

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos  
Área de Bromatologia

*Campylobacter* spp. no abate e varejo: ocorrência em carcaças de bovinos para exportação e em cortes refrigerados de aves e bovinos

Graciela Volz Lopes

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientadora:  
Prof. Dra. Maria Teresa Destro

São Paulo  
2009

Graciela Volz Lopes

*Campylobacter* spp. no abate e varejo: ocorrência em carcaças de bovinos para exportação e em cortes refrigerados de aves e bovinos

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientadora:  
Prof. Dra. Maria Teresa Destro

São Paulo  
2009

**Ficha Catalográfica**

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

L864c      Lopes, Graciela Volz  
            *Campylobacter* spp. no abate e varejo: ocorrência em carcaças  
de bovinos para exportação e em cortes refrigerados de aves e  
bovinos / Graciela Volz Lopes. -- São Paulo, 2009.  
            103p.

            Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e  
Nutrição Experimental.

            Orientador: Destro, Maria Teresa

            1. Bromatologia 2. Microbiologia de alimentos I. T. II.  
Destro, Maria Teresa, orientador.

641 CDD

Graciela Volz Lopes

*Campylobacter* spp. no abate e varejo: ocorrência em carcaças de bovinos para exportação e em cortes refrigerados de aves e bovinos

Comissão Julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

---

Prof. Dra. Maria Teresa Destro  
orientadora/presidente

---

Prof. Dr. Luciano dos Santos Bersot  
1º. examinador

---

Prof. Dra. Mariza Landgraf  
2º. examinadora

São Paulo, 4 de dezembro de 2009.

*Aos meus pais, Selmar e Evoni, e aos meus irmãos, Daniela e Samuel,  
com muito amor e gratidão pelo carinho e incansável apoio durante a  
elaboração desse trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida e por todo cuidado.

À Prof. Dra. Maria Teresa Destro pela orientação, amizade, dedicação e oportunidade de aprendizado.

À Prof. Dra. Mariza Landgraf pelo convívio e sugestões para o desenvolvimento do trabalho.

À Prof. Dra. Bernadette Dora Gombossy de Melo Franco pelo apoio e ensinamentos transmitidos.

À Dra. Ana Luzia Lauria Filgueiras do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) pela imensa contribuição, por me receber em seu laboratório e pela disponibilização de cepas padrão.

Aos meus pais, Selmar e Evoni, que nunca mediram esforços para que eu fosse adiante, sempre apostando em mim.

Aos meus irmãos Samuel e Daniela, meu cunhado Jorge e minha sobrinha Júlia por estarem sempre ao meu lado, apoiando em todos os momentos.

Ao meu namorado Jean Victor por todo amor, dedicação e companhia em todos os momentos.

Aos queridos amigos Danielle, Maria Crystina, Verônica, Janaina, Priscila, Matheus, Anderson e André pela amizade, momentos de descontração e por toda ajuda prestada na realização deste trabalho.

Aos colegas do laboratório de microbiologia de alimentos: Adriana, Ana, Angela, Cecília, Denise, Eb, Flávia, Gabriela, Hans, Joyce, Kátia, Kátia Lima, Keila, Lina, Lúcia, Mayra, Marildes, Monika, Svetoslav, Tatiana, Vanessa, Verena e Vinicius, pelo companheirismo e troca de conhecimentos.

À Universidade de São Paulo e à Faculdade de Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

À Mônica, Cleonice e Edílson da secretaria do departamento pelos serviços prestados.

À Elaine e Jorge da secretaria de Pós-Graduação pela atenção dedicada e serviços prestados.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de bolsa de estudos e apoio financeiro para desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro para a realização do trabalho.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho de pesquisa.

Muito Obrigada!

