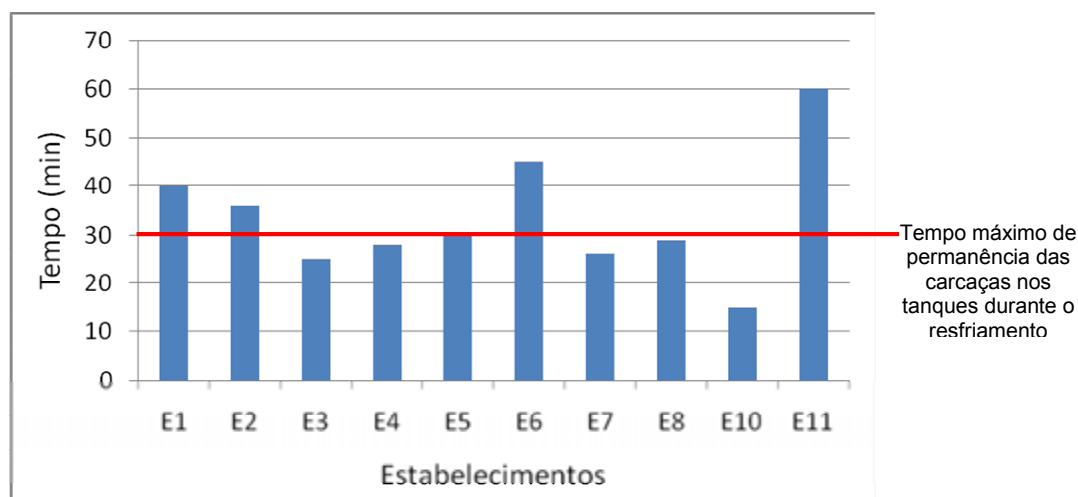


**Figura 8.** Temperatura das carcaças de frango na saída do sistema de resfriamento por imersão dos abatedouros avaliados.

Estudos realizados no Brasil e em outros países têm demonstrado que a incidência de *C. jejuni* e *C. coli* em carcaças e vísceras de frangos

analisadas imediatamente após a evisceração é alta, com variação entre 60 % a 100 % de positividade. Entretanto, a frequência diminuiu de 15 % a 20 % em amostras armazenadas sob refrigeração ou congelamento por diferentes períodos de tempo (ORTEGA, 2005; CARVALHO, 2009), dados que reforçam a importância do resfriamento das carcaças tão logo seja concluído o procedimento de abate, e se mantenha a condição de congelamento.

O resfriamento em *chiller* de imersão com água e gelo à temperatura de 0 a 4 °C é um ponto em potencial para a contaminação de carcaças. O tempo de passagem das carcaças pelo sistema de resfriamento deve ser de, no máximo, 30 min. Nos abatedouros avaliados este tempo variou de 15 min à 1 h, e em 40 % (4/10) dos abatedouros excede os 30 min (Figura 9).

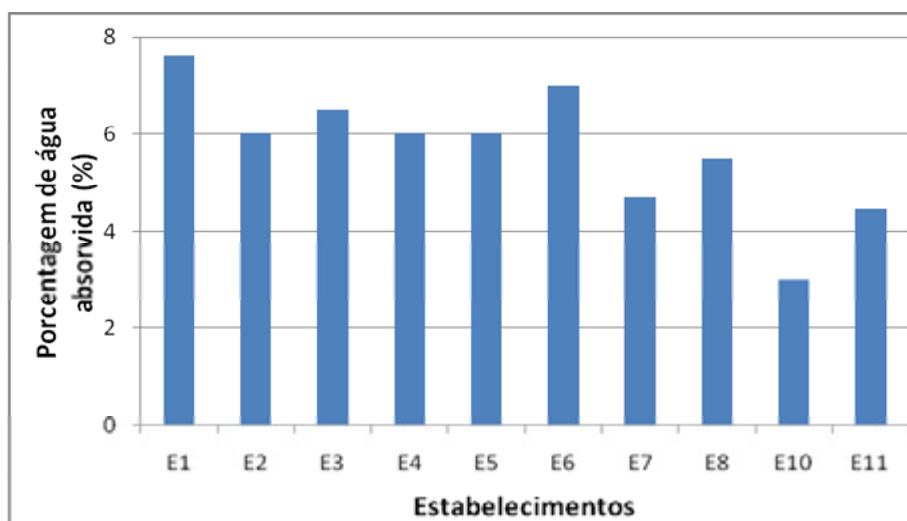


**Figura 9.** Tempo médio, em minutos, de permanência das carcaças nos tanques de imersão do sistema de resfriamento (*chiller* e *pré-chiller*) nos abatedouros avaliados.

No entanto, o fator tempo não interferiu na absorção de água pelas carcaças, pois a porcentagem de água absorvida variou de 3 % a 7 %, com média de 5,7 %  $\pm$  1,3 %. Em nenhum dos abatedouros excedeu-se o limite de máximo de 8 % de absorção, estabelecido pela legislação (Figura 10).

O uso de resfriamento por *spray* de água fria ao invés da imersão das carcaças em tanque de resfriamento e maquinários com acabamento sanitário, ou seja, de material resistente, desmontáveis e de fácil higienização, permitem reduzir a ocorrência de contaminação cruzada

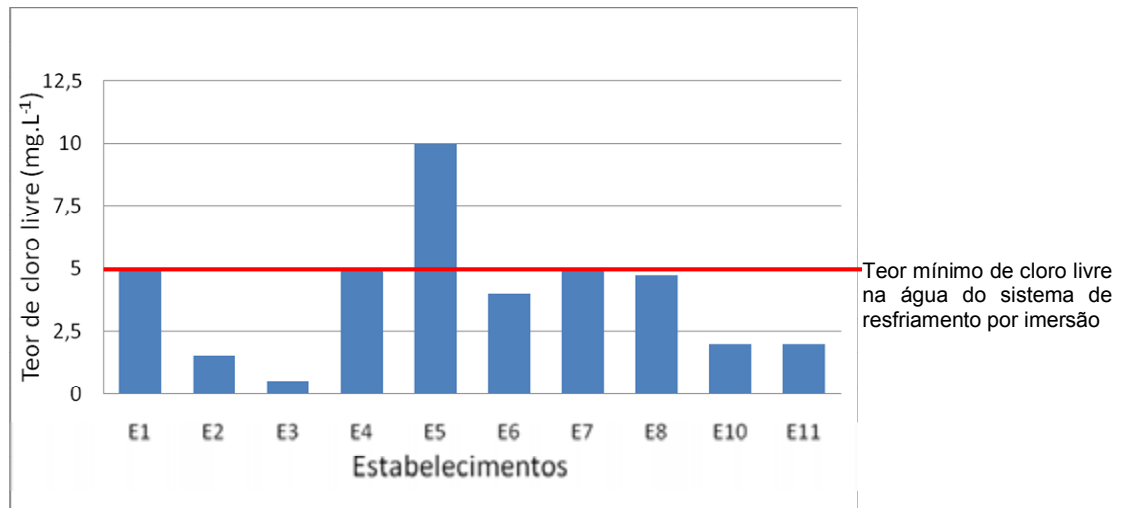
(BERRANG et al.; 2000b; KENNER et al., 2004; ORTEGA, 2005; MADALOZZO et al., 2007b CALIL et al., 2008).



**Figura 10.** Porcentagem de água absorvida pelas as carcaças após o seu resfriamento em tanques de imersão.

Apenas um abatedouro possuía sistema de cloração automático, com controle da quantidade de cloro adicionada ao sistema de resfriamento. O teor de cloro variou entre 0,5 a 10 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 11), com média de 3,98 ± 2,71 mg.L<sup>-1</sup>. Em 6 dos abatedouros, a concentração apresentou-se abaixo de 5 mg.L<sup>-1</sup>, indicada pela legislação brasileira (BRASIL, 1998).

O uso de concentrações adequadas de cloro livre é imprescindível para reduzir ou controlar a contaminação, ainda que esse cloro venha a ser inativado pela quantidade excessiva de matéria orgânica (HARGINS et al., 2004). Mesmo com as imposições de um mercado de carne competitivo, o europeu, o Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar (FSIS) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos e o MAPA recomendam a utilização de 5 mg.L<sup>-1</sup> de cloro residual livre na água dos *chillers* (NACMCF, 1994; BRASIL, 1998; MADALOZZO et al., 2007a).



**Figura 11.** Teor de cloro livre, em mg.L<sup>-1</sup>, na água de resfriamento por imersão.

*C. jejuni* pode apresentar 99 % de inativação com 1 mg.L<sup>-1</sup> de cloro livre após 15 min de contato (MADALOZZO et al., 2007a). Porém, *C. jejuni* e outros patógenos bacterianos demonstraram aumentar a resistência (mais de 50 vezes) e a sobrevivência em água clorada, utilizando espécies de protozoários como um reservatório temporário (BLACKBURN e McCLURE, 2002).

O aumento da concentração de cloro na água destinada ao processamento das aves, aliada à melhoria das condições de higiene dos abatedouros, permitem reduzir significativamente a contaminação das carcaças (MEAD et al., 1995). No entanto, Peyrat et al. (2008) demonstraram que algumas estirpes de *Campylobacter* spp. podem resistir aos procedimentos de limpeza e desinfecção em matadouros de aves, com consequente contaminação das carcaças durante o processamento.

Nunes (2005) observou diferença significativa na eficácia do cloro ao avaliar o efeito do tempo de processamento e da concentração de cloro na água para controle de *C. jejuni* e outros patógenos. Estes fatores não são únicos, de acordo com Hargins et al. (2004) e Vansin et al. (2004), pois, micro-organismos como *C. jejuni*, que têm capacidade e mobilidade para penetrar nos folículos da pele de frango, são protegidos contra a ação bacteriana do cloro.

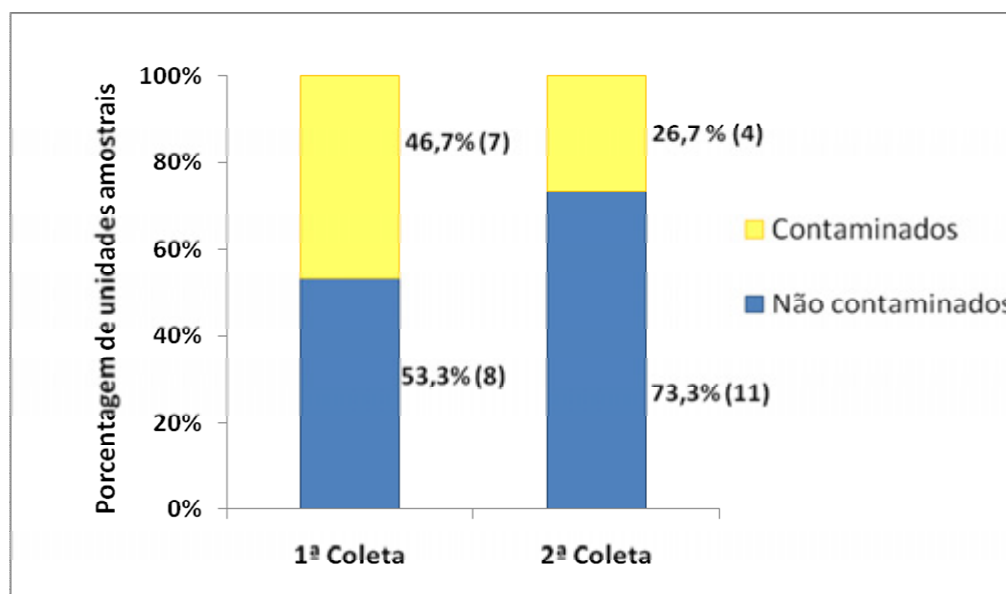
Para Oyarzabal et al. (2004), o uso de hipoclorito de sódio em carcaças após o resfriamento tem bons resultados e pode ser aplicado por meio de aspersão ou imersão.

Em todos os abatedouros a etapa de embalagem é realizada imediatamente após o gotejamento. Observou-se, durante as coletas de amostras que esta etapa durava, em média, 2 min.

### 3.2. Ocorrência de *Campylobacter jejuni*

#### 3.2.1. Avaliação da contaminação em carcaças de frango

As 30 unidades amostrais avaliadas proviam de dois períodos de coleta de amostra. Na primeira coleta (jan-fev/2012), dentre as 15 unidades amostrais, 7 (46,7 %) foram positivas para a presença de *Campylobacter* spp. Na segunda coleta (ago-set/2012), dentre as 15 unidades amostrais, 4 (26,7 %) foram positivas para presença do patógeno (Figura 12). No total, 36,7 % (11/30) das unidades amostrais apresentaram-se contaminadas pelo agente pesquisado.



**Figura 12.** Porcentagem de unidades amostrais avaliadas que confirmaram a presença de *C. jejuni*, por coleta.

A contaminação da carne de frango pode ocorrer durante o abate, sendo mais comum durante o escaldamento e a evisceração, quando há a

possibilidade da transferência de micro-organismos do intestino para a superfície das carcaças (CASTRO et al., 1997; CORTEZ et al., 2006; PRENCIPE et al., 2007; CARVALHO, 2009).

Considerando o grau de contaminação das carcaças que compunham as unidades amostrais, e o tipo de inspeção vigente nos abatedouros, observou-se que 20 % (15/75) e 13,3 % (10/75) das carcaças da primeira e segunda coleta, respectivamente, estavam contaminadas com *Campylobacter* spp. (Tabela 7). Na confirmação por técnicas moleculares, todos isolados foram identificadas como *Campylobacter jejuni* (Tabela 8).

**Tabela 7.** Número e porcentagem de carcaças de frango contaminadas com *C. jejuni*, de acordo com local de coleta, tipo de inspeção, produção diária estimada e mesorregião do Estado de Minas Gerais.

Local de Coleta	Tipo de Inspeção	Unidade amostral (nº de carcaças contaminadas por unidade amostral)				Produção diária estimada <sup>c</sup>	Mesorregião de Minas Gerais
		1ª coleta	2ª coleta	Total	% de Contaminação		
E1	IMA <sup>a</sup>	1 (1/5)	0	1 (1/10)	10	28.000	Campos das Vertentes
E2	IMA	1 (1/5)	1 (1/5)	2 (2/10)	20	15.000	Campos das Vertentes
E3	IMA	0	0	0	0	20.000	Oeste de Minas
E4	SIF <sup>b</sup>	0	0	0	0	85.000	Metropolitana de BH
E5	SIF	0	0	0	0	90.000	Metropolitana de BH
E6	IMA	0	0	0	0	4.800	Sul / Sudoeste
E7	SIF	1 (1/5)	0	1 (1/10)	10	64.000	Metropolitana de BH
E8	SIF	0	0	0	0	19.200	Metropolitana de BH
E9	IMA	0	0	0	0	10.000 <sup>d</sup>	Sul / Sudoeste
E10	IMA	0	0	0	0	1.500	Sul / Sudoeste
E11	IMA	0	0	0	0	16.000	Metropolitana de BH
E12	SIF	1 (1/5)	1 (1/5)	2 (2/10)	20	180.000 <sup>d</sup>	Triângulo Mineiro
E13	SIF	1 (4/5)	1 (3/5)	2 (7/10)	70	130.000 <sup>d</sup>	Zona da Mata
E14	SIF	1 (3/5)	0	1 (3/10)	30	120.000 <sup>d</sup>	Campos das Vertentes
E15	SIF	1 (4/5)	1 (5/5)	2 (9/10)	90	80.000 <sup>d</sup>	Triângulo Mineiro
Total		7 (15/75)	4 (10/75)	11 (25/150)	36,7 (16,67)		

a = Instituto Mineiro de Agropecuária

b = Serviço de Inspeção Federal

c = Número de aves abatidas por dia

d = Produção estimada (dados obtidos de fontes não oficiais)

**Tabela 8.** Resultado da identificação molecular dos isolados suspeitos por carcaça contaminada segundo o abatedouro e ordem de coleta.

Coletas	Tipo de Inspeção	Abatedouro/Isolado	Micro-organismo identificado
1ª COLETA JAN-FEV/2012	IMA	E1 d	<i>Campylobacter jejuni</i>
	IMA	E2 c	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E7 e	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E12 b	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E13 a	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E13 c	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E13 d	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E13 e	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E14 a	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E14 b	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E14 e	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E15 a	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E15 b	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E15 c	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E15 e	<i>Campylobacter jejuni</i>
2ª COLETA AGO-SET/2012	IMA	E2 e	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E12 e	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E13 a	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E13 b	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E13 e	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E15 a	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E15 b	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E15 c	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E15 d	<i>Campylobacter jejuni</i>
	SIF	E15 e	<i>Campylobacter jejuni</i>

IMA = Instituto Mineiro de Agropecuária, SIF = Serviço de Inspeção Federal; a,b,c,d,e = Identificação da carcaça contaminada pertencente a uma unidade amostral.

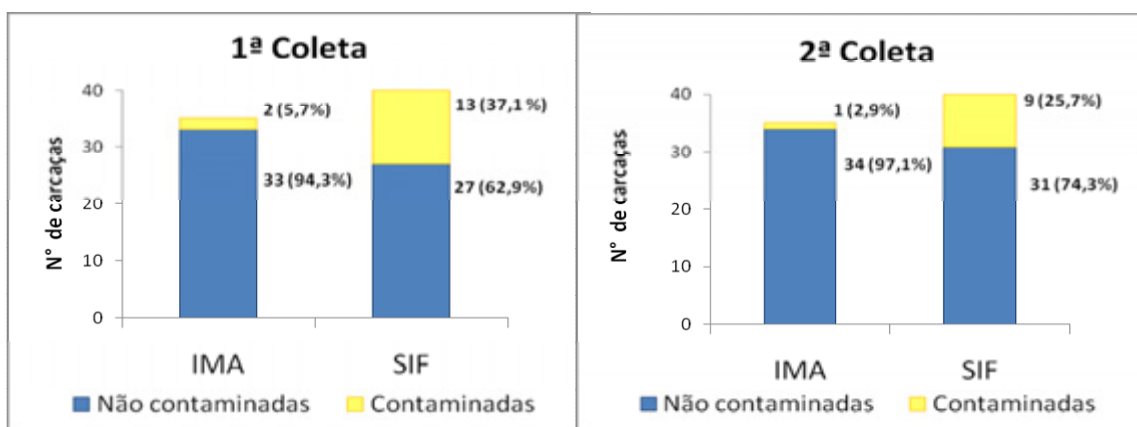
Considerando as Mesorregiões do Estado onde eram localizados estes abatedouros, observou-se que 44 % (11/25) das carcaças positivas para *C. jejuni* provinham de abatedouros do Triângulo Mineiro, 28 % (7/25) da Zona da Mata, 24 % (6/25) Campos das Vertentes e 4 % (1/25) da Mesorregião Metropolitana de BH. Destaca-se ainda que as maiores

proporções de carcaças contaminadas foram observadas em grandes abatedouros, com maiores volumes de aves abatidas por dia (Tabela 7).

Na 1ª coleta foram observadas amostras positivas em 7 abatedouros, dos quais 2 estavam sob inspeção sanitária do IMA e 5 sob inspeção do SIF, resultando em um total de 15 carcaças contaminadas (Tabela 7).

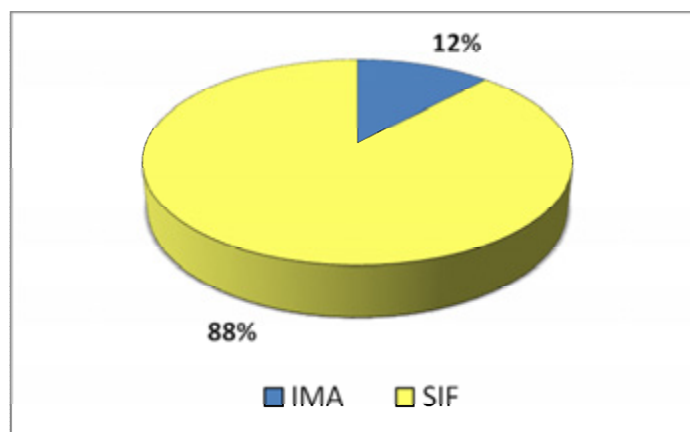
Não foi possível estabelecer uma correlação entre os dados apresentados e as informações obtidas dos abatedouros, pois entre as carcaças coletadas nos 10 abatedouros, apenas 4 % (4/100) apresentaram-se contaminadas com *C. jejuni*, com o maior grau de contaminação em abatedouros que não se dispuseram a responder ao questionário (Tabelas 7 e 8).

Na Figura 13 apresenta-se o tipo de inspeção predominante no abatedouro por coleta e percentual de carcaças contaminadas.



**Figura 13.** Número de carcaças positivas para a presença de *Campylobacter jejuni* em cada coleta e tipo de inspeção dos abatedouros. (IMA = Instituto Mineiro de Agropecuária; SIF = Serviço de Inspeção Federal)

Considerando-se o tipo de inspeção dos abatedouros pesquisados, constatou-se que maior quantidade de amostras positivas (88 %, n = 22) foi de abatedouros com inspeção federal (SIF) e 12 % (n = 3) foram de abatedouros com inspeção estadual (IMA) (Figura 14).



**Figura 14.** Percentual de amostras positivas, de acordo com o tipo de inspeção dos abatedouros. (IMA = Instituto Mineiro de Agropecuária; SIF = Serviço de Inspeção Federal).

Ao se proceder a análise estatística destes dados, pelo teste do Qui-quadrado ( $\alpha = 0,05$ ), quando se comparou a proporção de amostras contaminadas oriundas dos diferentes tipos de inspeção, observou-se que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ), com menor proporção de amostras contaminadas entre as obtidas nos abatedouros com inspeção estadual, em relação àquelas oriundas dos abatedouros com inspeção federal (Tabela 6). Também pode-se observar que houve diferença ao nível de 5 % de significância, entre o tipo de inspeção quando se avaliou a 1ª e 2ª coleta, separadamente.

**Tabela 9.** Teste de comparação de proporções (Qui-quadrado) aplicado aos dados obtidos no estudo, utilizando-se o R-Commander.

Variáveis	Nº total de amostras	Proporção de contaminados	Valor de p	$\chi^2$
Tipo de Inspeção	SIF = 80	27,5 %	0,00014*	14,4857
	IMA = 70	4,3 %		
Tipo de Inspeção na 1ª coleta	SIF = 40	32,5 %	0,001907*	8,3705
	IMA = 35	5,72 %		
Tipo de Inspeção na 2ª coleta	SIF = 40	22,5 %	0,0063*	6,2328
	IMA = 35	2,86 %		
Ordem de coleta	1ª Coleta = 75	20 %	0,1367	1,2
	2ª Coleta = 75	13,3 %		

\* Diferiram a nível de 5 % de significância

Em estudo conduzido por Cortez et al. (2006), não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quanto a presença de *Campylobacter* spp. nos

produtos avaliados de abatedouros de aves com Serviço de Inspeção Federal (SIF) e Inspeção Estadual (SISP), em São Paulo, diferentemente dos dados obtidos neste estudo.

As contagens para *C. jejuni* nas amostras positivas variaram de 3,6 NMP.g<sup>-1</sup> a 36 NMP.g<sup>-1</sup>, com intervalo de confiança de 95 % de probabilidade variando de 0,17 a 94 NMP.g<sup>-1</sup> (Tabela 10).

**Tabela 10.** Contagens de *C. jejuni* pelo número mais provável, com intervalo de confiança de 95 %, separados por coleta.

	Abatedouro	Tipo de Inspeção	Carçaça	Diluição			Número mais provável	Intevalo de confiança (95 %)	
				10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>		Mínimo	Máximo
1ª Coleta	E1	IMA	d	1	1	0	<b>7,4</b>	1,3	20
	E2	IMA	c	2	2	2	<b>35</b>	8,7	94
	E7	SIF	e	1	1	1	<b>11</b>	3,6	38
	E12	SIF	b	1	1	1	<b>11</b>	3,6	38
	E13	SIF	a	1	1	0	<b>7,4</b>	1,3	20
	E13	SIF	c	1	1	0	<b>7,4</b>	1,3	20
	E13	SIF	d	1	0	0	<b>3,6</b>	0,17	18
	E13	SIF	e	1	2	0	<b>11</b>	3,6	42
	E14	SIF	a	1	0	0	<b>3,6</b>	0,17	18
	E14	SIF	b	1	1	1	<b>11</b>	3,6	38
	E14	SIF	e	1	1	0	<b>7,4</b>	1,3	20
	E15	SIF	a	0	1	1	<b>6,1</b>	1,2	18
	E15	SIF	b	1	1	0	<b>7,4</b>	1,3	20
	E15	SIF	c	2	2	1	<b>28</b>	8,7	94
	E15	SIF	e	1	1	1	<b>11</b>	3,6	38
2ª Coleta	E2	IMA	e	1	1	1	<b>11</b>	3,6	38
	E12	SIF	e	2	3	1	<b>36</b>	8,7	94
	E13	SIF	a	0	1	1	<b>6,1</b>	1,2	18
	E13	SIF	b	1	1	0	<b>7,4</b>	1,3	20
	E13	SIF	e	1	1	1	<b>11</b>	3,6	38
	E15	SIF	a	1	1	0	<b>7,4</b>	1,3	20
	E15	SIF	b	2	3	1	<b>36</b>	8,7	94
	E15	SIF	c	1	1	1	<b>11</b>	3,6	38
	E15	SIF	d	2	2	1	<b>28</b>	8,7	94
	E15	SIF	e	1	1	1	<b>11</b>	3,6	38

IMA = Instituto Mineiro de Agropecuária; SIF = Serviço de Inspeção Federal

Quanto aos valores obtidos nas contagens microbianas pelo número mais provável, observou-se após a aplicação do teste de Shapiro-Wilk que os dados não apresentaram distribuição normal ( $p = 2,6 \times 10^{-5}$ ). Também não foi observada correlação entre as contagens obtidas e a Mesorregiões onde eram localizados os abatedouros de origem das amostras.

Estes resultados estão semelhantes aos de outros estudos, em que as contagens variaram de 1,9 a 2,5 UFC.g<sup>-1</sup> (ATANASSOVA et al., 2007), < 10 UFC.g<sup>-1</sup> a 10<sup>3</sup> UFC.g<sup>-1</sup> (HABIB et al., 2012) e 3,5 x 10 UFC.g<sup>-1</sup> até  $\geq 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> (BARÉ et al., 2013), em carcaças avaliadas após *chiller*.

A frequência de positividade de carcaças de frango observada neste estudo foi semelhante a observada em alguns resultados de outros autores brasileiros. Em Belo Horizonte foi observada a ocorrência do agente em 20 % (20/100) das amostras (DIAS et al., 1990); em São Paulo, 8,3 % (5/60) (CARVALHO e COSTA, 1996) e 36 % (18/50) (CARVALHO et al., 2002); em Belém-PA, 8,73 % (11/126) das amostras (CHAVES, 2007).

Em outros estudos os percentuais de isolamento são superiores aos deste estudo, como 83 % (199/241) (JORGENSEN et al.; 2002); 81,8 % (27/33) (ZORMAN e MOZINA, 2002); 71,9 % (194/270) (GHAFIR et al.; 2007); 98,3 % (57/58) (KUANA et al., 2008), 100 % (21) (SIMÕES, 2010); 92 % (52/57) (PERDONCINI, 2012) e 56,3 % (135/240) (KOVALENKO et al., 2013). Essas diferenças de resultados obtidos em diferentes estudos podem estar relacionadas ao grau de controle de qualidade adotado nos abatedouros industriais.

Jorgensen et al. (2002) também observaram que *Campylobacter spp.* é mais prevalente em frangos refrigerados 83 % (199/241) do que *Salmonella spp.* 25 % (60/241). Estes dados colaboram com as afirmativas de que *Campylobacter spp.* é o maior contaminante em frangos e que pode suportar baixas temperaturas mantendo-se viável nos alimentos refrigerados e congelados.

Os resultados deste estudo são semelhantes aos de Kovalenko et al. (2013), que também observaram uma maior proporção de amostras positivas nos meses de verão. Porém, ao comparar a 1ª coleta (n = 75) e a 2ª coleta (n = 75), não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os resultados das diferentes coletas pelo teste do Qui-quadrado (Tabela 9).

Vale ressaltar que as peculiaridades e dificuldades de detecção e enumeração deste micro-organismo faz com que não seja tão comumente pesquisado e torna-se um desafio a adoção de técnicas mais efetivas para este tipo de diagnóstico. As comparações e discussões a respeito da incidência e prevalência partem desta premissa.

Em algumas espécies, como *C. jejuni* e *C. coli*, a diferenciação baseia-se apenas no teste da hidrólise do hipurato e, em alguns casos, a identificação definitiva não é possível com os testes laboratoriais utilizados pela metodologia convencional, fazendo destes organismos candidatos ideais à identificação por PCR (ENGLÉN e KELLEY, 2000; STERN et al., 2001).

Scarcelli et al. (2005a) observaram 6,75 % (5/74) amostras positivas pela técnica de PCR para *C. jejuni* e nenhuma positiva pelo exame bacteriológico, resultado indicativo da susceptibilidade do micro-organismo às condições adversas como o congelamento, aditivos, excessiva contaminação, alta tensão de oxigênio ou ressecamento (SCARCELLI et al., 2005a; FONSECA et al., 2007). Os autores também demonstraram as vantagens da técnica de PCR como técnica mais sensível e específica, pois não é necessário que a bactéria esteja viável e gera maiores índices de detecção.

As metodologias convencionais, de acordo com métodos analíticos oficiais, são muito utilizadas. Entretanto, as técnicas moleculares são cada vez mais adotadas em complementação às tradicionais com o objetivo de proporcionar resultados mais precisos em menor tempo na detecção de patógenos alimentares, bem como em laboratórios de pesquisas e de análises clínicas (MEDEIROS, 2011).

A diferenciação das espécies de *Campylobacter* é difícil associado ao crescimento lento e fastidioso desse patógeno (NAYAK, 2005). Em pesquisa realizada sobre os genomas de vários tipos de micro-organismos concluiu-se que o *C. jejuni* requer maior atenção no que se refere a fisiologia e as propriedades metabólicas, já que elas estão relacionadas com a causa da doença e com o conhecimento da patogenicidade (KELLY, 2008).

Por ser um micro-organismo de difícil cultivo, a combinação da complexidade nutricional associado à característica de microaerofilia faz com

que o *C. jejuni* tenha uma grande importância econômica e médica (MOURA, 2010). Andrade et al. (2010), em estudo sobre comparação de métodos de diagnóstico para patógenos em alimentos, concluíram que o desenvolvimento de técnicas mais precisas são cada vez mais necessárias para melhor elucidação de surtos e estimular os estudos de ocorrência e prevalência deste micro-organismo em alimentos.

Gonçalves et al. (2012) em Campo Mourão-PR, utilizaram o teste imunoenzimático pelo método *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (ELFA) com o sistema automatizado VIDAS® *Campy*, e foi possível detectar uma contaminação de 79,16 % em 24 amostras de frango, o que confirmou a grande incidência de *Campylobacter* em carnes de frangos refrigerados destinados ao consumo humano. Como o limite de detecção do método imunoenzimático é baixo, os autores citaram que foram detectadas mínimas quantidades do micro-organismo, que normalmente não conseguiriam se multiplicar pelo método convencional por se tratar de um agente de difícil cultivo.

### **3.2.2. Avaliação das amostras de água do sistema de resfriamento por imersão**

Foram avaliadas as amostras de água oriundas dos 10 abatedouros que responderam aos questionários, sendo uma amostra da água de abastecimento do abatedouro, uma do *pré-chiller* e uma do *chiller*, totalizando 3 amostras por abatedouro. Em nenhuma das 30 amostras de água foi observada a presença de *Campylobacter* spp. pela metodologia empregada. Mesmo assim, isolou-se uma carcaça com presença de *C. jejuni*, com 11 NMP.g<sup>-1</sup> entre aquelas coletadas em abatedouros que responderam ao questionário.

Os resultados negativos nas amostras de água poderiam ser justificados pela intensidade de cloração realizada nos respectivos abatedouros, pela temperatura da água do *chiller* e *pré-chiller* (Figuras 7 e 11) e/ou pelo alto grau de contaminantes na água dos sistemas de resfriamento, pois *C. jejuni* é um fraco competidor na presença de contaminações muito elevadas de outros micro-organismos.

Resultados diferentes foram encontrados em abatedouro de Belém-PA, com 27,8 % (10/36) (CHAVES, 2007) e em abatedouro de São Paulo, com 26,6 % (15/57) das amostras de água do *chiller* contaminadas com este agente (CARVALHO et al., 2002). Os autores destacaram que o principal ponto de contaminação dos abatedouros pesquisados era a água do *chiller*.

Segundo Lopes (2009), a contaminação cruzada ocorre principalmente durante o resfriamento no *chiller*, pois a contaminação cumulativa de *Campylobacter* no tanque de resfriamento promove o aumento da contaminação superficial do frango com células do micro-organismo presentes na água.

Conforme a Portaria nº 210/1998 do MAPA, a água do *chiller* deve apresentar o mínimo de 5 mg.L<sup>-1</sup> de cloro residual livre (BRASIL, 1998). Mead et al. (1995) verificaram que o aumento na concentração de cloro nas águas de processamento das aves, aliado a melhoria das condições de higiene do abatedouro, promoveram diminuição da contaminação das carcaças.

Nunes et al. (2005) demonstraram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na eficácia do cloro quando avaliaram o efeito do tempo de processamento e concentração de cloro na água de resfriamento (10, 30 e 50 mg.L<sup>-1</sup>) como agente bactericida para *C. jejuni* e outros patógenos.

O impacto do resfriamento por imersão tem sido discutido exaustivamente e gerado algumas contradições, pois a passagem das carcaças pelo tanque de resfriamento pode ser um fator de contaminação cruzada (CARVALHO et al., 2002) ou uma oportunidade para descontaminar as carcaças (MADALOZZO et al., 2007b). Carvalho et al. (2002) e Reich et al. (2008) ressaltaram que o maior ponto de contaminação das carcaças é após a escaldagem e depenagem, e com posterior decréscimo ao passar pelo processo de resfriamento.

Alguns estudos tentam explicar este tipo de decréscimo, como a sensibilidade ao cloro (HARGINS et al., 2004; NUNES et al., 2005; MADALOZZO et al., 2007b), a redução da temperatura (SAUMYA et al., 2004; GEORGSSON et al., 2006; SAMPERS et al., 2007) e a sensibilidade ao oxigênio, alcançando redução de 1 ciclo Log<sub>10</sub> na contagem inicial (GEORGSSON et al., 2006; SAMPERS et al., 2010; PERDONCINI, 2012).

### **3.3. Perfil de resistência a antimicrobianos de *Campylobacter jejuni* isolados de carcaças de frango**

Dentre os 25 isolados das carcaças identificados como *Campylobacter jejuni*, todos obtidos na 2ª coleta (10) e um igual número (10) referentes aos abatedouros da 1ª coleta, foram submetidos ao teste de resistência a 18 antimicrobianos pela técnica de difusão em disco.

Nas Tabelas 11 e 12 podem ser observados os resultados do teste de resistência a antimicrobianos. Em geral, ocorreu alto grau de resistência das estirpes isoladas aos antimicrobianos testados. Todas as cepas (20/20) apresentaram-se resistentes aos antimicrobianos Aztreonam, Cefalotina, Cefoxitina, Sulfametoxazol + Trimetoprim e Vancomicina; e 95 % (19/20) foram resistentes ao Ácido Nalidíxico, à Cefotaxima, à Cefuroxima e à Ciprofloxacina.

Apenas a Polimixina B mostrou-se eficiente contra todas as cepas e os outros antimicrobianos apresentaram diferentes porcentagens de sensibilidade, como Cloranfenicol (95 % - 19/20), Gentamicina (85 % - 17/20), Imipenem, Cefepime e Amoxicilina + Ácido clavulânico (75 % - 15/20).

Os demais antibióticos testados apresentaram diferentes graus de resistência e sensibilidade frente às cepas de *Campylobacter jejuni* isoladas das carcaças de frango (Tabela 11).

**Tabela 11.** Resultados do antibiograma realizado com as 20 cepas de *Campylobacter jejuni* isoladas, de acordo com tipo de antimicrobiano utilizado.