## RESUMO

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. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

As infecções causadas por *Campylobacter* spp. são relatadas como causa freqüente de gastroenterites de origem alimentar em vários países do mundo. As espécies bacterianas termofílicas pertencentes ao gênero *Campylobacter*, principalmente *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, têm sido isoladas de fezes de animais e estão associadas à contaminação da carne durante o processo de abate. Estas duas espécies são as mais freqüentemente envolvidas nos casos de campilobacteriose humana veiculada por alimentos. O presente estudo pretendeu avaliar a presença e a população de *Campylobacter* spp. no abate de bovinos e cortes refrigerados de aves e bovinos comercializados na cidade de São Paulo/SP. Um total de 198 animais foi amostrado no couro logo após a sangria, na carcaça imediatamente após a esfolagem e após a evisceração. As amostras foram obtidas através da técnica de *swab* na região do peito abrangendo uma área de 400 cm<sup>2</sup>. Foram analisados também 120 cortes refrigerados de frango e 100 cortes de carne bovina, assim distribuídos: 40 amostras de asa, 20 de coxa com sobrecoxa, 20 de coxa, 20 de coxinha da asa, 20 amostras de peito; 20 de patinho bovino (*M. biceps femoris*), 20 de contrafilé (*M. longissimus dorsi*), 20 de coxão mole (*M. semi membranousus*), 20 de lagarto (*M. semitendinosus*) e 20 de alcatra (*M. glutaes medius*). As amostras foram analisadas segundo os métodos ISO 10272-1 e 2 e os isolados obtidos foram confirmados como *Campylobacter* pela técnica de PCR. *Campylobacter* foi isolado em 22,7% (45/198) das amostras de couro bovino, ou seja, apenas no ponto antes da esfolagem, e *C. jejuni* foi a única espécie encontrada. Nas amostras de cortes de frango *Campylobacter* foi isolado em 14,2% (17/120) das amostras. A espécie prevalente em frangos foi *C. coli* (88%), seguido de *C. jejuni* (12%). *Campylobacter* spp. não foi isolado dos cortes bovinos. A população de *Campylobacter* spp. foi < 13 UFC/cm<sup>2</sup> em carcaças bovinas, < 2 UFC/g em amostras de frango e < 10 UFC/cm<sup>2</sup> em cortes bovinos. A susceptibilidade de 120 isolados de frango e couro bovino foi determinada frente a 8 agentes antimicrobianos usando o método de disco-difusão. A resistência às quinolonas (ác. nalidíxico e ciprofloxacina) foi freqüentemente observada nas cepas de *C. jejuni* (72,2%) e *C. coli* (50,8%) isoladas dos frangos. Entre os isolados de *C. jejuni* obtidos do couro bovino maior taxa de resistência foi observada para estreptomicina (32%), seguida da eritromicina (16%) e do ácido nalidíxico (14%).

Palavras-chave: *Campylobacter* spp., cortes de frango, cortes bovinos, abate de bovinos.



## ABSTRACT

LOPES, G.V. ***Campylobacter* spp. at slaughterhouse and retail: occurrence in bovine carcasses for exporting and refrigerated chicken and beef cuts.** 2009. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

*Campylobacter* spp. infections are reported as a frequent cause of foodborne gastroenteritis in many countries. The thermophilic bacterial species belonging to the genus *Campylobacter*, particularly *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* have been isolated from feces of animals and are associated with the contamination of meat during the slaughtering process. These two species are the most frequently involved in cases of human campylobacteriosis conveyed by food. The aim of the present study was to evaluate the presence and population of *Campylobacter* spp. during cattle slaughter and in refrigerated chicken and beef cuts commercialized in the city of Sao Paulo/SP. A total of 198 animals were sampled in the hide after bleeding, the carcass immediately after skinning and after evisceration. Samples were obtained by swab technique in the chest area encompassing an area of 400 cm<sup>2</sup>. We also analyzed 120 refrigerated chicken cuts and 100 beef cuts. The samples were analyzed according to ISO 10272-1 and 2 methods and the isolates were confirmed as *Campylobacter* by PCR technique. *Campylobacter* was isolated only in the hide samples (45/198), and *C. jejuni* was the only species found. *Campylobacter* was isolated in 14.2% (17/120) of chicken samples. The most prevalent species in chickens was *C. coli* (88%), followed by *C. jejuni* (12%). *Campylobacter* spp. was not isolated from beef cuts. The counts of *Campylobacter* spp. was < 13 CFU/cm<sup>2</sup> in bovine carcasses, < 2 CFU/g in chicken samples and < 10 CFU/cm<sup>2</sup> in beef cuts. The susceptibility to 8 antimicrobial agents of 120 isolates of chicken and bovine hide was determined using the disk-diffusion method. The resistance to quinolones (ciprofloxacin and nalidixic acid) was frequently observed in strains of *C. jejuni* (72.2%) and *C. coli* (50.8%) isolated from chickens. Among strains of *C. jejuni* obtained from bovine hide highest resistance rate was observed to streptomycin (32%), followed by erythromycin (16%) and nalidixic acid (14%).