Antibióticos	Identificação das carcaças de origem das cepas de <i>Campylobacter jejuni</i> avaliadas *																			
	1ª Coleta										2ª Coleta									
	1d	2c	7e	12b	13a	13e	14a	14b	15a	15e	2e	12e	13a	13b	13e	15a	15b	15c	15d	15e
Ácido Nalidíxico	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
Amoxicilina + Ác. clavulânico	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
Ampicilina	S	R	S	R	R	R	S	I	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S
Aztreonam	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Cefalotina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Cefepime	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S
Cefotaxima	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Cefoxitina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ceftazidima	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	I	R	R
Cefuroxima	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
Ciprofloxacina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
Cloranfenicol	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Gentamicina	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Imipenem	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Polimixina B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Sulfametoxazol + Trimetoprim	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Tetraciclina	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S
Vancomicina	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

\* R = Resistente; I = Reação Intermediária; S = Sensível.

**Tabela 12.** Resultados do antibiograma realizado com as 20 cepas de *Campylobacter jejuni*, de acordo com a resistência (R), reação intermediária (I) ou sensibilidade (S), segundo o antimicrobiano utilizado.

Classes	Antibióticos	% de cepas		
		R	I	S
Quinolonas	Ácido Nalidíxico	95	0	5
Betalactâmico + Inibidor de betalactamases	Amoxicilina + Ác. clavulânico	25	0	75
Aminopenicilinas	Ampicilina	45	5	50
Monobactam	Aztreonam	100	0	0
Cefalosporina 1ª geração	Cefalotina	100	0	0
Cefalosporina 4ª geração	Cefepime	25	0	75
Cefalosporina 3ª geração	Cefotaxima	95	5	0
Cefalosporina 2ª geração	Cefoxitina	100	0	0
Cefalosporina 3ª geração	Ceftazidima	90	5	5
Cefalosporina 2ª geração	Cefuroxima	95	5	0
Fluorfenicol	Ciprofloxacina	95	0	5
Fenicol	Cloranfenicol	5	0	95
Aminoglicosídeo	Gentamicina	15	0	85
Carbapenens	Imipenem	25	0	75
Polipeptídeo poliênico básico	Polimixina B	0	0	100
Inibidores do ácido fólico	Sulfametoxazol + Trimetoprim	100	0	0
Tetraciclina	Tetraciclina	55	0	45
Glicopeptídeos	Vancomicina	100	0	0

*Campylobacter* spp. é uma das causas mais comuns de doença humana esporádica associado ao consumo de alimentos nos países industrializados, e uma preocupação crescente com o surgimento de cepas resistente a antimicrobianos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) tem considerado como problema de saúde pública a resistência a estas drogas dado o crescente número de relatos em diversos países (OMS, 2004; TAREMI et al., 2006; HAN et al., 2007; SÁNCHEZ et al., 2007; MOURA, 2010).

Deve-se considerar que a indicação de tratamento com antimicrobianos é feita normalmente em casos de campilobacteriose com diarreia severa, prolongada e recidivante, sendo os macrolídeos e as fluoroquinolonas os principais grupos de antibióticos de escolha. No entanto, estas drogas têm sido utilizadas de forma empírica em gastroenterites sem

diagnóstico. Para estes grupos, observou-se que 95 % (19/20) das cepas foram resistentes à Ciprofloxacina (fluoroquinolona).

Smith et al. (1999) também observaram que macrolídeos e fluoroquinolonas são utilizados na criação das aves com finalidade terapêutica e profilática contra várias doenças bacterianas.

Em pesquisa realizada por Engberg et al. (2001) foi demonstrado que existe uma associação entre a introdução de antimicrobianos na alimentação animal com o aumento da resistência de *Campylobacter* isolados de fezes humanas a estes mesmos medicamentos.

Como as aves são produzidas em escala industrial, com alta densidade dos aviários e condições propícias oferecidas, houve o desenvolvimento de várias doenças que acometem os animais, com redução do ganho de peso e da eficiência da produção, podendo em alguns casos aumentar os índices de mortalidade a números inviáveis para o sistema. Para controlar estas enfermidades, diversos antimicrobianos são utilizados na produção, como terapêuticos na ração ou na água.

Ao se considerar cada cepa avaliada (Tabela 13), observou-se que uma cepa apresentou-se resistente a 77,8 % (14/18) dos antimicrobianos testados, outras 6 cepas apresentaram-se resistentes a 72,2 % (13/18) e 5 cepas foram resistentes a 66,7 % (12/18) dos antibióticos testados, destacando-se portanto, uma alta proporção de cepas resistentes a antimicrobianos.

Com relação à sensibilidade, todas as estirpes apresentaram sensibilidade a algum tipo de droga, sendo que 5 delas foram sensíveis a 8/18 (44,4 %) dos antibióticos testados, e 2 foram sensíveis a apenas 4/18 (22,2 %) tipos de drogas antimicrobianas testadas.

Os perfis de resistência verificados neste estudo não demonstraram relação com as Mesorregiões do estado, pois diferentes proporções de resistência/sensibilidade ocorreram nas diversas regiões de origem das amostras, não sendo possível inferir um padrão de resistência em função da localização dos abatedouros.

Moura (2010) avaliou 16 isolados de *C. jejuni* obtidos de carcaças de frango do Distrito Federal – DF, e observou que 5 (31,2 %) delas foram resistentes aos antibióticos Ácido nalidíxico, Estreptomina, Gentamicina,

Eritromicina, Amoxicilina, Cloranfenicol, Ciprofloxacina e Tetraciclina, e que, semelhante ao presente estudo, nenhuma das cepas foi sensível a todas as drogas testadas. Todos isolados avaliadas naquele estudo foram multirresistentes, com diferentes porcentagens de resistência, sendo menor para o Cloranfenicol, semelhante a este trabalho.

**Tabela 13.** Resultados de Resistência e Sensibilidade das 20 cepas de *Campylobacter jejuni* aos 18 antimicrobianos avaliados.

	Tipo de Inspeção	Amostras avaliadas	Mesorregião do Estado	Antibióticos com Resistência		Antibióticos com Sensibilidade	
				N*	%**	N	%
1ª Coleta	IMA	1d	Campos das Vertentes	13	72,2	5	27,8
	IMA	2c	Campos das Vertentes	13	72,2	5	27,8
	SIF	7e	Metropolitana de BH	14	77,8	4	22,2
	SIF	12b	Triângulo Mineiro	13	72,2	5	27,8
	SIF	13a	Zona da Mata	13	72,2	5	27,8
	SIF	13e	Zona da Mata	12	66,7	6	33,3
	SIF	14a	Campos das Vertentes	10	55,6	8	44,4
	SIF	14b	Campos das Vertentes	11	61,1	6	33,3
	SIF	15a	Triângulo Mineiro	12	66,7	6	33,3
	SIF	15e	Triângulo Mineiro	9	50,0	8	44,4
2ª Coleta	IMA	2e	Campos das Vertentes	10	55,6	8	44,4
	SIF	12e	Triângulo Mineiro	11	61,1	7	38,9
	SIF	13a	Zona da Mata	12	66,7	6	33,3
	SIF	13b	Zona da Mata	12	66,7	6	33,3
	SIF	13e	Zona da Mata	12	66,7	6	33,3
	SIF	15a	Triângulo Mineiro	13	72,2	5	27,8
	SIF	15b	Triângulo Mineiro	11	61,1	7	38,9
	SIF	15c	Triângulo Mineiro	9	50,0	8	44,4
	SIF	15d	Triângulo Mineiro	13	72,2	4	22,2
	SIF	15e	Triângulo Mineiro	10	55,6	8	44,4

\* Número de antibióticos

\*\* Porcentagem (N/18) de antibióticos

Dados daquele estudo são semelhantes aos da presente pesquisa, no que se refere à resistência ao cloranfenicol, pois 95 % delas foram sensíveis a este agente e apenas uma cepa foi resistente. Esta baixa resistência pode ser explicada pelo fato de esta droga ter tido seu uso proibido na medicina veterinária pela Instrução Normativa n° 9, de 27 de junho de 2003, do MAPA (BRASIL, 2003).

A resistência de cepas de *C. jejuni* às diversas drogas tem se demonstrado um problema de saúde pública em todo o mundo, fato este relatado por Taremi et al. (2006), Han et al. (2007) e Sánchez et al. (2007), e é uma constante preocupação da Organização Mundial da Saúde.

Portanto, os resultados sobre a resistência a antimicrobianos devem ser mais bem investigados. A crescente prevalência de resistência de *Campylobacter* às quinolonas ameaça o futuro desta classe de drogas com a sua indiscriminada utilização, principalmente no setor avícola.

Vários são os estudos realizados no mundo sobre o perfil de resistência deste agente. No entanto, a comparação dos resultados entre diferentes trabalhos sobre *Campylobacter jejuni* torna-se difícil, pois existe diferença na forma de coletar as amostras, nos métodos de isolamento e no teste de susceptibilidade aos antimicrobianos (MOURA, 2010).

Segundo Ge et al. (2003), os resultados de resistência aos antimicrobianos podem apresentar variação entre espécies e subsespécies de *Campylobacter*, portanto, prejudica a padronização do teste para este agente. Alguns exemplos de trabalhos sobre a resistência do *Campylobacter* aos antimicrobianos de interesse encontram-se a seguir.

Taremi et al. (2006) obtiveram 69,4 % de resistência para ciprofloxacina, 75 % para ácido nalidíxico, 4,2 % para estreptomicina, 45,8 % para tetraciclina e 1,4 % para gentamicina, 11,1 % para amoxicilina, 2,8 % para o cloranfenicol e ausência de resistência para eritromicina, em estudo realizado no Irã.

Han et al. (2007) demonstraram, na Coreia do Sul, a resistência de *C. jejuni* isolados em carcaças de aves aos antibióticos tetraciclina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, ampicilina e para amoxicilina. As cepas avaliadas se apresentaram sensíveis para eritromicina e gentamicina, semelhante a este trabalho, com 85 % das cepas sensíveis a este antibiótico.

Em Trinidad e Tobago, Rodrigo et al. (2007) observaram que 86,5 % das cepas de *C. jejuni*, isoladas de carcaças de aves durante o processo de abate, eram resistentes à ciprofloxacina, 5,4 % à gentamicina, 30 % à estreptomicina e 26,8 % à enrofloxacin, sendo que dados semelhantes a este trabalho foram observados quanto a elevada resistência à ciprofloxacina (95 %).

Mackiw et al. (2012) observaram que de 143 isolados *Campylobacter* spp., 97,9 % apresentaram resistência à ciprofloxacina, 64,3 % à tetraciclina, 9,1 % à eritromicina e 6 % à gentamicina. Além disso, alguns dos isolados testados apresentaram-se multirresistentes, a 3 ou mais dos antibióticos testados.

Adzitey et al. (2012) pesquisam 116 cepas de *Campylobacter* spp. e maioria dos isolados de *C. jejuni* foi resistente à cefalotina (99 %), tetraciclina (96 %), sulfametoxazol / trimetoprim (96 %), e poucas foram resistentes à gentamicina (5 %), cloranfenicol (7 %) e eritromicina (1 %).

Zendeabad et al. (2013) observaram que 96,6 % dos isolados de *Campylobacter* testados foram resistentes a um ou mais agentes antimicrobianos. A resistência a ciprofloxacina foi a mais comum (81,9 %), seguida pelo ácido nalidíxico (73,2 %) e tetraciclina (67,8 %).

Bolton et al. (2013) investigaram a base molecular que definiria o alto nível de resistência às quinolonas e aos macrolídeos apresentado por cepas de *Campylobacter* isolados de aves. Os autores trabalharam com 17 isolados de *Campylobacter* que exibiam alto nível de resistência ao ácido nalidíxico, ciprofloxacina e eritromicina, e observaram que o alto grau de resistência a estes antibióticos é definido por determinadas sequências de determinados aminoácidos, o que ampliou a compreensão da base molecular de resistência às quinolonas e aos macrolídeos em *Campylobacter* spp.. Os autores sugerem ainda que outros fatores que envolvem a estrutura molecular deste gênero devem ser elucidados, para também contribuir na identificação de fenótipos resistentes.

Nobile et al. (2013) observaram a menor resistência para o cloranfenicol (32,6 %) e para a gentamicina (27,9 %) e apenas 20,9 % dos isolados foram sensíveis à ciprofloxacina e à eritromicina. Este estudo destaca que cepas multirresistentes tem se disseminado de forma alarmante, o que indica a urgente necessidade de intervenções em níveis multidisciplinares.

Estudo realizado na Polônia demonstrou que as cepas de *Campylobacter* spp. avaliadas eram mais resistentes à quinolonas e fluoroquinolonas (ácido nalidíxico e ciprofloxacina, 38,3 % cada) seguido de estreptomicina (24,3 %) e tetraciclina (20,9 %). A resistência à eritromicina e

à gentamicina foi observada em 4,3 % e 2,6 % das cepas, respectivamente (WIECZOREK et al., 2013).

Estratégias para controlar cepas de *Campylobacter* resistentes aos antibióticos devem começar no pré-abate, na produção primária da cadeia alimentar. Em pesquisas futuras deve-se tentar identificar os mecanismos que desempenham papel importante na resistência aos antimicrobianos pelo *Campylobacter*, assim como entender melhor como as mudanças que conferem esta resistência específica não conferem resistência universal a todos os compostos dentro de uma mesma classe de antibióticos.

#### **3.4. Ocorrência e perfil de resistência a antimicrobianos dos contaminantes entéricos isolados no cultivo de *Campylobacter* spp.**

Investigou-se 86 contaminantes que, após análises morfológicas (coloração de Gram e visualização em microscópio óptico) e testes bioquímicos, foi possível isolar 26 diferentes micro-organismos suspeitos, que encaminhados para identificação molecular e para avaliação da resistência antimicrobiana.

Quanto a origem destes isolados, observou-se que 14/26 (53,85 %) eram de amostras oriundas de abatedouros sob inspeção do SIF e 12/26 (46,15 %) sob inspeção do IMA. Também se observou que 9/26 (34,62 %) foram isolados das carcaças da 1ª coleta, mesmo número 9/26 (34,62 %) das carcaças da 2ª coleta e que 8/26 amostras (30,77 %) foram das amostras de água, sendo que somente a amostra obtida do E8 foi isolado da água do *chiller*, as demais foram das amostras de água do pré-*chiller* (Tabela 14).

Após a identificação molecular, observou-se que tratavam-se de 7 diferentes espécies, como pode ser observado na Tabela 14. Metade (13/26) dos isolados avaliados foram identificados como *Proteus mirabilis*, 26,9 % (7/26) como *Escherichia coli*, 7,7 % (2/26) como *Klebsiella pneumoniae*. As demais espécies foram identificadas como *Escherichia fergusonii*, *Enterobacter asburiae*, *Shigella sonnei* e *Vibrio* sp., com um isolado de cada (3,8 %).

**Tabela 14.** Tipo de Inspeção e origem das 26 cepas de contaminantes das carcaças de frango e amostras de água do sistema de resfriamento.

Origem das amostras	Abatedouro	Mesorregião do Estado	Tipo de inspeção	Espécies identificadas
Carcaças da 1ª Coleta (9 isolados)	E4	Metropolitana de BH	SIF*	<i>Proteus mirabilis</i>
	E5	Metropolitana de BH	SIF	<i>Proteus mirabilis</i>
	E6	Sul / Sudoeste	IMA**	<i>Shigella sonnei</i>
	E7	Metropolitana de BH	SIF	<i>Proteus mirabilis</i>
	E8	Metropolitana de BH	SIF	<i>Escherichia coli</i>
	E9	Sul / Sudoeste	IMA	<i>Escherichia coli</i>
	E11	Metropolitana de BH	IMA	<i>Escherichia fergusonii</i>
	E12	Triângulo Mineiro	SIF	<i>Escherichia coli</i>
	E12	Triângulo Mineiro	SIF	<i>Proteus mirabilis</i>
Água 2ª Coleta (8 isolados)	E1	Campos das Vertentes	IMA	<i>Proteus mirabilis</i>
	E2	Campos das Vertentes	IMA	<i>Proteus mirabilis</i>
	E3	Oeste de Minas	IMA	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	E5	Metropolitana de BH	SIF	<i>Proteus mirabilis</i>
	E6	Sul / Sudoeste	IMA	<i>Vibrio</i> sp.
	E7	Metropolitana de BH	SIF	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	E8***	Metropolitana de BH	SIF	<i>Proteus mirabilis</i>
	E10	Sul / Sudoeste	IMA	<i>Proteus mirabilis</i>
Carcaças da 2ª Coleta (9 isolados)	E1	Campos das Vertentes	IMA	<i>Proteus mirabilis</i>
	E2	Campos das Vertentes	IMA	<i>Escherichia coli</i>
	E3	Oeste de Minas	IMA	<i>Proteus mirabilis</i>
	E4	Metropolitana de BH	SIF	<i>Proteus mirabilis</i>
	E7	Metropolitana de BH	SIF	<i>Proteus mirabilis</i>
	E9	Sul / Sudoeste	IMA	<i>Escherichia coli</i>
	E12	Triângulo Mineiro	SIF	<i>Escherichia coli</i>
	E13	Zona da Mata	SIF	<i>Enterobacter asburiae</i>
E15	Triângulo Mineiro	SIF	<i>Escherichia coli</i>	

\* SIF = Serviço de Inspeção Federal

\*\* IMA = Instituto Mineiro de Agropecuária.

\*\*\* = Amostra de água do *chiller*, as demais são do pré-*chiller*.

*Proteus mirabilis* é um patógeno oportunista presente em feridas e infecções do trato respiratório em indivíduos imuno-comprometidos. É a terceira causa mais comum de infecções complicadas do trato urinário e a segunda causa mais comum de bacteriúria associada a longos prazos de uso de cateter em pacientes cateterizados (ROZALSKI et al., 1997; JACOBSEN et al., 2008).

Casos de tuberculose multirresistente causada por *P. mirabilis* tem sido cada vez mais relatados nos últimos anos (KIM et al., 2005; PARK et al., 2006; ARAGÃO et al., 2008; TONKIC et al., 2010).

A maior preocupação com este agente é o aumento de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos e às fluoroquinolonas, uma vez que estes antimicrobianos são opções de tratamento contra infecções clínicas típicas provocadas por *Proteus*. Diferente de outros patógenos Gram-negativos, o desenvolvimento da resistência aos antibióticos em *P. mirabilis* tem sido associado ao uso clínico de antibióticos em humanos, acreditando-se que não seja associado a utilização de agentes antimicrobianos em animais (TUMBARELLO et al., 2012).

Sabe-se da contaminação por *P. mirabilis* de diferentes tipos de alimentos, em particular, os produtos à base de carne, como carne de suíno e frango, que tem sido implicados como veículos deste agente (KIM et al., 2005). Wang et al. (2010) relataram que *P. mirabilis* é associado a intoxicação alimentar, e a sua prevalência em alimentos e no ambiente pode contribuir para infecções clínicas em humanos.

No entanto, pouco se sabe sobre a taxa de contaminação de *P. mirabilis* em produtos cárneos e sua susceptibilidade a antimicrobianos, em especial, os agentes geralmente usados para o tratamento de infecções clínicas por *P. mirabilis* (WONG et al., 2013).

A espécie *Escherichia coli* foi a segunda mais frequente (26,9 %) dentre os isolados, sendo o principal agente etiológico de infecções entéricas causadas pela água e alimentos contaminados, principalmente em grupos populacionais que não dispõem de sistema de saneamento, ou se apresentam vulneráveis como os idosos, as crianças e os imunocomprometidos (VIEIRA et al., 2004). Esta espécie é ainda o indicador de contaminação de origem fecal mais comumente utilizado, pois ocorre em grande número na microbiota intestinal de humanos e animais (AMARAL et al., 2003; VASCONCELOS et al., 2010).

*E. coli* está incluída no grupo dos coliformes totais e dos coliformes termotolerantes. Seu habitat natural é o trato gastrointestinal de animais de sangue quente, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais. Foi inicialmente introduzida como indicador em 1892,

na Austrália, e em 1895 nos Estados Unidos, servindo para indicar a contaminação da água por matéria fecal e, conseqüentemente, alertar para a presença potencial de patógenos entéricos, como *Salmonella*, por exemplo. Da água foram estendidos aos alimentos, e atualmente, é utilizada como indicador de contaminação fecal em alimentos *in natura*, mas não em alimentos processados (SILVA et al., 2010).

O trato gastrointestinal é o principal reservatório de *E. coli* e já foi responsável por surtos, dentre outros alimentos, a carne bovina mal-cozida e outros produtos à base de carne, inclusive de aves, leite cru, hortaliças (especialmente aquelas consumidas cruas), molhos para saladas, maionese e suco de maçã. Geralmente a contaminação cruzada das carcaças se dá no momento do abate, quando há contato das vísceras intestinais com a carne e com a superfície de equipamentos e utensílios na planta de processamento (USDA, 1994; SANDERSON et al., 1995; SILVA et al., 2010).

A outra espécie identificada em 7,7 % das amostras foi *Klebsiella pneumoniae* um bacilo Gram-negativo, membro da família Enterobacteriaceae, encontrado em locais como água, solo, plantas e esgoto (PODSCHUM e ULLMANN, 1998). A contaminação da água, alimentos e meio ambiente é uma via importante de sua propagação, seja de pessoas ou de animais, e é, portanto, uma área crucial para o controle.

A resistência apresentada por essa bactéria a antimicrobianos nos últimos anos tornou-se um problema de saúde pública e preocupação em todos os campos da saúde. Notícias sobre mortes provocadas por esta espécie, produtora da enzima carbapenemase (KPC), provocaram alarde em várias partes do Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Já *Escherchia fergusonii* foi recentemente reconhecida como novo agente patogênico, pertencente a família Enterobacteriaceae (FARMER et al.; 1985, FRENEY et al., 1987; KOTH et al., 2012), e está intimamente relacionada à *E. coli* podendo ser diferenciada a partir de alguns testes bioquímicos. *E. fergusonii* têm sido isolada de amostras clínicas e do conteúdo intestinal de humanos e animais de sangue quente. São patógenos oportunistas e têm sido ocasionalmente associados a infecções de feridas em humanos. Em estudo realizado com material clínico, a maioria foi isolada

de infecção de feridas, seguido de urina, fluido pleural e do sangue (MAHAPATRA et al., 2005).

*Shigella sonnei*, um bacilo gram-negativo, não móvel e não formador de esporos, é responsável por cerca de 90 % dos casos de shigelose, doença bacteriana aguda que envolve o intestino delgado, conhecida como disenteria bacilar. Algumas cepas são responsáveis por uma taxa de letalidade de 10 a 15 % e, produz uma enterotoxina tipo Shiga que pode causar a síndrome hemolítico-urêmica (SHU), a Doença de Reiter e artrite reativa (FDA/CFSAN, 2003; SES-SP, 2013).

De distribuição mundial, estima-se que shigelose é responsável por cerca de 600.000 mortes no mundo; cerca de dois terços dos casos e a maioria de mortes ocorre em crianças menores de 10 anos de idade. Ocorre em locais com precárias condições de higiene e problemas de saneamento básico; é endêmica em países em desenvolvimento e de clima tropical, especialmente, as espécies *S. sonnei* e *S. dysenteriae* (SES-SP, 2013).

Todo o tipo de alimento tem sido relatado como via de transmissão, principalmente, quando muito manipulado por mãos mal lavadas de portadores sem higiene. Água contaminada por fezes e manipuladores sem higiene são a causa mais comum de contaminação alimentar e surtos por essa bactéria (SES-SP, 2013; APHA, 1995).

*Enterobacter asburiae* pertence à família Enterobacteriaceae e faz parte da microbiota normal do trato gastrointestinal, e também tem sido isolado em água e solo, sendo mais frequentemente encontrado em pacientes imunocomprometidos, e está associado com a utilização crônica de antimicrobianos, estado geral debilitado e complicações respiratórias (KOTH et al., 2012). A significância de *Enterobacter asburiae* na área de alimentos ainda não é conhecida, e necessita de mais estudos sobre a sua ocorrência em alimentos (KOTH et al., 2012).

Várias espécies de *Vibrio* sp. são patógenos de seres humanos, incluindo *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus*, conhecidos por causar doenças originadas de frutos do mar, como septicemia e infecções de feridas.

Causada pela espécie *Vibrio cholera*, a cólera é uma doença diarreica aguda que ocorre quando o agente coloniza o intestino delgado e produz

enterotoxinas. Estima-se que de 3 a 5 milhões de casos e mais de 100 mil mortes ocorrem a cada ano, em todo o mundo. O *V. cholerae* é geralmente encontrado em água ou alimentos que tenham sido contaminados por fezes de uma pessoa infectada com cólera, sendo que ocorre mais comumente em lugares com tratamento de água inadequado, falta de saneamento básico e higiene inadequada. Muitos antimicrobianos são ineficazes para o tratamento da cólera (CDC, 2013a).

*V. vulnificus* pode causar doenças em pessoas que consomem mariscos contaminados ou ter uma ferida aberta que está exposta à água do mar. Em pessoas saudáveis, a ingestão de *V. vulnificus* pode causar vômitos, diarreia e dor abdominal. Em pessoas imunodeprimidas pode causar septicemia e ser potencialmente fatal em cerca de 50 % dos casos (CDC, 2013b).

Já o *V. parahaemolyticus*, quando ingerido, causa diarreia aquosa muitas vezes com cólicas abdominais, náuseas, vômitos, febre e calafrios. A doença grave é rara e ocorre mais comumente em pessoas com sistema imunológico debilitado. A maioria das pessoas é infectada pela ingestão de mariscos crus ou mal cozidos, principalmente ostras (CDC, 2013c).

Em relação ao antibiograma realizado com estes 26 isolados, pode-se observar na Tabela 15 o perfil de resistência e sensibilidade de cada um deles.

Observou-se que dois isolados de *E. coli* da primeira coleta apresentaram-se resistentes a 72,22 % (13/18) dos agentes antimicrobianos testados. Também foi um isolado de *E. coli*, obtido na 2ª coleta, que apresentou maior porcentagem de sensibilidade aos antimicrobianos testados - 77,78 % (14/18).

Os perfis de resistência observados também não demonstraram relação com as Mesorregiões do Estado, pois diferentes proporções de resistência/sensibilidade ocorreram nas diversas regiões de origem das amostras. Assim, não é possível inferir um padrão de resistência em função da localização dos abatedouros. Pode-se observar uma maior proporção de cepas resistentes na primeira coleta em relação a segunda, porém, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) pelo teste do Qui-quadrado ( $\alpha =$

0,05), quando se comparou a proporção de cepas resistentes e sensíveis das diferentes coletas.

**Tabela 15.** Resultado do antibiograma realizado com os contaminantes isolados, de acordo com a resistência (R), reação intermediária (I) ou sensibilidade (S), por origem das amostras e espécies identificadas.

Origem amostras	Abatedouro	Cepas de contaminantes isolados	R N* (%)**	I N (%)	S N (%)
Carcaças 1ª Coleta	E4	<i>Proteus mirabilis</i>	11 (61,11)	1 (5,56)	6 (33,33)
	E5	<i>Escherichia coli</i>	13 (72,22)	0 (0)	5 (27,78)
	E6	<i>Proteus mirabilis</i>	11 (61,11)	3 (16,67)	4 (22,22)
	E7	<i>Proteus mirabilis</i>	10 (55,56)	5 (27,78)	3 (16,67)
	E8	<i>Proteus mirabilis</i>	10 (55,56)	3 (16,67)	5 (27,78)
	E9	<i>Escherichia coli</i>	13 (72,22)	0 (0)	5 (27,78)
	E11	<i>Escherichia coli</i>	8 (44,44)	1 (5,56)	9 (50)
	E12	<i>Enterobacter asburiae</i>	7 (38,89)	3 (16,67)	8 (44,44)
	E12	<i>Escherichia coli</i>	12 (66,67)	0 (0)	6 (33,33)
Água 2ª Coleta	E1	<i>Proteus mirabilis</i>	9 (50)	3 (16,67)	6 (33,33)
	E2	<i>Proteus mirabilis</i>	9 (50)	4 (22,22)	5 (27,78)
	E3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11 (61,11)	1 (5,56)	6 (33,33)
	E5	<i>Proteus mirabilis</i>	10 (55,56)	2 (11,11)	6 (33,33)
	E6	<i>Vibrio sp.</i>	11 (61,11)	1 (5,56)	6 (33,33)
	E7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11 (61,11)	0 (0)	7 (38,89)
	E8***	<i>Proteus mirabilis</i>	10 (55,56)	3 (16,67)	5 (27,78)
	E10	<i>Proteus mirabilis</i>	9 (50)	2 (11,11)	7 (38,89)
Carcaças 2ª Coleta	E1	<i>Proteus mirabilis</i>	11 (61,11)	1 (5,56)	6 (33,33)
	E2	<i>Escherichia coli</i>	4 (22,22)	0 (0)	14 (77,78)
	E3	<i>Proteus mirabilis</i>	5 (27,78)	1 (5,56)	12 (66,67)
	E4	<i>Shigella sonnei</i>	4 (22,22)	1 (5,56)	13 (72,22)
	E7	<i>Proteus mirabilis</i>	5 (27,78)	1 (5,56)	12 (66,67)
	E9	<i>Proteus mirabilis</i>	6 (33,33)	2 (11,11)	10 (55,56)
	E12	<i>Escherichia coli</i>	6 (33,33)	1 (5,56)	11 (61,11)
	E13	<i>Escherichia fergusonii</i>	5 (27,78)	1 (5,56)	12 (66,67)
E15	<i>Escherichia coli</i>	5 (27,78)	0 (0)	13 (72,22)	

\* Número de antibióticos

\*\* Porcentagem (N/18) de antibióticos

Em relação aos tipos de antimicrobianos avaliados (Tabela 16), observou-se que todas cepas de contaminantes avaliadas foram resistentes

ao Ácido Nalidíxico e à Vancomicina, 92,3 % foram resistentes à Sulfametoxazol + trimetoprim e 88,5 % foram resistentes à Tetraciclina. Observou-se maior sensibilidade dos isolados ao Aztreonam (96,2 %) seguido pela Cefepime e Cloranfenicol, ambos com 80,8 % de contaminantes sensíveis. Ao observar os dados das Tabelas 16 e 17, pode-se notar um número considerável de contaminantes multirresistentes, a pelo menos 4 bases de antibióticos.

**Tabela 16.** Resultado do antibiograma realizado com as 26 cepas de contaminantes isolados, de acordo com a resistência (R), reação intermediária (I) ou sensibilidade (S), segundo o antimicrobiano utilizado.

Antibióticos	Resultado baseado no halo de inibição (%)		
	R	I	S
Ácido Nalidíxico	100	0	0
Amoxicilina + Ác. clavulânico	46,15	26,92	26,92
Ampicilina	80,77	0	19,23
Aztreonam	3,85	0	96,15
Cefalotina	69,23	3,85	26,92
Cefepime	15,38	3,85	80,77
Cefotaxima	65,38	0	34,62
Cefoxitina	19,23	15,38	65,38
Ceftazidima	23,08	26,92	50
Cefuroxima	34,62	11,54	53,85
Ciprofloxacina	38,46	26,92	34,62
Cloranfenicol	19,23	0	80,77
Gentamicina	15,38	7,69	76,92
Imipenem	3,85	30,77	65,38
Polimixina B	53,85	0	46,15
Sulfametoxazol + Trimetoprim	92,31	0	7,69
Tetraciclina	88,46	0	11,54
Vancomicina	100	0	0

O termo bactéria multirresistente é usado para determinar os organismos resistentes a um número expressivo de antimicrobianos. A expressão de resistência em bactérias pode ser originada de diversas formas, como por exemplo, o uso inadequado de antimicrobianos (DIENSTMANN et al., 2010).

Desta forma, as infecções causadas por *K. pneumoniae* multirresistentes representam um sério problema de saúde pública e um grande desafio terapêutico (KEYNAN e RUBINSTEIN, 2007). Por apresentar um importante mecanismo de resistência, a pesquisa desta espécie multirresistente é relevante a fim de limitar sua disseminação e assim contribuir para a redução dos índices de morbidade e mortalidade ligados a diferentes doenças infecciosas (DIENSTMANN et al., 2010).

Bactérias multirresistentes entéricas foram isoladas de carcaças de frango e produtos cárneos do varejo de Stillwater, Oklahoma - EUA. Entre as espécies isoladas, *Klebsiella pneumoniae* foi a espécie multirresistente isolada a partir da maioria das amostras avaliadas, e 132 isolados de *K. pneumoniae* foram caracterizados quanto a resistência a antibióticos. Todos os isolados foram resistentes à ampicilina, tetraciclina, estreptomicina, gentamicina e canamicina (SHIN-HEE et al., 2005).

No trabalho de Vasconcelos et al. (2010), sobre a resistência antimicrobiana de 43 cepas de *Escherichia coli*, os autores observaram resistência à tetraciclina (25,6 %), ao sulfazotrin (18,6 %), ao ácido nalidixíco (9,3 %) e a ciprofloxacina (4,7 %). Nenhuma resistência foi observada aos betalactâmicos. Nove (21 %) cepas apresentaram multirresistência e 67,4 % delas apresentou sensibilidade a todos 8 antimicrobianos testados.

Wong et al. (2013) avaliaram a prevalência de *P. mirabilis* em carcaças de frango e a sua susceptibilidade aos antimicrobianos mais utilizados na produção avícola. Observaram que 50 isolados obtidos no estudo apresentaram-se resistentes a um amplo espectro de agentes antimicrobianos como a tetraciclina (100 %), sulfametoxazol (80 %), cloranfenicol (66 %), ácido nalidixíco (66 %), ampicilina (60 %), estreptomicina (56 %), a ciprofloxacina (52 %), canamicina (46 %), gentamicina (38 %), a ceftriaxona (36 %), cefotaxima (34 %), ceftiofur (22 %), e amoxicilina+ácido clavulânico (16 %). Os autores destacaram ainda que o alto grau de resistência a antimicrobianos de *P. mirabilis* isolados de alimentos pode representar uma ameaça potencial para a saúde pública. *P. mirabilis* é geralmente susceptível à maioria dos antibióticos, no entanto 10 % a 20 % das cepas *P. mirabilis* também são resistentes às cefalosporinas de primeira geração e ampicilina (FRÉNOD, 2006).

**Tabela 17.** Resultado do antibiograma das espécies isoladas como contaminantes, segundo o antimicrobiano utilizado.

Antibióticos	<i>Proteus mirabilis</i> (%)			<i>Escherichia coli</i> (%)			<i>Klebsiella pneumoniae</i> (%)			<i>Escherichia fergusonii</i> (%)			<i>Enterobacter asburiae</i> (%)			<i>Shigella sonnei</i> (%)			<i>Vibrio sp.</i> (%)		
	R*	I*	S*	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Ácido Nalidíxico	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Amoxicilina + Ác. clavulânico	53,8	16,7	23,1	42,9	28,6	28,6	50	50	0	0	100	0	100	0	0	0	0	100	0	0	100
Ampicilina	76,9	0	23,1	85,7	0	14,3	100	0	0	100	0	0	100	0	0	0	0	100	100	0	0
Aztreonam	0	0	100	0	0	100	50	0	50	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100
Cefalotina	76,9	0	23,1	57,1	0	42,9	100	0	0	0	0	100	100	0	0	0	100	0	0	0	0
Cefepime	15,4	5,6	76,9	0	0	100	50	0	50	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	0	0
Cefotaxima	76,9	0	23,1	57,1	0	42,9	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	0	0
Cefoxitina	7,7	22,2	61,5	42,9	0	57,1	0	0	100	0	0	100	100	0	0	0	0	100	0	0	100
Ceftazidima	7,7	33,3	46,2	42,9	0	57,1	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	100	0
Cefuroxima	23,1	16,7	53,8	57,1	0	42,9	50	0	50	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	0	0
Ciprofloxacina	23,1	33,3	30,8	71,4	0	28,6	50	0	50	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	100
Cloranfenicol	7,7	0	92,3	28,6	0	71,4	50	0	50	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	0	0
Gentamicina	15,4	5,6	76,9	14,3	0	85,7	50	0	50	0	0	100	0	100	0	0	0	100	0	0	100
Imipenem	7,7	38,9	38,5	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	100	0	0	0	100	0	0	100
Polimixina B	100	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	100	0	0
Sulfametoxazol + Trimetoprim	100	0	0	85,7	0	14,3	100	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0	100	0	0
Tetraciclina	100	0	0	85,7	0	14,3	50	0	50	100	0	0	0	0	100	100	0	0	100	0	0
Vancomicina	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0

\* R = Resistente; I = Reação Intermediária; S = Sensível.