Keywords: *Campylobacter* spp., chicken cuts, beef cuts, cattle slaughter.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características das espécies termofílicas de <i>Campylobacter</i> [Adaptado de Stern <i>et al.</i> (2001)].....	10
<b>Tabela 2.</b> Fontes de isolamento das espécies de <i>Campylobacter</i> e doenças provocadas em humanos. ....	14
<b>Tabela 3.</b> Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em aves e subprodutos em diferentes etapas da cadeia produtiva em diferentes países. ....	19
<b>Tabela 4.</b> Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em carne de suínos e bovinos em diferentes etapas da cadeia produtiva em diferentes países.....	21
<b>Tabela 5.</b> Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em amostras de aves e outras amostras relacionadas em abatedouros no Brasil.....	23
<b>Tabela 6.</b> Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em amostras coletadas em granjas avícolas no Brasil. ....	24
<b>Tabela 7.</b> Características de <i>Campylobacter</i> spp. ....	36
<b>Tabela 8.</b> Características das espécies de <i>Campylobacter</i> . ....	38
<b>Tabela 9.</b> Sequência dos <i>primers</i> utilizados na identificação molecular dos isolados (HARMON <i>et al.</i> , 1997). ....	39
<b>Tabela 10.</b> Recuperação de <i>Campylobacter</i> spp. (Log UFC.g <sup>-1</sup> ) em cortes de aves artificialmente contaminados.....	44
<b>Tabela 11.</b> Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em cortes refrigerados de frango comercializados no varejo da cidade de São Paulo. ....	45
<b>Tabela 12.</b> Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em amostras de carcaças bovinas colhidas em três pontos da linha de abate de bovinos em frigorífico do estado de São Paulo com autorização para exportação para União Européia. ....	56
<b>Tabela 13.</b> Identificação dos bovinos positivos para <i>Campylobacter jejuni</i> nas amostras coletadas antes da esfolagem.....	61
<b>Tabela 14.</b> Perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de <i>C. coli</i> e <i>C. jejuni</i> isoladas de frango e do couro bovino.....	66

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Pontos de amostragem no fluxograma geral de abate de bovinos.....	30
<b>Figura 2.</b> Crescimento característico de <i>Campylobacter</i> em ágar mCCD. Fonte: Oxoid, s.d. ....	32
<b>Figura 3.</b> Representação esquemática da metodologia ISO 10272-1 e 10272-2 empregada para detecção e enumeração de <i>Campylobacter</i> spp. mCCDA: <i>modified Campylobacter blood-free selective agar</i> . AK: <i>Karmali blood-free agar</i> . ....	34
<b>Figura 4.</b> Avaliação da capacidade dos isolados em hidrolisar o hipurato de sódio.	37
<b>Figura 5.</b> Relação entre amostras testadas e amostras positivas para <i>Campylobacter</i> spp. em três pontos da linha de abate de bovinos em frigorífico do estado de São Paulo com autorização para exportação para União Européia .....	57
<b>Figura 6.</b> Distribuição das espécies de <i>Campylobacter</i> spp. isoladas de amostras de cortes de frango obtidas no varejo na zona oeste da cidade de São Paulo.....	63
<b>Figura 7.</b> Identificação das espécies de <i>Campylobacter</i> por multiplex-PCR segundo Harmon <i>et al.</i> (1997) realizada neste trabalho. Colunas 1 e 7: marcador de peso molecular (1 Kb); colunas 2 e 3: amostras positivas para <i>Campylobacter jejuni</i> ; colunas 4 e 5: amostra positiva para <i>Campylobacter coli</i> ; coluna 6: controle negativo da reação. ....	64
<b>Figura 8.</b> Percentagem de isolados do couro bovino e cortes de frango resistentes a diferentes antimicrobianos.....	67