Segundo Carneiro et al. (2007), os plasmídeos podem carrear determinantes de resistência simultânea a várias drogas, levando ao fenômeno de seleção cruzada e aumentando o número de bactérias multirresistentes em determinado ambiente.

A Tabela 17 apresenta o resultado do antibiograma de cada espécie isolada como contaminantes das amostras de carcaças de frango e água do sistema de resfriamento aos 18 antibióticos avaliados.

Pode-se observar que todas as 13 cepas de *P. mirabilis* foram resistentes ao Ácido Nalidíxico, Polimixina B, Sulfametoxazol + trimetoprim, Tetraciclina e à Vancomicina.

Destaca-se que, nos meios de cultura Caldo Preston e Ágar Campy, foram adicionados suplementos seletivos contendo Lactato de trimetoprim [20 mg.L<sup>-1</sup>], Vancomicina [20 mg.L<sup>-1</sup>] e Polimixina B [2.500 IU.L<sup>-1</sup>], ou seja, três destes antibióticos que estas amostras são resistentes. A Cefalotina [15 mg.L<sup>-1</sup>] também foi um dos antibióticos suplementados, e as cepas avaliadas também apresentaram alta resistência (76,9 %).

Todas as 13 estirpes de *P. mirabilis* apresentaram sensibilidade ao Aztreonam, e aos demais antibióticos testados as cepas apresentaram variáveis graus de sensibilidade e resistência (Tabela 17).

Quanto aos 7 isolados de *E. coli*, todos apresentaram resistência ao Ácido Nalidíxico e à Vancomicina, e sensibilidade ao Aztreonam, Cefepime, Imipenem e Polimixina B.

As duas amostras de *K. pneumoniae* apresentaram-se resistentes ao Ácido Nalidíxico, Ampicilina, Cefalotina, Cefotaxima, Ceftazidima, Sulfametoxazol + trimetoprim e à Vancomicina, e sensíveis à Cefoxitina, Imipenem e Polimixina B.

Com relação ao perfil de multirresistência, foi observado que todos isolados apresentaram resistência a uma combinação de agentes antimicrobianos incluindo os de última geração, como a Cefepime (15,4 %), sugerindo que a utilização de determinados agentes antimicrobianos, principalmente de amplo espectro de ação, contribui para o aparecimento de resistência (MOTA et al., 2005).

A resistência às quinolonas (ácido nalidíxico e o ciprofloxacino) tem emergido como um importante problema de saúde pública, resultante da sua

livre utilização na aquicultura e na produção animal (JACOBY, 2005; VASCONCELOS et al., 2010).

O uso indiscriminado e constante de antibióticos em medicina humana e veterinária tem determinado o aumento de resistência bacteriana, interferindo no tratamento efetivo das infecções por estes agentes. A resistência bacteriana pode ser transferida por mecanismos diversos, podendo estabelecer-se entre micro-organismos de uma mesma população ou de diferentes populações, como da microbiota animal para humana e vice-versa. O desenvolvimento de resistência bacteriana, além de determinar menor eficácia da droga, também representa um potencial de risco à saúde pública, uma vez que o contato dos homens com os animais pode aumentar a ocorrência de resistência da microbiota destas espécies avaliadas (BACCARO et al., 2002).

Com relação à situação relatada, não se pode descartar que os perfis de resistência constatadas estejam associados ao uso, não controlado ou não assistido, de antimicrobianos na avicultura de corte, o que propicia o aparecimento de cepas resistentes destes micro-organismos pesquisados, e dificulta o efetivo controle.

Embora não se disponha de dados científicos relevantes sobre possíveis relações entre o uso de antimicrobianos em animais de produção e o aumento de resistência em bactérias isoladas dos seres humanos, esse é um aspecto de saúde pública que tem sido motivo de preocupação de organismos internacionais como a OMS, FAO, OIE e *Codex Alimentarius*.

A presente pesquisa traz dados relevantes à comunidade científica e aos gestores de risco, indicando a necessidade de continuidade ao presente estudo, ampliando o seu contexto, de modo a contemplar outras sequências de monitoramento tanto de *Campylobacter* quanto de outros contaminantes entéricos da carcaça de frango, assim como de outros patógenos com comprovada intervenção na cadeia produtiva de frangos.

#### 4. CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou a presença de *Campylobacter jejuni* em amostras de frangos abatidos no estado de Minas Gerais, servindo de alerta quanto a possibilidade de veiculação deste patógeno por este produto.

Observou-se que 36,7 % (11/30) das unidades amostrais apresentaram contaminadas pelo agente pesquisado, no entanto, as contagens foram relativamente baixas, o que não descarta a necessidade de cuidados quanto a contaminação, uma vez que a dose infectante também é baixa.

Estes dados podem servir de alerta para a saúde pública, uma vez que a contaminação por *C. jejuni* constitui-se em um perigo para o consumo de alimentos à base de frango mal cozido ou pela contaminação cruzada durante a manipulação de alimentos crus, considerado-se que é um dos principais fatores de risco para infecções por este agente.

Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o tipo de inspeção do abatedouro, sendo que em abatedouros com inspeção federal (SIF), as carcaças apareceram mais frequentemente contaminadas do que as da inspeção estadual (IMA).

A detecção e quantificação pelo método bacteriológico do número mais provável associado ao plaqueamento diferencial mostraram-se uma técnica possível para a quantificação deste micro-organismo, porém mais estudos devem ser realizados para ajustes na técnica a ser empregada, assim como testes de validação do método, uma vez que a implementação de métodos seguros e rápidos na detecção deste patógeno alimentar em carne de frango poderá contribuir para o aprimoramento de sistemas de segurança de alimentos, dado o seu impacto na saúde pública.

Alguns estabelecimentos não atendem as recomendações para garantia da qualidade do processo de abate, principalmente no que diz respeito à temperatura e teor de cloro da água dos resfriadores por imersão.

Todas cepas de *C. jejuni* isoladas demonstraram resistência às diversas bases farmacológicas testadas, sendo que algumas cepas apresen-

taram 72,2 % de resistência, podendo se tornar um problema para a clínica médica.

Este estudo apresenta ainda informações sobre contaminantes entéricos que desenvolveram-se nas condições restritivas para cultivo de *C. jejuni*, sendo mais os frequentes *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Em relação a resistência antimicrobiana, todos contaminantes avaliados foram resistentes ao Ácido nalidíxico e à Vancomicina, e maior sensibilidade foi observada no Aztreonam.

Os resultados apontam para a necessidade de um efetivo monitoramento da prevalência e resistência a antibióticos de bactérias zoonóticas em animais e humanos, bem como de alimentos. Relatórios de vigilância da resistência aos antimicrobianos em *Campylobacter* e contaminantes entéricos podem fornecer informações importantes para balizar ações destinadas a reduzir a ocorrência de resistência.

Estes dados podem contribuir para um possível estabelecimento de medidas de prevenção e controle, tanto de *C. jejuni* quanto de outros contaminantes entéricos nas carcaças de frango, bem como alertar as autoridades de saúde quanto ao uso indiscriminado de antibióticos podendo comprometer a eficácia das drogas para o tratamento de infecções bacterianas humana e animal.

Por fim, sugere-se a realização de mais estudos para se averiguar a origem da alta resistência observada em todas as cepas isoladas.

## REFERÊNCIAS

ADZITEY, F.; GULAM, R.A; NURUL, H.A.; TRISTAN, C.C.; JANET, C. Prevalence, antibiotic resistance and RAPD typing of *Campylobacter* species isolated from ducks, their rearing and processing environments in Penang, Malaysia. **International Journal of Food Microbiology**, v.154, n.3, p.197–205, 2012.

ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v.215, n. 3, p.403-410, 1990.

AMARAL, L.A.; NADER FILHO, A.; ROSSI JUNIOR, O.D.; FERREIRA, F.L.A.; BARROS, L.S.S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Revista de Saúde Pública**, v.37, n.4, p.37-40, 2003.

ANDRADE, R.B.; GEMELLI, T.; DALL ONDER, L.P.; CRISTINA, K.; BRITO, T. de; BARBOZA, A.A.L.; BRITO, B.G. de. Métodos Diagnósticos para os Patógenos Alimentares: *Campylobacter* sp., *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 741-750, 2010.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4<sup>a</sup> ed. Washington-DC: APHA. 2001. 676p.

ARAGÓN, L.M.; MIRELIS, B.; MIRÓ, E.; MATA, C.; GÓMEZ, L.; RIVERA, A.; COLL, P.; NAVARRO, F. Increase in beta-lactam-resistant *Proteus mirabilis* strains due to CTX-M- and CMY-type as well as new VEB- and inhibitor-resistant TEM-type beta-lactamases. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.61, n.5, p.1029–1032, 2008.

BAM. Bacteriological Analytical Manual Online. Appendix 2 – Most Probable Number from Serial Dilutions. In: **US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION** (FDA). Revision July 2003. Disponível em: < <http://vm.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html> > Acesso em 19/11/12.

BARÉ, J.; UYTENDAELE, M.; HABIB, I.; DEPRAETERE, O.; HOUF, K.; DE ZUTTER, L. Variation in *Campylobacter* distribution on different sites of broiler carcasses. **Food Control**, v.32, n.1, p.279-282, 2013.

BEUTIN, L.; ZIMMERMAN, S.; GEIER, K. Human infections with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* other than serogroup O157 in Germany. **Emerging Infectious Diseases**, v.4, p. 635-639, 1998.

BIASI, R.S.; MACEDO, R.E.F.; MALAQUIAS, M.A.S.; FRANCHIN, P.R. Prevalence, strain identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered pig carcasses in Brazil. **Food Control**, v.22, n.5, p.702-707, 2011.

BLACKBURN, C.W.; McCLURE, P.J. **Foodborne pathogens Hazards, risk analysis and control**. Boca Raton: Woodhead Publishing Ltda and CRC Press LLC. 2002.

BLOUFLEUR, R. ***Campylobacter jejuni* em frangos de corte, carne e vísceras de frango no Rio Grande do Sul e o efeito do congelamento sobre a contaminação nos cortes**. 2009. 47 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - RS, 2009.

BOGAARD, A.E.; STOBBERINGH, E.E. Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health. **Drugs**, v.58, n.4, p.589-607, 1999.

BOLTON, D.; PATRIARCHI, A.; FOX, A.; FANNING, S. A study of the molecular basis of quinolone and macrolide resistance in a selection of *Campylobacter* isolates from intensive poultry flocks. **Food Control**, v.30, n.1, p. 222–226, 2013.

BOYSEN, L.; NAUTA, M.; DUARTE, A.S.R.; ROSENQUIST, H. Human risk from thermotolerant *Campylobacter* on broiler meat in Denmark **International Journal of Food Microbiology**, v.162, n.2, p.129-134, 2013.

BRADFORD, P.A. BRATU, S.; URBAN, C.; VISALLI, M.; MARIANO, N.; LANDMAN, D.; RAHAL, J.J.; BROOKS, S.; CEBULAR, S.; QUALE, J. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenemhydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 betalactamases in New York City. **Clinical Infectious Diseases**, v.39, n.1, p.55-60, 2004.

BRADFORD, P.A. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.4, p.933-951, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Orientações Técnicas: Higiene do Ambiente de Inspeção ante-mortem e post-mortem**. 2004. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/ls/portal/url/ITEM/CD351889B36E588DE0300EA5FCC870>>. Acesso em 27/07/2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.º 210, de 10 de novembro de 1998. **Regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico - sanitária de carne de aves**. Brasília: 1998. Publicado no Diário Oficial da União de 26/11/1998, Seção 1, p. 226. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis>>. Acesso em 27/07/2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.º 368, de 4 de setembro de 1997. **Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de elaboração para abatedouros elaboradores/ industrializadores de alimentos**. 1997a. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em 28/08/2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 9, de 27 de junho de 2003. **Proíbe a fabricação, a manipulação, o fracionamento, a comercialização, a importação e o uso dos princípios ativos cloranfenicol, nitrofuranos e os produtos que contenham estes princípios ativos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil de 29 de junho de 2003. Brasília, DF. Disponível em <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=2112258128>>. Acesso em 28/08/2012.

BRASIL. Estado do Paraná. PAMvet-PR / 2005. Levantamento do Uso e Comercialização de Medicamentos Veterinários em Frango de Corte. Disponível em: <<http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/vigilancia%20sanitaria/Relatorio%20levantamento%20frango.pdf>> Acesso em: 21.12.2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lista de aditivos autorizados. 2008. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/arq.../ADITIVOS%20AUTORIZADOS.xls>>. Acesso em 21/12/2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes – PNCRC. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/qualidade-dos-alimentos/residuos-e-contaminantes>>. Acesso em: 21/12/2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n.210, de 10 de novembro de 1998. Aprova o regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitário de carne de aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 26 nov. 1998. Seção 1, p. 226.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Revista Clipping, de 12 de novembro de 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 38, de 8 de maio de 2002. Proíbe a fabricação e a comercialização de cloranfenicol, de nitrofuranos e de produtos que contenham estes princípios ativos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF.

BRENNER, D.J.; MCWHORTER, A.C.; KAI, A.; STEIGERWALT, A.G.; FARMER, J.J. *Enterobacter asburiae* sp. nov., a new species found in clinical specimens, and reassignment of *Erwinia dissolvens* and *Erwinia nimipressuralis* to the genus *Enterobacter* as *Enterobacter dissolvens* comb. nov. and *Enterobacter nimipressuralis* comb. nov. **Journal of Clinical Microbiology**, v.23, n.6, p.1114–1120, 1986.

BRENNER, D.J.; KRIEG, N.R.; STANLEY, J.T. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Ed., v.2, New York: Springer Science+Business Media Inc., 2005.

BUTZLER, J.P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, n. 10, p.868-876, 2004.

CALIL, R.M.; SCARELLI, E.; MODELLI, K.D.; CALIL, E.M.B. **Campilobacterioses: O agente, a doença e a transmissão por alimentos**. São Paulo: Livraria Varela. 1ª ed., 2008. 129p.

CANTARELLI, V.; NAGAYAMA, K.; TAKAHASHI, A.; HONDA, T.; CAUDURO, P.F.; DIAS, C.A.G.; MEZZARI, A.; BRODT, T. Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (stec) serotype O91:H21 from a child with diarrhea in Porto Alegre City, RS, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.4, p.266-270, 2000.

CARNEIRO, D.O.; FIGUEIREDO, H.C.P.; PEREIRA JÚNIOR, D.J.; LEAL, C.A.G.; LOGATO, P.V.R. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.869-876, 2007.

CARNEIRO, S.L.; ULBRICH, A.C.; FALKOWSKI, T.; CARVALHO, A.; SOARES JÚNIOR, D.; LLANILLO, R.F.; Frango de Corte - Integração Produtor/ Indústria. 2004. 13p. Disponível em: <[http://www.iapar.br/arquivos/File/zip\\_pdf/redreferencia/pp\\_modnortefrango.pdf](http://www.iapar.br/arquivos/File/zip_pdf/redreferencia/pp_modnortefrango.pdf)>. Acesso em 23/12/2012.

CARVALHO, A.F. **Detecção dos genes da toxina citoletal distensiva (CDT) em estirpes de *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* isoladas de frangos de corte e hortaliças**. 2009. 56p. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação, Instituto Biológico de São Paulo. 2009.

CARVALHO, A.F.; SILVA, D.M.; AZEVEDO, S.S.; PIATTI, R.M.; GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E. Detecção dos genes da toxina citolética distensiva em estirpes de *Campylobacter jejuni* isoladas de carcaças de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.5, p.1054-1061, 2010.

CARVALHO, A.C.F.B.; COSTA, F.N. Ocorrência de *Campylobacter* sp. em carcaças e cortes de frango ao nível industrial e comercial. **Revista Higiene Alimentar**, v. 10, n. 46, p. 41-43, 1996.

CARVALHO, A.C.F.B.; CORTEZ, A.L.L. Contaminação de produtos avícolas industrializados e seus derivados por *Campylobacter jejuni* e *Salmonella* sp. **Arquivos de Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 57-62, 2003.

CARVALHO, A.C.F.B.; LIMA, V.H.C.; PEREIRA, G.T. Determinação dos principais pontos de risco de contaminação de frangos por *Campylobacter*, durante o abate industrial. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99, p. 89-94, 2002.

CARVALHO, F.M.; FIÚZA, M.A.; LOPES, M.A. Determinação de custos como ação de competitividade: estudo de um caso na avicultura de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 908-913, 2008.

CASTRO, A.G.M.; GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.P.; TORRES, A.P.; CARDOSO, M.V.; PASCHOAL, A.L.S.; SOUZA, C.A.I.; CARRASCO, S. Monitoramento de *Campylobacter* spp. ao longo da linha de abate de frangos de corte. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v.64, p. 21-26, 1997.

CAVALIERI, S.J.; HARBECK, R.J.; MCCARTER, Y.S.; ORTEZ, J.H.; RANKIN, I.D.; SAUTTER, R.L.; SHARP, S.E.; SPIEGEL, C.A. **Manual of antimicrobial susceptibility testing. American Society for Microbiology**. 241p., 2005. Disponível em: <<http://forms.asm.org/ASM/files/ccLibraryFiles/Filename/000000002484/Manual%20of%20Antimicrobial%20Susceptibility%20Testing.pdf>>. Acesso em: 17/08/12.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases *Vibrio vulnificus***. General Information. 2013b. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/vibriov/> >. Acesso em 12/01/2013.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases *Vibrio parahaemolyticus***. General Information. 2013c. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/vibriop/>>. Acesso em 12/01/2013.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases - Cholera - *Vibrio cholerae* infection**. General information. 2013a. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/cholera/general/>>. Acesso em 12/01/2013.

CHAVES, S.O.C. **Pesquisa de *Campylobacter* spp. em granjas e abatedouro avícolas na mesorregião metropolitana de Belém – PA**. Dissertação (Mestrado). 80p. 2007. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, Belém, PA. 2007.

CHEN, X.; NAREN, G.W.; WU, C.M.; WANG, Y.; DAI, L.; XIA, L.N.; LUO, P.J.; ZHANG, Q.; SHEN, J.Z. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in broilers from China. **Veterinary Microbiology**, v.144, n.1–2, p.133-139, 2010.

CHENU, J.W.; PAVIC, A.; COX, J.M. A novel miniaturized most probable number methods for the enumeration of *Campylobacter* spp. from poultry-associated matrices. **Journal of Microbiological Methods**, v.93, n.1, p.12-19, 2013.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility tests for Bacteria isolated From Animals**. Approved Standards – Third Edition. CLSI Document M31-A3. Pennsylvania, USA. 2008.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: seventeenth informational supplement**. Wayne: CLSI Document M100-S17. Pennsylvania, USA. 2007a.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria**. Wayne: CLSI Document M11-A7. Pennsylvania, USA. 2007b.

COLE, J.B.; van RADEN, P.M.; O'CONNELL, J.R.; van TASSELL, C.P.; SONSTEGARD, T.S.; SCHNABEL, R.D.; TAYLOR, J.F.; WIGGANS, G.R. Distribution and location of genetic effects for dairy traits. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 6, p.2931-2946, 2009.

CONNER, D.E.; BILGILI, S.F. Antimicrobial carcass treatments at processing. **U.S. Poultry and Egg Association**. 2004. Disponível em: <[http://www.poultryegg.org/resproj/proj\\_300.htm](http://www.poultryegg.org/resproj/proj_300.htm)>. Acesso em 29/07/2012.

CONTRERAS, C.C.; BROMBERG, R.; CIPOLLI, K.M.V.A.B.; MIYAGUSKU, L. **Higiene e Sanitização na Indústria de Carnes e Derivados: Limpeza e Desinfecção de Plantas de Processamento**. São Paulo: Varela, 2003, 182p.

CORTEZ, A.L.L.; CARVALHO, A.C.F.B.; SCARCELLI, E.; MIYASHIRO, S.; VIDAL-MARTINS, A.M.C.; BÜRGER, K.P. Survey of chicken abattoir for the presence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 6, n. 48, p. 307-310, 2006.

COSTA, A.M. **Detecção de *Aeromonas hydrophila* e *Campylobacter* spp. em atum (*Thunnus* spp.) fresco comercializado no Município de São Paulo**. 2012. 68p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação, Instituto Biológico de São Paulo. São Paulo, 2012.

COSTA, C.A.R. **Avaliação da exposição do consumidor à *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. e *Escherichia coli* produtora de toxina de shiga em produtos cárneos refrigerados comercializados no município de São Paulo**. 2010. 127 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

DESIMONI, M.C.; ESQUIVEL, G.P.; MERINO, L.A. Fecal colonization by extended-spectrum betalactamase- producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v.22, n.9, p.507-11, 2004.

DIAS, T.C.; QUEIROZ, D.M.M.; MENDES, E.N.; PERES, J.N. Chicken carcasses as a source of *Campylobacter jejuni* in Belo Horizonte, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 32, n. 6, p.414-418, 1990.

DIENSTMANN, R.; PICOLI, S.U.; MEYER, G.; SCHENKEL, T.; STEYER, J. Avaliação fenotípica da enzima *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) em Enterobacteriaceae de ambiente hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 1, p. 23-27, 2010.

DOMÍNGUEZ, C.; GÓMEZ, I.; ZUMALACÁRREGUI, J. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. **International Journal of Food Microbiology**, v. 72, n. 1-2, p. 165-168, 2002.

DONNISON, A. Isolation of Thermotolerant *Campylobacter* – Review and Methods for New Zealand Laboratories. Ministry of Health. **Enteric Zoonotic Disease Research in New Zealand Steering Committee**. 2003. Disponível em: < [http://www.moh.govt.nz/notebook/nbbooks.nsf/0/73166EB251837F95CC257834000271DB/\\$file/IsolationOfThermotolerantCampylobacter.pdf](http://www.moh.govt.nz/notebook/nbbooks.nsf/0/73166EB251837F95CC257834000271DB/$file/IsolationOfThermotolerantCampylobacter.pdf)> Acesso em 28/01/2012.

EDUARDO, M.B.; MELLO, M.L.; KATSUYA, E.M. **Síndrome Hemolítico-Urêmica – Normas e Instruções**. São Paulo: Centro de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. 2002. Disponível em <[ftp://ftp.cve.saude.sp.gov/doc\\_tec/hidrica/shu.pdf](ftp://ftp.cve.saude.sp.gov/doc_tec/hidrica/shu.pdf)> Acesso em 21/01/2013.

ENGBERG, J. Contributions to the epidemiology of *Campylobacter* infections: a review of clinical and microbiological studies. **Danish Medical Bulletin**, v. 53, n. 4, p. 361-389, 2006.

ENGLER, M. D & KELLEY, L. C. A rapid DNA isolation procedure for the identification of *Campylobacter jejuni* by the polymerase chain reaction. **Letters in Applied Microbiology**, v. 31, p. 421-426, 2000.

FARMER, J.J.; FANNING, G.R.; DAVIS, B.R.; O'HARA, C.M.; RIDDLE, C.; HICKMAN-BRENNER, F.W.; ASBURY, M.A.; LOWERY, V.A.; BRENNER, D.J. *Escherichia fergusonii* and *Enterobacter taylorae*, two new species of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 21, n. 1, p. 77-81, 1985.

FDA/CFSAN (2003). **Bad Bug Book**. *Shigella* spp. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap19.html>>. Acesso em: 28/12/2012.

FEHALHABER, K.; JANETSCHKE, P. **Higiene Veterinária de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia. 1995, p. 58-60.

FERNANDEZ, H.; FARACE, M.I. **Manual de Procedimientos**: Diagnóstico de *Campylobacter* en muestras clínicas y de alimentos. Universidad Austral de Chile. 2003, 22p.

FONSECA, B.B., SONCINI, R.A., GUIMARÃES, A.R. *Campylobacter* spp. in eggs from cloacal swab positive breeders hens. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, n. 4, p.573-575, 2007.

FOX, J. **The R Commander**: A Basic-Statistics Graphical – User Interface to R. *Journal of Statistical Software*, v.14, n.9, p.01-42, 2005.

FRANCHIN P. R.; AIDOO, K. E.; BATISTA, C. R. V. Sources of poultry meat contamination with thermophilic *Campylobacter* before slaughter. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.36, n. 2, p.157-162, 2005.

FRANCHIN, P.R.; OGLIARI, P.J.; BATISTA, C.R.V. Frequency of thermophilic *Campylobacter* in broiler chickens during industrial processing in a Southern Brazil slaughterhouse. **British Poultry Science**, v. 48, n. 2, p. 127-132, 2007.

FREITAS, J.A.; NORONHA, G.N. Ocorrência de *Campylobacter* spp. em carne e miúdos de frango expostos ao consumo em Belém, Pará. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 3, p. 813-815, 2007.

FRENEY, J.; GAVINI, F.; PLOTON, C.; LECLERC, H.; FLEURTTE, J. Isolation of *Escherichia fergusonii* from a patient with septicemia in France. **European Journal of Clinical Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 78, 1987.

FRÉNOD, E. Existence result for a model of *Proteus mirabilis* swarm. **Differential and Integral Equations**, v. 19, n. 6, p.697–720, 2006.

GARIN, B.; GOUALI, M.; WOUAFO, M.; PERCHEC, A.M.; THU, P.M.; RAVAONINDRINA, N.; URBÈS, F.; GAY, M.; DIAWARA, A.; LECLERCQ, A.; ROCOURT, J.; RÉGIS, P. Prevalence, quantification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. on chicken neck-skins at points of slaughter in 5 major cities located on 4 continents. **International Journal of Food Microbiology**, v.157, n.1, p.102-107, 2012.

GE, B.; WHITE, D.G.; McDERMOTT, P.F.; GIRALD, W.; ZHAO, S.; HUBERT, S.; MENG, J. Antimicrobial-resistant *Campylobacter* species from retail raw meats. **Applied Environmental Microbiological**, v. 69, p.3005-3007, 2003.

GEORGSSON, F.; PORKESSON, A.E.; GEIRSDÓTTIR, M.; REIERSEN, J.; STERN, N.J. The influence of freezing and duration of storage on *Campylobacter* and indicator bacteria in broiler carcasses. **Food Microbiology**, v. 23, n. 7, p. 677-683. 2006.

GONÇALVES, K.O.; YAMANAKA, E.H.U.; ALMEIDA, A.P.I.; CHANO, L.J.; RIBEIRO, A.B. Pesquisa de *Campylobacter* spp. em carcaças de frango comercializadas na cidade de Campo Mourão – PR. **Alimentação e Nutrição**, v. 23, n.2, p.211-216, 2012.

GRANIC, K.; KRCAR, D.; UHITIL, S.; JAKSIC, S. Determination of *Campylobacter* spp. in poultry slaughterhouses and poultry meat. **Veterinarski Arhiv**, v. 79, n. 5, p. 491-497, 2009.

GUTH, B.E.C.; RAMOS, S.R.T.S.; CERQUEIRA, A.M.F.; ANDRADE, J.R.C.; GOMES, T.A.T. Phenotypic and genotypic characteristics of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from children in São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n.8, p.1085-1089, 2002.

HA, T.A; PHAM, T.Y. Study of *Salmonella*, *Campylobacter*, and *Escherichia coli* contamination in raw food available in factories, schools, and hospital canteens in Hanoi, Vietnam. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1081, p.262-265, 2006.

HABIB, I.; BERKVEN, D.; DE ZUTTER, L.; DIERICK, K.; VAN HUFFEL, X.; SPEYBROECK, N.; GEERAERD, A.H.; UYTENDAELE M. *Campylobacter* contamination in broiler carcasses and correlation with slaughterhouses operational hygiene inspection. **Food Microbiology**, v.29, n.1, p.105-112, 2012.

HABIB, I.; SAMPERS, I.; UYTTENDAELE, M.; BERKVEN, D.; DE ZUTTER, L. Baseline Data from a Belgium-Wide survey of *Campylobacter* species contamination in chicken meat preparations and considerations for a reliable monitoring program. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n.17, p. 5483–5489, 2008.

HAN, K.; JANG, S.S.; CHOO, E.; HEU, S.; RYU, S. Prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance patterns of *Campylobacter jejuni* from retail raw chickens in Korea. **International Journal of Food Microbiology**, v. 114, p.50-59, 2007.

HARGINS, B.; HIGGINS, S.E. Logrando un major control de patogenos. **Revista Carnetec**, v.11, n.6, p.25-27, 2004.

HUMPHREY, T.; O'BRIEN, S.; MADSEN, M. Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v.117, n.3, p.237-257, 2007.

HUNT, J. M.; ABEYTA, C. **Campylobacter**. In: : US Food and Drug Administration (FDA), Bacteriological Analytical Manual. 8. ed. Maryland: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1995.

HUNT, J.M.; ABEYTA, C.; TRANT, T. **Campylobacter** In: US Food and Drug Administration (FDA), Bacteriological Manual Online. Chapter 7. Revision A. Washington, DC: Center for Food Safety and Applied Nutrition, U. S. FDA. 2001. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm072616.htm>>. Acesso em: 23/01/12.

HUPPERTZ, H.I.; BUSCH, D.; SCHMIDT, H. Diarrhea in young children associated with *Escherichia coli* non-O157 organisms that produce Shiga-like toxin. **The Journal of Pediatrics**, v. 128, p. 341-346, 1996.

HUSSAIN, I.; MAHMOOD, M.S.; AKHTAR, M.; KHAN, A. Prevalence of *Campylobacter* species in meat, milk and other food commodities in Pakistan. **Food Microbiology**, v. 24, p. 219–222, 2007.

HUYSMANS, M.B.; TURNIDGE, J.D. Disc susceptibility testing for thermophilic campylobacters. **Pathology**, v. 29, n. 2, p. 209-216, 1997.

ICMSF – International Commission on Microbiology Specifications for Foods. **Microbial ecology of food commodities**. 2.ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. (Microorganisms in foods, 6).

IRINO, K.; VAZ, T.M.I.; KATO, M.A.F. O157:H7 shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains associated with sporadic cases of diarrhea in São Paulo, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, p. 446-447, 2002.

ISO 10272-1. Microbiology of food and animal feedings stuffs – **Horizontal method for the detection and enumeration of *Campylobacter*** – Part 1: Detection Method, 1<sup>th</sup> Ed. The International Organization for Standardization, 2006.

ISO 10272-2. Microbiology of food and animal feedings stuffs – **Horizontal method for the detection and enumeration of *Campylobacter*** – Part 2: Colony Count Technique, 1<sup>th</sup> Ed. The International Organization for Standardization, 2006.

ISOLAN, L.W. **Estudo da eficiência da etapa pré-resfriamento por imersão em água no controle da qualidade microbiológica das carcaças de frango**. 2007. 83p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007.

JACOBSEN, S.M.; STICKLER, D.J.; MOBLEY, H.L.T.; SHIRTLIFF, M.E. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 1, 26-59, 2008.

JARAMILLO, H.F. **Espécies termofílicas de *Campylobacter*: aspectos bacteriológicos, epidemiológicos e patogênicos**. 1983. 144p. Tese (Doutorado) - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1983.

JOKINEN, C.C.; KOOT, J.M.; CARRILLO, C.D.; GANNON, V.P.J.; JARDINE, C.M.; MUTSCHALL, S.K.; TOPP, E.; TABOADA, E.N. An enhanced technique combining pre-enrichment and passive filtration increase the isolation efficiency of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from water and animal fecal samples. **Journal of Microbiological Methods**, v. 91, p.506-513, 2012.

JORGENSEN, F.; BAILEY, R.; WILLIAMS, S.; HENDERSON, P.; WAREING, D.R.; BOLTON, F.J.; FROST, J.A.; WARD, L.; HUMPHREY, T.J. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. **International Journal of Food Microbiological**, v. 76, n. 1-2, p. 151-164, 2002.

KANG, Y.S.; CHO, Y.S.; YOON, S.K.; YU, M.A.; KIM, C.M.; LEE, J.O.; PYUN, Y.R. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from raw chicken meat and human stools in Korea. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 12, p. 2915-2923, 2006.

KASSA, T.; GEBRE-SELASSIE, S.; ASTRAT, D. The prevalence of thermotolerant *Campylobacter* species in food animals in Jimma Zone, southwest Ethiopia. **Ethiopian Journal of Health Development**, v. 3, n. 19, p. 225-229, 2005.

KELLY, D.J. Complexity and versatility in the physiology and metabolism of *Campylobacter jejuni*. Cap 3. In: **Campylobacter**, 3<sup>rd</sup> ed., 2008, p.41-61, 2008.

KEENER, K.M.; BASHOR, M.P.; CURTIS, P.A.; SHELDON, B.W.; KATHARIOU, S. Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. Estados Unidos: Institute of Food Technologist, v.3, p.105-116, 2004.

KIM, S.H.; WEI, C.; AN, H. Molecular characterization of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* isolates from retail meat products. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 7, p. 1408-1413, 2005.

KNOX, J.R. Extended-spectrum and inhibitor-resistant TEM-type beta-lactamases: mutations, specificity, and three-dimensional structure. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 39, n.12, p. 2593-601, 1995.

KOLSARICI, N.; KIRIMCA, G. Effect of radurization on microbiological, chemical and sensorial properties of chicken meats. **Gida**, v. 20, n. 2, p. 67-73, 1995.

KOTH, K.; BONIFACE, J.; CHANCE, E.A.; HANES, M.C. *Enterobacter asburiae* and *Aeromonas hydrophila*: soft tissue infection requiring debridement. **Orthopedics**, v. 35, n. 6, p. 996-999, 2012.

KOVALENKO, K.; ROASTO, M.; LIEPINS, E.; MÄESAAR, M.; HÖRMAN, A. High occurrence of *Campylobacter* spp. in Latvian broiler chicken production. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 188-191, 2013.

KUANA, S.L.; SANTOS, L.R.; RODRIGUES, L.B.; BORSOI, A.; MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; NASCIMENTO, V.P. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp isolated from broiler flocks. **Brazilian Journal Microbiological**, v. 39, n. 4, p. 738-740, 2008.

KUMAR, A.; AGARWAL, R.K.; BHILEGAONKAR, K.N.; SHOME, B.R.; BACHHIL, V.N. Occurrence of *Campylobacter jejuni* in vegetables. **International Journal of Food Microbiology**, v. 67, n. 1-2, p. 153-155, 2001.

LOPES, G.V. ***Campylobacter* spp. no abate e varejo: ocorrência em carcaças de bovinos para exportação e em cortes refrigerados de aves e bovinos**. 2009. 130f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MACKIW, E.; KORSAK, D.; RZEWUSKA, K.; TOMCZUK, K. Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food in Poland. **Food Control**, v. 23, n. 2, p. 297-301, 2012.

MACROGEN INC. **Macrogen Single Pass Sequencing Sample Submission Guide**. 2009. Disponível em: < [http://dna.macrogen.com/eng/support/seq/data/Macrogen\\_Single\\_Pass\\_Sequencing\\_Sample\\_Submission\\_Guide\\_english.pdf](http://dna.macrogen.com/eng/support/seq/data/Macrogen_Single_Pass_Sequencing_Sample_Submission_Guide_english.pdf) > Acesso em 10/10/2012.

MADALOZZO, F.R.; SANTOS, L.R.S.; RODRIGUES, L.B.; DICKEL, E.L. Controle de *Campylobacter* sp durante o processamento tecnológico de frangos de corte. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 157, p. 45-51, 2007.

MAHAPATRA, A.; MAHAPATRA, S.; MAHAPATRA, A. *Escherichia fergusonii*: an Emerging Pathogen in South Orissa. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 23, n. 3, p. 204-208, 2005.

MARINI, M.A.S.M.; MACEDO, R.E.F.; BIASI, R. Genotipagem e suscetibilidade a antibióticos de cepas de *Campylobacter* isoladas de cortes cárneos suínos. **XVII seminário de IC, PUCPR** – Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Curitiba, 2009.

MARTÍNEZ, J.; MARTÍNEZ, L.; ROSENBLUETH, M.; SILVA, J.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. How are gene sequence analyses modifying bacterial taxonomy? The case of *Klebsiella*. **International Microbiological**, v. 7, n. 4, p. 261-268, 2004.