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	1
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1	Histórico .....	4
2.2	Características do gênero <i>Campylobacter</i> .....	6
2.3	Campilobacteriose .....	8
2.4	Epidemiologia .....	13
2.5	Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em carnes e produtos cárneos.....	17
2.6	Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em carne de bovinos e aves no Brasil....	22
3	OBJETIVOS .....	27
4	MATERIAL E MÉTODOS .....	28
4.1	Material .....	28
4.1.1	Cepas de microrganismos .....	28
4.1.2	Coleta das amostras de frango e de carne bovina.....	28
4.1.3	Coleta das amostras no abate de bovinos .....	29
4.2	Métodos.....	31
4.2.1	Preparo das amostras de cortes de frango, cortes bovinos e carcaças bovinas.....	31
4.2.2	Enumeração de <i>Campylobacter</i> spp. (ISO 10272-2: 2006) .....	31
4.2.3	Avaliação da recuperação de <i>Campylobacter jejuni</i> em amostras de frango artificialmente contaminadas .....	32
4.2.4	Deteção de <i>Campylobacter</i> spp. (ISO 10272-1: 2006) .....	33
4.2.5	Confirmação do gênero <i>Campylobacter</i> spp. (ISO 10272-1: 2006) .....	34
4.2.5.1	Seleção e purificação das colônias .....	34
4.2.5.2	Exame da morfologia por coloração com fucsina .....	35
4.2.5.3	Avaliação da capacidade de multiplicação a 25°C .....	35
4.2.5.4	Avaliação da capacidade de multiplicação em aerobiose.....	35
4.2.5.5	Avaliação da produção de oxidase.....	35
4.2.6	Identificação das espécies de <i>Campylobacter</i> (ISO 10272-1: 2006) .....	36
4.2.6.1	Avaliação da produção de catalase .....	36
4.2.6.2	Avaliação da sensibilidade ao ácido nalidíxico e cefalotina .....	36
4.2.6.3	Avaliação da capacidade de hidrolisar o hipurato de sódio .....	36
4.2.6.4	Avaliação da capacidade de hidrolisar o acetato de indoxila .....	37
4.2.7	Manutenção das culturas bacterianas.....	37
4.2.8	Identificação molecular dos isolados .....	38
4.2.8.1	Preparo e extração do DNA.....	38
4.2.8.2	Amplificação dos fragmentos .....	38
4.2.8.3	Visualização dos produtos da PCR .....	39
4.2.9	Avaliação da sensibilidade antimicrobiana.....	40
4.2.10	Análise estatística .....	40

<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>5.1</b>	<b>Enumeração de <i>Campylobacter</i> spp.</b> .....	<b>41</b>
<b>5.1.1</b>	<b>Recuperação de <i>C. jejuni</i> em amostras de frango artificialmente contaminadas</b> .....	<b>43</b>
<b>5.2</b>	<b>Estudo da ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em cortes refrigerados de frango e de bovinos</b> .....	<b>45</b>
<b>5.2.1</b>	<b>Ocorrência em cortes refrigerados de frango</b> .....	<b>45</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Ocorrência em cortes refrigerados de bovinos</b> .....	<b>54</b>
<b>5.3</b>	<b>Estudo da ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em carcaças bovinas</b> .....	<b>56</b>
<b>5.4</b>	<b>Especiação dos isolados</b> .....	<b>62</b>
<b>5.5</b>	<b>Avaliação da resistência antimicrobiana</b> .....	<b>65</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>72</b>
	<b>APÊNDICE</b> .....	<b>88</b>

---

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se mundialmente na produção e industrialização de alimentos, sendo o principal produtor e exportador de proteína de origem animal. O setor carnes é uma das áreas do agronegócio brasileiro com maior dinâmica tecnológica e de conhecimento, ocupando posição de destaque na diferenciação e segmentação de mercados.

A produção e o consumo de carne de aves têm aumentado consideravelmente, uma vez que esta fonte protéica tornou-se a mais econômica entre as proteínas de origem animal. O Brasil apresenta hoje um consumo *per capita* de 38,9 Kg/habitante/ano, sendo que em 1989 era de apenas 10 Kg/habitante/ano (UBA, 2009). A produção avícola brasileira representa 55% da produção da América Latina sendo responsável anualmente por mais de 10,9 milhões de toneladas de carne de frango. Em 2008, a produção de frangos nas Américas cresceu 3,2%, atingindo 38,4 milhões de toneladas e confirmando a posição do continente como maior produtor dessa proteína. Os Estados Unidos foram os maiores produtores, com o volume total de 16.487 milhões de toneladas, sendo que o Brasil ficou em segundo lugar, com 10.9 milhões de toneladas (UBA, 2009).