MAZIERO, M.T.; OLIVEIRA, T.C.R.M. Effect of refrigeration and frozen storage on the *Campylobacter jejuni* recovery from naturally contaminated broiler carcasses. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 501-505, 2010.

MEAD, G.C. Microbiological quality of poultry of poultry meat: a review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.6, n.3, p.135-142, 2004.

MEAD, G.C.; HUDSON, W.R.; HINTON, M.H. Effects of changes in processing to improve hygiene control on contamination of poultry carcasses with *Campylobacter*. **Epidemiology Infection**, v. 115, p. 495-500, 1995.

MEDEIROS, V.M. **Implantação de Metodologia de Pesquisa de *Campylobacter* spp. No Setor de Alimentos do Departamento de Microbiologia do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS**. 2009. 28 f. Monografia (Especialização em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2009.

MEDEIROS, V.M. **Isolamento e Identificação Fenotípica e Molecular das Espécies Termofílicas de *Campylobacter* a partir de Frango Resfriado**. 2011. 94p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2011.

MENDES, E.N.; QUEIROZ, D.M.M.; CISALPINO, E.O.; PERES, J.N.; PENNA, F.J.; FIGUEIREDO FILHO, P.P. Ocorrência de *Campylobacter jejuni* em crianças com e sem diarreia, em Belo Horizonte. **Revista de Microbiologia**, v. 18, n. 1, p. 25-30, 1987.

MENTEN, J.F.M. **Probióticos e Aditivos Fitogênicos na Nutrição de Aves** – Simpósio sobre Ingredientes na Alimentação Animal CBNA – Uberlândia, MG 2002. Editado pelo Colegio Brasileiro de Nutricao Animal, p. 252-256. Agosto de 2002.

MIGLIAVACCA, S.N. **Criação de frango de corte em sistema de integração na região de Tabatinga – DF**. 2010. 46p. Disponível em: <[http://www.upis.br/pesquisas/pdf/agronomia/2010\\_3/Sandro\\_Nei\\_Migliavacca\\_BT\\_Cria%C3%A7%C3%A3o\\_frango\\_corte\\_sistema\\_integra%C3%A7%C3%A3o\\_regi%C3%A3o\\_Tabatinga\\_DF.pdf](http://www.upis.br/pesquisas/pdf/agronomia/2010_3/Sandro_Nei_Migliavacca_BT_Cria%C3%A7%C3%A3o_frango_corte_sistema_integra%C3%A7%C3%A3o_regi%C3%A3o_Tabatinga_DF.pdf)> Acesso em 11/12/2012.

MINAS ON LINE. **Mesorregiões e microrregiões (IBGE)**. Atualizado em Dezembro de 2010. Disponível em: <<http://www.mg.gov.br/governomg/ecp/contents.do?evento=conteudo&idConteudo=69547&chPlc=69547&termos=s&app=governomg&tax=0&taxp=5922>>. Acesso em: 12/05/2013.

MOURA, H.M. **Isolamento e análise de resistência a antimicrobianos de cepas de *Campylobacter jejuni* em amostras de carnes de aves resfriadas comercializadas no Distrito Federal**. 2010. 63p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. 2010.

NACMCF. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. *Campylobacter* in Broiler Production and Process. **Journal of Food Protection**, v. 57, 1994.

NAYAK, R.; STEWART, T.M.; NAWAZ, M.S. PCR identification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* by partial sequencing of virulence genes. **Molecular and Cellular Probes**, v. 19, p. 187–193, 2005.

NIEROP, W.V.; DUSÉ, A.G.; MARAIS, E.; AITHMA, N.; THOTHOBOLO, N.; KASSEL, M.; STEWART, R.; POTGIETER, A.; FERNANDES, B.; GALPIN, J.S.; BLOOMFIELD, S.F. Contamination of chicken carcasses in Gauteng, South Africa, by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 99, p. 1-6, 2005.

NOBILE, C.G.; COSTANTINO, R.; BIANCO, A.; PILEGGI, C.; PAVIA, M. Prevalence and pattern of antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. in poultry meat in Southern Italy. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 715-718, 2013.

NUNES, F. Enfriar las canales es cuidar la calidad y el rendimiento. **Revista Industria Avícola**, v. 52, n. 2, p. 10-16, 2005.

OLIVEIRA, A.V.B.; SILVA, R.A.; ARAÚJO, A.S.; BRANDÃO, P.A.; SILVA, F.B. Padrões microbiológicos da carne de frango de corte – Referencial teórico. **Revista Verde**, v. 6, n.3, p. 01-16. Jul/set, 2011. Disponível em: <<http://revista.gvaa.com.br>>. Acesso em: 27/07/2011.

OMS - Organização Mundial da Saúde. **Programmes and Projects**. Media Centre, Fact Sheets. Food safety and foodborne illness. 2009. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>> Acesso em 09/10/2012.

OMS - Organização Mundial da Saúde. **Food Safety and Foodborne diseases**. 2012. Disponível em: <<http://www.wpro.who.int/mediacentre/releases/2012/20121127/en/index.html>>. Acesso em 13/12/2012.

OMS - Organização Mundial da Saúde. **Zoonotic Non-O157:H7 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC)**. WHO/CSR/APH/98.8. Report of WHO Scientific Working Group Meeting. Berlin, Germany, 23-26 June, 1998. Disponível em: [http://whqlibdoc.who.int/hq/1998/WHO\\_CSR\\_APH\\_98.8](http://whqlibdoc.who.int/hq/1998/WHO_CSR_APH_98.8) Acesso em 21/01/2013.

ONO, K.; YAMAMOTO, K. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. **International Journal of Food Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 211-219, 1999.

OPLUSTIL, C.P.; ZOCCOLI, C.M.; TOBOUTI, N.R.; SINTO, S.I. **Procedimentos Básicos em Microbiologia Clínica**. 3a. Ed., Sarvier: São Paulo, 2010. 544p.

OYARZABAL, O.A.; HAWK, C.; BILGILI, S.F.; WARF, C.C.; KEMP, G.K. Effects of post-chill application of acidified sodium chlorite to control *Campylobacter* and *E. coli* on commercial broiler carcass. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 10, p. 2288-2291, 2004.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Tecnologia da sua obtenção e transformação. 2.ed. Goiânia: EDUFF/UFG – Editora Universitária, 2001. 623p.

PARK, S.F. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. **International Journal Food Microbiology**, v. 74, n. 3, p. 177-188, 2002.

PARK, Y.J.; LEE, S.; KIM, Y.R.; OH, E.J.; WOO, G.J.; LEE, K. Occurrence of extended-spectrum (beta)-lactamases and plasmid-mediated AmpC (beta)-lactamases among Korean isolates of *Proteus mirabilis*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 57, n. 1, p. 156-158, 2006.

PEIRANO, G.; SEKI, L.M.; PASSOS, V.L.V.; PINTO, M.C.F.G.; GUERRA, L.R.; ASENSI, M.D. Carbapenem-hydrolysing beta-lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p. 265-268, 2009.

PEYRAT, M.B.; SOUMET, C.; MARIS, P.; SANDERS, P. Recovery of *Campylobacter jejuni* from surfaces of poultry slaughterhouses after cleaning and disinfection procedures: Analysis of a potential source of carcass contamination. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.124, n.2, p.188-194, 2008.

PIÉRARD, D.; STEVENS, D.; MORIAU, L. Isolation and virulence factors of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in human stool samples. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 3, p. 531-539, 1997.

PODSCHUM, R.; ULLMANN, U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. **Clinical Microbiology Review**, n. 11, p. 589-603, 1998.

PRENCIPE, V.; PARISCIANI, G; CALISTRI, P.; CAPORALE, C. M.; IANNITTO, G.; MORELLI, D.; POMILIO, F.; PROCHOWSKI, D.; MIGLIORATI, G. Thermotolerant *Campylobacter* in poultry meat marketed in the Abruzzo and Molise regions of Italy: prevalence and contamination levels. **Veterinaria Italiana**, v. 43, n. 1, p. 157-165, 2007.

R COMMANDER. **R Development Core Team**. 2009. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em 23/01/13.

RODRIGO, S.; ADESIYUN, A.; ASGARALI, Z.; SWANSTON, W. Prevalence of *Campylobacter* spp. on chickens from selected retail processors in Trinidad. **Food Microbiology**, v. 22, p. 125–131, 2007.

ROSENQUIST, H.; NIELSEN, N,L.; SOMMER, H.M.; NORRUNG, B.; CHRISTENSEN, B.B. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. **International Journal of Food Microbiology**, v. 83, n. 1, p. 87-103, 2003.

ROUG, A.; BYRNE, B.A.; CONRAD, P.A.; MILLER, W.A. Zoonotic fecal pathogens and antimicrobial resistance in county fair animals. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, In Press, Corrected Proof, Available online 20 December 2012 . Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147957112001300#sec1>>. Acesso em 28/11/2012.

ROZALSKI, A.; SIDORCZYK, Z.; KOTELKO, K. Potential virulence factors of *Proteus bacilli*. **Microbiology and Molecular Biology Review**, v. 61, n. 1, p. 65-89, 1997.

SANDERSON, M.W.; GAY, J.M.; HANCOCK, D.D. Sensitivity of bacteriologic culture for detection of *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, p. 2616-2619, 1995.

SÁNCHEZ, R.; FERNANDEZ, B.; DIAZ, M.D.; MUNOZ, P.; RODRIGUEZ, C. Evolution of susceptibilities of *Campylobacter* spp. to quinolones and macrolides. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 38, p. 1879-1882, 2007.

SCARCELLI, E.; MIYASHIRO, S.; CAMPOS, F.R.; CASTRO, A.G.M.; TESSARI, E.N.C.; CARDOSO, A.L.S.P. Detecção de *Campylobacter jejuni* em carcaças e cortes de frangos pela Reação da Polimerase em Cadeia. **Higiene Alimentar**, v. 19, n. 129, p. 71-76, 2005a.

SCHERER, K.; BARTELT, E.; SOMMERFELD, C.; HILDEBRANDT, G. Comparison of different sampling techniques and enumeration methods for the isolation and quantification of *Campylobacter* spp. in raw retail chicken legs. **International Journal of Food Microbiology**, v. 108, p. 115-119, 2006.

SES/SP. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo - Centro de Vigilância Epidemiológica – CVE **Manual das doenças transmitidas por alimentos e água *Shigella* spp./Shigeloses**. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Shigella.htm>>. Acesso em 21/01/2013.

SHIN-HEE, K.; CHENG-I, W.; YWH-MIN, T.; HAEJUNG, A. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from farm environments and retail products in Oklahoma. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 10, p. 2022-2029, 2005.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de análises microbiológicas de alimentos e água**. 4ª Ed. São Paulo: Varela, 2010. 536p.

SIMÕES, A.M.M. **Avaliação da contaminação por *Campylobacter* spp. em peitos de frango embalados em atmosfera pretetora e em superfícies do ambiente fabril**. 2010, 72f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 2010.

SMITH, K.E.; BESSER, J.M.; HEDBERG, C.W.; LEANO, F.T.; BENDER, J.B.; WILCKLUND, J.H. Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota 1992-1998. **New England Journal Medicine**, v.340, p.1525-1532, 1999.

SPANU, T.; LUZZARO, F.; PERILLI, M.; AMICOSANTE, G.; TONIOLO, A.; FADDA, G. Italian ESBL Study Group. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. **Antimicrob Agents Chemother** . v.46, n.1, p.196-202, 2002.

STERN, N.J.; LINE, J.E.; CHEN, H.C. *Campylobacter* in: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, Washington, DC: APHA, 2001. Chapter 31, p. 301-310.

TANG, J.Y.H.; GHAZALI, F.M.; SALEHA, A.A.; NAKAGUCHI, Y.; NISHIBUCHI, M.; RADU, S. MPN-PCR enumeration of *Campylobacter* spp. in raw chicken meats and by-products. **Frontiers of Agriculture in China**, v. 4, n. 4, p. 501-506, 2010.

TAREMI, M.; DALLAL, M.M.S.; GACHKAR, L.; ARDALAN, S.M.; ZOLFAGHARIAN, K.; ZALI, M.R. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from retail raw chicken and beef meat, Tehran, Iran. **Journal of Food Microbiology**, v. 108, p. 401-403, 2006.

TIBURCIO, P. Idade de abate do frango de corte. 2011. Disponível em: <http://www.tecnologiaetreinamento.com.br/aves-peixes/avicultura/idade-abate-frango-corte-avicultura-peso/>. Acesso em 23/12/2012.

TONKIC, M.; MOHAR, B.; SSKO-KRALJEVIC, K.; MESKO-MEGLIC, K.; GOIC-BARISIC, I.; NOVAK, A.; KOVACIC, A.; PUNDA-POLIC, V. High prevalence and molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Proteus mirabilis* strains in southern Croatia. **Journal of Medicine Microbiology**, v. 59, p. 1185-1190, 2010.

TUMBARELLO, M.; TRECARCHI, E.M.; FIORI, B.; LOSITO, A.R.; D'INZEO, T.; CAMPANA, L.; RUGGERI, A.; DI MECO, E.; LIBERTO, E.; FADDA, G.; CAUDA, R.; SPANU, T. Multidrug-resistant *Proteus mirabilis* bloodstream infections: Risk factors and outcomes. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 56, p. 3224-3231, 2012.

UBABEF. Associação Brasileira dos Produtores e exportadores de Frango. **Plano Nacional de Prevenção da Influenza Aviária e de Controle e Prevenção da Doença de Newcastle**. 2010. Disponível em: <http://www.abef.com.br/Legislacoes/IN172006.pdf>. Acesso em: 31/01/2011.

UBABEF. Associação Brasileira dos Produtores e exportadores de Frango. **Estatísticas 2012** Disponível em: <[http://www.abef.com.br/noticias\\_portal/exibenoticia.php?notcodigo=2389](http://www.abef.com.br/noticias_portal/exibenoticia.php?notcodigo=2389)>. Acesso em 19/01/2013.

UBA – União Brasileira de Avicultura. **Relatório 2011**. 2012. Disponível em: <[http://www.uba.org.br/ubaneews\\_files/relatorio\\_uba\\_06\\_07\\_baixa\\_1.pdf](http://www.uba.org.br/ubaneews_files/relatorio_uba_06_07_baixa_1.pdf)>. Acesso em: 28/09/2012.

USDA – United States Department of Agriculture. ***Escherichia coli* O157:H7: Issues and ramifications**. Colorado: Center for Epidemiology and Animal Health, 48p., 1994a.

USDA/FSIS. **Isolation, identification, and enumeration of *Campylobacter jejuni/coli* from meat and poultry products**. Microbiology Laboratory Guidebook, Chapter 6. 1994b.

VALADAS, E. **Consequência do uso e abuso de antibióticos e de desinfetantes na cadeia alimentar e no meio ambiente**. Curso Pós-Graduado em TRV – C Terapia por Reestruturação Vivencial e Cognitiva Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, p.289-290, 2003.

VASCONCELOS F.R.; REBOUÇAS, R.H.; EVANGELISTA-BARRETO, N.S.; SOUSA, O.V. de; VIEIRA, R.H.S.F. Perfil de resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas do Açude Santo Anastácio, Ceará, Brasil. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 77, n. 3, p. 405-410, 2010.

VASHIN, I.T.; STOYACHEV, T.T. Incidence and microbial diversity of *Campylobacter* spp. isolates during the slaughterhouse processing of poultry and critical control points of process. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 7, n. 3, p. 173-180, 2004.

VAZ, C.S.L. **Anais / I Workshop de Diagnóstico Microbiológico de *Campylobacter* Aplicado à Avicultura**. Editora - Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2012. 42p.

VENTURINI, K.S.; SARCIELLI, M.F.; SILVA, L.C. da. **Características da Carne de Frango**. Boletim Técnico - PIE-UFES:01307 - Editado: 18/08/2007.

VIEIRA, R.H.S.F.; RODRIGUES, D.P.; BARRETO, N.S.E.; SOUZA, O.V.; TÔRRES, R.C.O.; RIBEIRO, R.V. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: Teoria e prática**. São Paulo: Livraria Varela. 2004.

von ALTROCK, A.; HAMEDY, A.; MERLE, R.; WALDMANN, K.H. *Campylobacter* spp. – Prevalence on pig livers and antimicrobial susceptibility. **Preventive Veterinary Medicine**, v.109, n.1-2, p.152-1571, 2013.

WANG, Y.; ZHANG, S.; YU, J.; ZHANG, H.; YUAN, Z.; SUN, Y.; ZHANG, L.; ZHU, Y.; SONG, H. An outbreak of *Proteus mirabilis* food poisoning associated with eating stewed pork balls in brown sauce, Beijing. **Food Control**, v. 21, p. 302-305, 2010.

WANG, S.; LEWIS, C.M.Jr; JAKOBSSON, M.; RAMACHANDRAN, S.; RAY, N. Genetic Variation and Population Structure in Native Americans. **PLoS Genetics**, v.3, n.11, p.185, 2007.

WATANAKUNAKORNC, P.S.C. *Proteus mirabilis* bacteremia: A review of 176 cases during 1980-1992. **Scand Journal Infection Diseases**, v. 26, p. 361-367, 1994.

WHO - World Health Organization. **The increasing incidence of human campylobacteriosis**. Report and proceedings of a WHO consultation of experts. Copenhagen, Denmark, 2001.

WHO - World Health Organization. Joint FAO/OIE/WHO, 2003. Expert Workshop on Non-Human Antimicrobial Usage and Antimicrobial Resistance: Scientific Assessment, Geneva, 1-5 December, 2004. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/en/amr.pdf>>. Acesso em 28/12/2012.

WHYTE, P.; MCGILL, K.; COLLINS, J.D. An assessment of steam pasteurization and hot water immersion treatments for the microbiological decontamination of broiler carcass. **Food Microbiology Magazine**, v. 20, n. 1, p. 111-117, 2003.

WHYTE, P.; MCGILL, K.; COWLEY, D.; MADDEN, R.H.; MORAN, L.; SCATES, P.; CARROLL, C.; O'LEARY, A.; FANNING, S.; COLLINS, J.D.; McNAMARA, E.; MOORE, J.E.; CORMICAN, M. Occurrence of *Campylobacter* in retail foods in Ireland. **International Journal Food Microbiology**, v. 95, p. 111-118, 2004.