Por outro lado o Brasil é o maior exportador desse produto. Segundo a Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (ABEF, 2009) as exportações de carne de frango totalizaram, no ano de 2008, 3,6 milhões de toneladas, o que corresponde a um crescimento de 11% em comparação com 2007. A receita cambial gerada foi de US\$ 6,9 bilhões, com um incremento de 40% em comparação com o ano anterior. Enquanto isso, os Estados Unidos ocupam o segundo lugar no ranking, totalizando 3,2 milhões de toneladas exportadas. Neste ano de 2009, a ABEF prevê um crescimento de até 5% nos volumes exportados de carne de frango (ABEF, 2009).

No que concerne à carne bovina, o Brasil é um dos maiores produtores mundiais, com média de 6,3 milhões de toneladas produzidas por ano e um consumo *per capita* situado em 36,6 kg/habitante/ano (AGROCARNES, 2009). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009) o rebanho bovino brasileiro é constituído de mais de 207 milhões de cabeças de gado, sendo

---

que a região Centro-Oeste abriga a maior parte do rebanho bovino nacional, com quase 72 milhões de cabeças. A produção brasileira de carne bovina em 2007 foi de 10,2 milhões de toneladas, resultado que manteve o país no terceiro lugar entre os maiores produtores mundiais, atrás somente de Estados Unidos e China, que apresentaram produção de 16,2 e 11,5 milhões de toneladas respectivamente (ABIEC, 2009).

De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC, 2009), no período de janeiro a dezembro de 2008, houve uma queda de 13% no volume exportado em relação ao mesmo período de 2007. Entretanto isso não refletiu no faturamento que apresentou crescimento de 26%.

Desde o ano de 2005, o Brasil vem sofrendo restrições à exportação de carne bovina “in natura” por parte da União Européia. Dentre as alegações, destacam-se a ocorrência de casos de febre aftosa em alguns estados e a precariedade do sistema de rastreabilidade, que permitiria o abate e comercialização para o mercado europeu de animais provenientes de áreas não habilitadas (IBGE, 2009).

Enfermidades transmitidas por alimentos (ETA) preocupam os agentes de saúde pública no mundo todo. Surtos de ETA ocorrem diariamente em todos os países e como maior parte destes casos não é relatada, a verdadeira dimensão do problema é desconhecida (WHO, 2009). Alimentos de origem animal podem ser fontes de transmissão de muitas bactérias responsáveis por ETA, o que os coloca entre os alimentos que mais preocupam os serviços de saúde pública.

Devido ao seu elevado valor biológico, pH, atividade de água, potencial redox, a carne serve de substrato para a multiplicação de inúmeros microrganismos. Além disso, as diversas operações que a carne sofre desde o abate dos animais até a comercialização, podem comprometer a qualidade e a inocuidade do produto final se as Boas Práticas de Fabricação não forem seguidas (PARDI *et al.*, 2001).

Vários microrganismos patogênicos já foram envolvidos como agentes causadores de doenças associadas ao consumo de carne e derivados, cabendo destacar *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* produtora de toxina de Shiga e *Campylobacter* spp. (ICMSF, 2005).

---

O gênero *Campylobacter* compreende um grupo de bactérias Gram negativas, habitantes do trato gastrointestinal de pessoas e animais. Destacam-se como agentes etiológicos de doenças reprodutivas ocasionando aborto e infertilidade em bovinos, ovinos e suínos, gerando grandes perdas econômicas ao setor pecuário (BUTZLER, 2004). Em humanos, a doença causada por essa bactéria é chamada campilobacteriose e representa um grande problema de saúde pública em diversos países.

Em alguns países desenvolvidos, *Campylobacter* é reconhecido como causa mais freqüente de gastroenterite bacteriana, junto com as bactérias do gênero *Salmonella* (ENGBERG, 2006). Foi estimado nos EUA que *Campylobacter* esteja envolvido em mais de 2,5 milhões de casos, com dez mil hospitalizações e 124 mortes anuais (MEAD, 1999), levando a um intenso monitoramento por parte das entidades de vigilância epidemiológica.

Apesar da grande produção brasileira de carne de frango e da posição de destaque que o país ocupa no panorama mundial, os dados sobre a incidência de *Campylobacter* em aves no Brasil ainda são escassos. Embora os bovinos sejam também carreadores freqüentes de *Campylobacter* spp. (STANLEY *et al.*, 1998; INGLIS *et al.*, 2004), não há relatos sobre a ocorrência de *Campylobacter* spp. em cortes bovinos no Brasil.

Em face ao apresentado, este trabalho de mestrado pretendeu detectar e enumerar *Campylobacter* spp. durante o abate de bovinos e em cortes refrigerados de aves e bovinos adquiridos no varejo da cidade de São Paulo.



---

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico

*Campylobacter* foi descrito pela primeira vez em 1886 por Theodor Escherich, que identificou uma bactéria espiralada no cólon de crianças que haviam morrido de uma doença denominada por ele de “cólera infantil”. Mais tarde, Escherich observou microrganismos espiralados em fezes de crianças com enfermidades diarréicas (BUTZLER, 2004).

Encontrado freqüentemente em animais, particularmente em bovinos e ovinos, *Campylobacter* é conhecido há muitos anos como causa de doenças veterinárias. Em 1909, McFadyean e Stockman (*apud* KIST, 1986) demonstraram a presença de microrganismos vibrióides em fetos abortados de ovelhas. Smith e Taylor propuseram, em 1919, o nome *Vibrio fetus* para microrganismos isolados de casos clínicos de aborto em bovinos nos EUA (*apud* KIST, 1986).

Em 1931, Jones *et al.* atribuíram a diarréia de bezerras à infecção por uma bactéria vibrióide, que recebeu o nome de *Vibrio jejuni* e em 1944 Doyle descreveu microrganismos similares associados à diarréia em suínos, que receberam o nome de *Vibrio coli* (*apud* BUTZLER, 2004).

Em 1947, na França, Vinzent *et al.* isolaram *Vibrio fetus* do sangue de três mulheres grávidas que foram internadas no hospital com febre de origem desconhecida. A doença durou cerca de quatro semanas e duas dessas três mulheres abortaram, tendo sido verificado que a placenta apresentava áreas de necrose e inflamação. Entretanto, o primeiro relato de infecção em humanos causada pelo que se conhece hoje como *Campylobacter* ocorreu em Illinois, em 1938, associado ao consumo de leite cru envolvendo 355 pacientes. O microrganismo isolado somente a partir do sangue dos pacientes foi denominado de *Vibrio jejuni* (*apud* BUTZLER, 2004).

Elisabeth King, em 1957, descreveu um víbrio semelhante ao agente descrito por Vinzent, mas com características bioquímicas e antigênicas diferentes. Ela denominou esses microrganismos como *related vibrios* (ENGBERG, 2006).

O gênero *Campylobacter* (do grego campylo = curvo e bacter = bacilo) foi inicialmente proposto por Sebald e Véron em 1963, separando-o do gênero *Vibrio*, baseados na relação Guanina/Citosina (G+C) do DNA e verificando que o teor G+C do gênero *Vibrio* oscilava em torno de 47%, enquanto em *Campylobacter* era de 30 a 40% (KETLEY, 1997). Dez anos depois, Véron e Chatelain publicaram um estudo mais compreensivo sobre a taxonomia desses microrganismos e consideraram quatro espécies dentro do gênero *Campylobacter*: *C. fetus*, *C. coli*, *C. jejuni* e *C. sputorum* (ENGBERG, 2006).

O isolamento de *Campylobacter* a partir de fezes de pacientes com diarreia só teve sucesso após a publicação por Butzler *et al.*, em 1973, de um novo método de cultivo que proporcionava o isolamento mais eficaz desta bactéria. De grande contribuição para o isolamento de *Campylobacter*, a partir de fezes de pacientes com diarreia, foi o trabalho de Skirrow, em 1977, que desenvolveu um suplemento seletivo, contendo vancomicina, polimixina B e trimetoprim, que possibilitou aos laboratórios diagnosticar e isolar a bactéria com a inibição da microbiota acompanhante.

BLASER *et al.* (1980) propuseram uma nova mistura de drogas contendo vancomicina, trimetoprim, polimixina B, anfotericina B e cefalotina. Segundo os autores, o número de isolamentos de *C. jejuni* utilizando esse meio foi semelhante ao isolamento de *Salmonella* spp. ou *Shigella* spp. em pacientes com diarreia.