WIECZOREK, K.; DENIS, E.; LYNCH, O.; OSEK, J. Molecular characterization and antibiotic resistance profiling of *Campylobacter* isolated from cattle in Polish slaughterhouses. **Food Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 130-136, 2013.

WONG, M.H.Y.; WAN, H.Y.; CHEN, S. Characterization of multidrug-resistant *Proteus mirabilis* isolated chicken carcasses. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, n. 2, p. 177-181, 2013.

ZANETTI, F.; VAROLI, O.; STAMPI, S.; de LUCA, G. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* and *Arcobacter butzleri* in food of animal origin. **Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 315-321, 1996.

ZENDEHBAD, B.; ARIAN, A.A.; ALIPOUR, A. Identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* species isolated from poultry meat in Khorasan province, Iran. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 724-727, 2013.

ZORMAN, T.; MOZINA, S. Classical and molecular identification of thermotolerant *Campylobacter* species from poultry meat. **Food Technology Biotechnology**, v. 40, n. 3, p.177–184, 2002.

**APÊNDICE A –** Questionário para levantamento de informações sobre os abatedouros e lotes de aves das amostras avaliadas na pesquisa



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**PROJETO DE PESQUISA – DOUTORADO** – Qualidade sanitária de carcaças de frango abatidas no estado de minas gerais: presença de *Campylobacter jejuni* e perfil antimicrobiano

**PESQUISADORA** – Andréa Cátia Leal Badaró - Médica Veterinária

**Dados do abatedouro**

Nome:		Registro:
Cidade:		
Responsável Inspeção:		
Telefone contato:	E-mail:	
Capacidade de abate (dia ou hora):		
Dia:	Nº de aves abatida no dia:	

**Dados da granja fornecedora**

Procedência das aves deste lote de abate:		
Número do lote ou galpão:	Nº total de aves da granja:	
Nº de aves deste lote:	Total abatido no dia:	
Houve algum tratamento informado:	Qual:	
Doenças detectadas no lote:	Tipo de tratamento realizado: Agente terapêutico:  Tipo de tratamento:  Duração do tratamento:	
Data suspensão da ração com medicação (AB ou Coccidiostáticos):	Data e hora da suspensão da alimentação:	
Observação deste lote:		

### Dados do procedimento de abate

Informação	S / N / NA
1. Pré-resfriamento com sistema de controle de temperatura e renovação contínua de água, de maneira que em cada turno de trabalho (8 horas) seja renovado o correspondente ao seu volume total.	
2. Resfriadores contínuos por imersão, obedecendo ao princípio da renovação de água contracorrente e à temperatura máxima de 4 °C.	
3. Presença de hidrômetro para controle do volume da água consumida, de no mínimo 1,5 (um e meio) litros por carcaça, quando trata-se de pré-resfriamento por imersão em água.	
4. O pré-resfriamento é efetuado através de: <input type="checkbox"/> aspersão de água gelada; <input type="checkbox"/> imersão em água por resfriadores contínuos, tipo rosca sem fim; <input type="checkbox"/> resfriamento por ar (câmaras frigoríficas); <input type="checkbox"/> outros processos aprovados pelo DIPOA – citar qual: _____	
5. Caso de renovação de água ou água gelada dos resfriadores contínuos tipo rosca sem fim, durante os trabalhos, é constante e em sentido contrário à movimentação das carcaças (contracorrente).	
6. Na proporção mínima de 1,5 litros por carcaça no primeiro estágio e 1,0 litro no último estágio.	
7. A temperatura da água do sistema de pré-resfriamento por imersão é inferior a 4°C.	
8. A água de renovação do sistema de pré-resfriamento por imersão é clorada?	
9. Qual o teor de cloro livre? Permite-se no máximo 5 mg.L <sup>-1</sup> de cloro livre;	
10. A temperatura da água residente, medida nos pontos de entrada das carcaças do sistema de pré-resfriamento por imersão é inferior a 16 °C no primeiro estágio, e observa-se o tempo máximo de permanência das carcaças de trinta minutos.	
11. A temperatura da água residente, medida nos pontos de saída das carcaças do sistema de pré-resfriamento por imersão é inferior a 4 °C.	
12. Cada tanque do sistema de pré-resfriadores contínuos por imersão são completamente esvaziados, limpos e desinfetados, no final de cada período de trabalho (oito horas) ou, quando se faz necessário.	
13. A temperatura das carcaças no final do processo de pré-resfriamento, é igual ou inferior a 7 °C. Toleram-se a temperatura de 10 °C, para as carcaças destinadas ao congelamento imediato;	
14. O gotejamento garante ao final a absorção da água nas carcaças de aves submetidas ao pré-resfriamento por imersão, inferior a 8 % de seu peso.	
15. A embalagem das carcaças se dá imediatamente após o gotejamento.	

**APÊNDICE B** – Dados sobre as amostras e contagens pelo Número Mais Provável, com intervalo de confiança de 95 %, separados por coleta.

<b>1ª Coleta</b>							<b>Intervalo de confiança (95 %)</b>	
<b>Abatedouro</b>	<b>Amostra</b>	<b>Peso carcaça</b>	<b>Diluição</b>			<b>Número Mais Provável</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
			<b>10<sup>-1</sup></b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	<b>10<sup>-3</sup></b>			
<b>1 IMA</b>	a	2,200	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,600	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,800	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,100	1	1	0	<b>7,4</b>	<b>1,3</b>	<b>20</b>
	e	2,900	0	0	0	< 3		9,5
<b>2 IMA</b>	a	2,000	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,800	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,900	2	2	2	<b>35</b>	<b>8,7</b>	<b>94</b>
	d	1,900	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,900	0	0	0	< 3		9,5
<b>3 IMA</b>	a	2,300	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,000	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,900	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,100	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,700	0	0	0	< 3		9,5
<b>4 SIF</b>	a	1,960	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,740	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,220	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,020	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,820	0	0	0	< 3		9,5
<b>5 SIF</b>	a	1,725	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,820	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,010	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,810	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,635	0	0	0	< 3		9,5
<b>6 IMA</b>	a	1,600	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,500	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,900	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,800	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,700	0	0	0	< 3		9,5
<b>7 SIF</b>	a	2,195	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,215	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,895	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,875	0	0	0	< 3		9,5
	e	2,103	1	1	1	<b>11</b>	<b>3,6</b>	<b>38</b>
<b>8 SIF</b>	a	1,830	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,790	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,805	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,115	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,965	0	0	0	< 3		9,5
<b>9 IMA</b>	a	1,952	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,278	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,014	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,148	0	0	0	< 3		9,5
	e	2,358	0	0	0	< 3		9,5

1ª Coleta							Intervalo de confiança (95 %)	
Abatedouro	Amostra	Peso carcaça	Diluição			Número Mais Provável	Mínimo	Máximo
			10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>			
10 IMA	a	1,850	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,700	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,700	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,600	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,700	0	0	0	< 3		9,5
11 IMA	a	1,910	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,180	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,990	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,500	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,800	0	0	0	< 3		9,5
12 SIF	a	2,635	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,510	1	1	1	<b>11</b>	<b>3,6</b>	<b>38</b>
	c	2,000	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,130	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,895	0	0	0	< 3		9,5
13 SIF	a	2,372	1	1	0	<b>7,4</b>	<b>1,3</b>	<b>20</b>
	b	2,410	0	0	0	< 3		9,5
	c	3,094	1	1	0	<b>7,4</b>	<b>1,3</b>	<b>20</b>
	d	2,732	1	0	0	<b>3,6</b>	<b>0,17</b>	<b>18</b>
	e	3,098	1	2	0	<b>11</b>	<b>3,6</b>	<b>42</b>
14 SIF	a	1,330	1	0	0	<b>3,6</b>	<b>0,17</b>	<b>18</b>
	b	1,720	1	1	1	<b>11</b>	<b>3,6</b>	<b>38</b>
	c	1,756	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,908	0	0	0	< 3		9,5
	e	2,276	1	1	0	<b>7,4</b>	<b>1,3</b>	<b>20</b>
15 SIF	a	1,950	0	1	1	<b>6,1</b>	<b>1,2</b>	<b>18</b>
	b	2,140	1	1	0	<b>7,4</b>	<b>1,3</b>	<b>20</b>
	c	2,715	2	2	1	<b>28</b>	<b>8,7</b>	<b>94</b>
	d	2,615	0	0	0	< 3		9,5
	e	2,250	1	1	1	<b>11</b>	<b>3,6</b>	<b>38</b>

2ª Coleta							Intervalo de confiança (95 %)	
Abatedouro	Amostra	Peso carcaça	Diluição			Número Mais Provável	Mínimo	Máximo
			10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>			
1 IMA	a	1,700	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,700	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,650	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,800	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,700	0	0	0	< 3		9,5
2 IMA	a	1,800	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,900	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,800	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,700	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,900	1	1	1	<b>11</b>	<b>3,6</b>	<b>38</b>
3 IMA	a	1,985	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,625	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,055	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,055	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,670	0	0	0	< 3		9,5
4 SIF	a	1,860	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,600	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,040	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,900	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,940	0	0	0	< 3		9,5
5 SIF	a	1,505	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,500	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,720	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,975	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,925	0	0	0	< 3		9,5
6 IMA	a	2,500	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,530	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,040	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,230	0	0	0	< 3		9,5
	e	2,280	0	0	0	< 3		9,5
7 SIF	a	2,594	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,794	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,375	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,090	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,860	0	0	0	< 3		9,5
8 SIF	a	1,815	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,020	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,080	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,780	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,710	0	0	0	< 3		9,5
9 IMA	a	2,116	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,497	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,141	0	0	0	< 3		9,5
	d	2,044	0	0	0	< 3		9,5
	e	2,596	0	0	0	< 3		9,5
10 IMA	a	1,800	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,650	0	0	0	< 3		9,5
	c	1,950	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,850	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,600	0	0	0	< 3		9,5

2ª Coleta							Intervalo de confiança (95 %)	
Abatedouro	Amostra	Peso carcaça	Diluição			Número Mais Provável	Mínimo	Máximo
			10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>			
11 IMA	a	2,620	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,160	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,480	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,660	0	0	0	< 3		9,5
	e	2,400	0	0	0	< 3		9,5
12 SIF	a	1,890	0	0	0	< 3		9,5
	b	1,860	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,040	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,785	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,960	2	3	1	<b>36</b>	<b>8,7</b>	<b>94</b>
13 SIF	a	1,685	0	1	1	<b>6,1</b>	<b>1,2</b>	<b>18</b>
	b	1,590	1	1	0	<b>7,4</b>	<b>1,3</b>	<b>20</b>
	c	1,560	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,715	0	0	0	< 3		9,5
	e	1,640	1	1	1	<b>11</b>	<b>3,6</b>	<b>38</b>
14 SIF	a	1,964	0	0	0	< 3		9,5
	b	2,224	0	0	0	< 3		9,5
	c	2,244	0	0	0	< 3		9,5
	d	1,948	0	0	0	< 3		9,5
	e	2,152	0	0	0	< 3		9,5
15 SIF	a	2,435	1	1	0	<b>7,4</b>	<b>1,3</b>	<b>20</b>
	b	2,220	2	3	1	<b>36</b>	<b>8,7</b>	<b>94</b>
	c	2,300	1	1	1	<b>11</b>	<b>3,6</b>	<b>38</b>
	d	1,935	2	2	1	<b>28</b>	<b>8,7</b>	<b>94</b>
	e	2,085	1	1	1	<b>11</b>	<b>3,6</b>	<b>38</b>

**APÊNDICE C – Características morfológicas e bioquímicas das espécies de *Campylobacter* spp.**

<b>Característica</b>	<b><i>C. jejuni</i></b>	<b><i>C. coli</i></b>	<b><i>C. lari</i></b>
Morfologia	Todos são bacilos pequenos e curvados		
Produção de oxidase	+	+	+
Produção da catalase	+	+	+
Hidrólise do hipurato	+	-	-
Sensibilidade ao ácido nalidíxico	S*	S*	R/S <sup>#</sup>
Sensibilidade à cefalotina	R	R	R

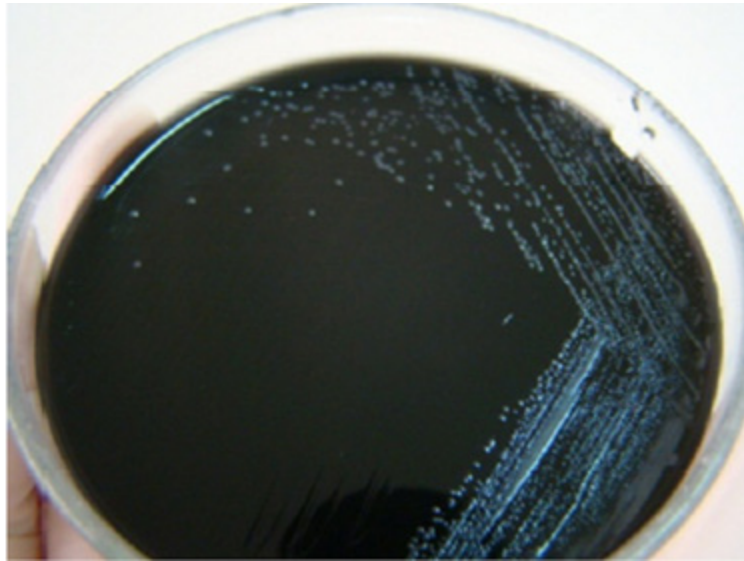
+ = positivo; - = negativo; S = sensível; R = resistente

\* = Um aumento na resistência ao ácido nalidíxico por *C. jejuni* e por *C. coli* tem sido observada

# = Existem cepas de *C. lari* sensíveis e outras resistentes.

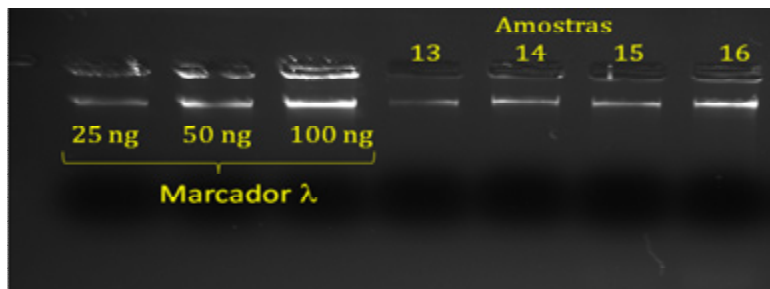
**Fonte:** ISO 10272-1:2006.

**APÊNDICE D** – Característica das colônias de *Campylobacter* em Agar Campy Base. Colônias pequenas, puntiformes, levemente cinzas a róseas e com brilho metálico.

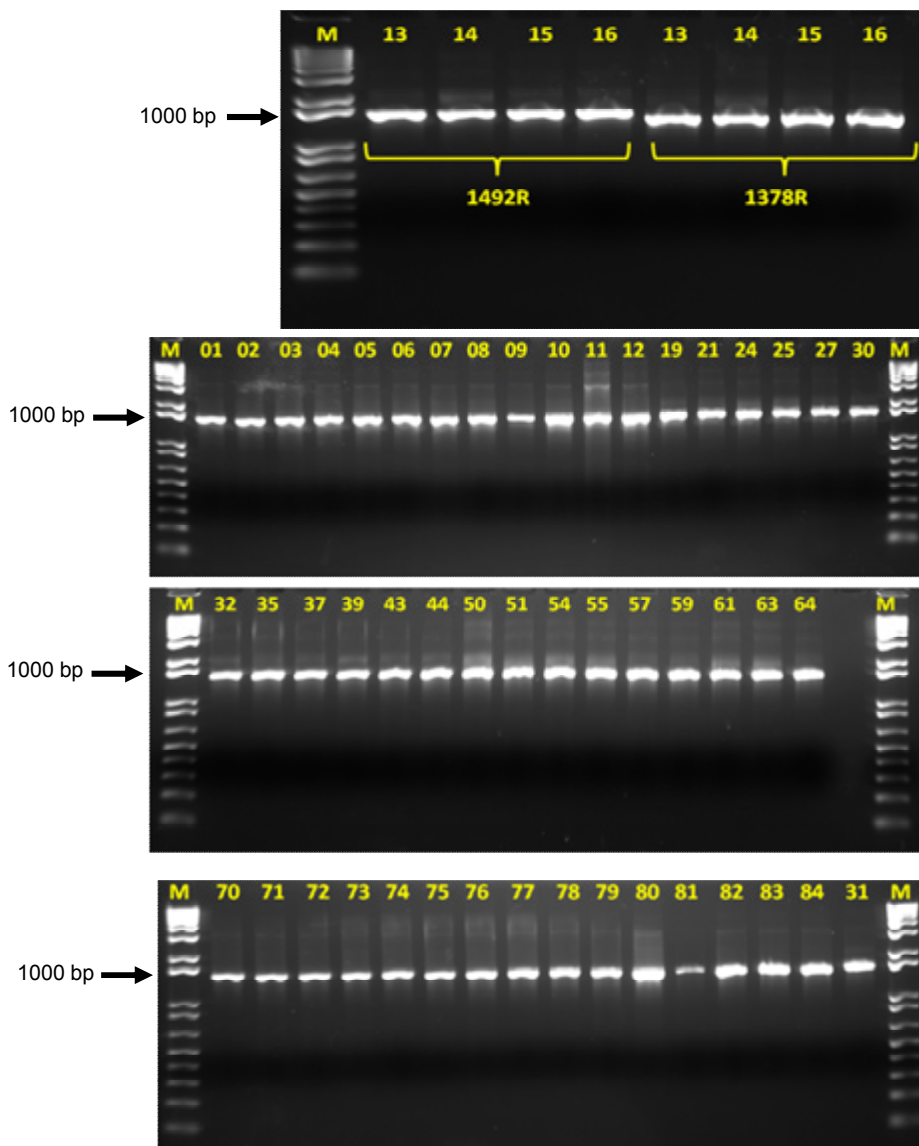


**Fonte:** Vaz (2012).

## APÊNDICE E – Imagens da Fotodocumentação na análise molecular dos isolados



Quantificação do produto de DNA extraído dos isolados das amostras submetidas à análise molecular.



Quantificação do produto de PCR dos isolados das amostras submetidas à análise molecular.

**Fonte:** Dados da pesquisa.