Na década de 80 microrganismos similares ao *Campylobacter* foram isolados de diversas fontes e, devido à baixa atividade bioquímica que dificultava a diferenciação entre eles, foi proposto um grupo denominado CLO (*Campylobacter-like organisms*), englobando todas as espécies semelhantes (*apud* VANDAMME, 2000). Mais tarde, através de estudos empregando a porção 16S do RNAr várias espécies do grupo CLO foram transferidas para outros gêneros, como por exemplo, a transferência do *C. pylori* para o gênero *Helicobacter* e a criação do gênero *Arcobacter* (ON, 2001).

Em 1991, uma revisão completa da taxonomia e nomenclatura do gênero *Campylobacter* e bactérias relacionadas foi proposta por Vandamme e De Ley. Estes microrganismos ficaram agrupados na superfamília RNAr VI e esta

superfamília compreendeu os grupos homólogos I, II e III, representados pelos gêneros *Campylobacter*, *Arcobacter* e *Helicobacter*, respectivamente. Baseados na estreita relação filogenética e características genotípicas e fenotípicas comuns entre os grupos I e II foi proposta a criação e inclusão de ambos na família *Campylobacteraceae* (ENGBERG, 2006).

Atualmente, o gênero *Campylobacter* compreende 17 espécies e seis subespécies. 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, *C. concisus*, *C. showae*, *C. curvus*, *C. rectus*, *C. gracilis*, *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. 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. *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, por último, *C. laniane*, que foi isolado a partir das fezes de trabalhadores sadios de abatedouros (ON, 2001).

## 2.2 Características do gênero *Campylobacter*

*Campylobacter* faz parte da família *Campylobacteriaceae* e inclui bactérias Gram negativas, com tamanho de 0,2 a 0,5 µm de largura por 0,5 a 5 µm de comprimento. Apresentam morfologia típica de bastonetes curvos, espiralados formando "S" ou em formato de "asa de gaivota", quando duas células formam pequenas cadeias. São móveis, apresentando motilidade característica tipo saca-rolha ou vaivém. Sua multiplicação ocorre somente em atmosfera de microaerofilia, requerendo 5% de O<sub>2</sub> e temperatura preferencial de 42°C durante um período de 48 h. Além disso, são capnófilos, ou seja, requerem cerca de 10% de CO<sub>2</sub> para sua multiplicação. Não produzem endósporos (HOLT *et al.*, 1994).

Em culturas mais antigas, ou sob condições de cultivo adversas, as células de *Campylobacter* spp. podem adquirir formas esféricas ou cocóides, o que

representa um estágio degenerativo de seu ciclo de vida, sem levar à perda de seu poder infectante (NACHAMKIN, 2007). 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 estando na forma viável mas não cultivável (VNC) (BOVILL e MACKEY, 1997).

A concentração de O<sub>2</sub> ideal para a multiplicação de *Campylobacter* spp. é de 5%, sendo que em concentrações inferiores a 3% ou superiores a 15% sua multiplicação é inibida. Essas bactérias são muito sensíveis ao cloreto de sódio, sendo essa sensibilidade variável em função da temperatura. Assim, não se multiplicam em meios contendo 2% de NaCl; quando mantidos a 30°C ou a 35°C são sensíveis a 1% de NaCl. São também bastante sensíveis ao pH ácido e à desidratação (NACHAMKIN, 2007).

*Campylobacter* apresenta metabolismo oxidativo e não utiliza carboidratos como fonte de energia. A energia é obtida pela oxidação de aminoácidos ou ácidos intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico. São produtores de oxidase, reduzem nitrato a nitrito, mas não hidrolisam uréia, gelatina, caseína, amido ou tirosina (HOLT *et al.*, 1994).

Uma característica importante dentro do gênero *Campylobacter* é a capacidade de multiplicação em uma variedade de temperaturas. Algumas espécies multiplicam-se bem entre 25 e 37°C, mas não a 42°C, outras não apresentam essa capacidade a 25°C, multiplicam-se a 37°C, com um ótimo de temperatura a 42°C. Este último grupo é denominado termofílico ou termotolerante e contém principalmente espécies envolvidas com processos gastroentéricos de humanos. As espécies pertencentes a esse grupo são *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter upsaliensis*, das quais a mais importante é *Campylobacter jejuni* (NACHAMKIN, 2007; STANLEY e JONES, 2003; ALLOS e TAYLOR, 1998). Na Tabela 1 podemos visualizar algumas características bioquímicas e condições de multiplicação ideais das espécies termofílicas de *Campylobacter*.

*Campylobacter* não é termo-resistente, sendo facilmente destruído pela pasteurização, com valor D<sub>55</sub> entre 0,6 e 2,3 minutos. O pH ótimo para multiplicação

é de 6,5 a 7,5, o pH máximo é de 9,0 a 9,5, e não se multiplicam em pH 4,7 morrendo rapidamente em pH 4,0. É bastante sensível à desidratação e não se multiplica em atividade de água  $\leq 0,971$  (ICMSF, 2005).

*Campylobacter* é sensível à irradiação gama (1 KGy), mas a taxa de morte depende do tipo e estado físico do alimento processado. *Campylobacter* spp. é mais sensível à irradiação que outros patógenos de origem alimentar como *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* (NACHAMKIN, 2007).

O genoma de *Campylobacter* possui de 1600 Kb a 1700 Kb, embora a espécie *C. upsaliensis* tenha cerca de 2000 Kb. Este genoma corresponde a pouco mais de 30% do genoma de *Escherichia coli*, que possui 4500 Kb. Acredita-se que o pequeno tamanho do genoma de *Campylobacter* possa explicar o comportamento fastidioso no cultivo e sua incapacidade de fermentar carboidratos (VANDAMME, 2000).

### 2.3 Campilobacteriose

A infecção por *Campylobacter* spp. em humanos pode manifestar-se de várias formas, sendo a gastroenterite a mais comum. Como já destacado anteriormente, dentre as espécies associadas à gastroenterite encontram-se as espécies termofílicas *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis* (KETLEY, 1997). Considerando-se que *C. jejuni* e *C. coli* produzem uma doença com sintomatologia indistinguível, alguns autores não atribuem importância à diferenciação entre essas espécies, entretanto, os fatores de risco e as fontes de transmissão podem ser diferentes, o que justifica sua distinção em estudos epidemiológicos (ALLOS e TAYLOR, 1998).

A sintomatologia da campilobacteriose é clinicamente semelhante à causada por diversos outros patógenos entéricos, mas o agravante é a baixa dose infectiva, estimando-se que a ingestão de 400 a 500 células possa provocar a doença. O período de incubação varia normalmente de dois a cinco dias, podendo se estender até dez dias (BUTZLER, 2004).

**Tabela 1.** Características das espécies termofílicas de *Campylobacter* [Adaptado de Stern *et al.* (2001)].

Espécie	Condições de Multiplicação						Características Bioquímicas						
	25°C	42°C	1% Glicina	3,5% NaCl	Ác. Nalidíxico	Cefalotina	Oxidase	Catalase	Utilização Glicose	Redução NO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> S TSI	H <sub>2</sub> S papel	Hidrólise Hipurato
<i>C. jejuni</i>	-	+	+	-	S	R	+	+	-	+	-	+	+ <sup>a</sup>
<i>C. coli</i>	-	+	+	-	S	R	+	+	-	+	D	+	-
<i>C. lari</i>	-	+	+	-	R	R	+	+	-	+	-	+	-
<i>C. upsaliensis</i>	-	M	+	-	S	R	+	-	-	+	-	+	-

a = Cepas de *C. jejuni* Hipurato-negativas tem sido relatadas.

+ = 90% das cepas ou mais são positivas; - = 90% das cepas ou mais são negativas; D = 11% a 89% das cepas são positivas; M = 60% a 90% das cepas são positivas; S = Susceptível; R = Resistente.

---

A campilobacteriose caracteriza-se por diarreia líquida acompanhada de febre baixa e dores abdominais. Em alguns casos, a febre pode ser alta e as fezes podem conter sangue e muco. Outros sintomas são náusea, dor de cabeça e dor muscular, sendo que raramente ocorre vômito. A fase aguda da diarreia dura dois ou três dias, mas as dores abdominais podem persistir por até três semanas (NACHAMKIN, 2007). Segundo Skirrow e Blaser (2000) os pacientes se recuperam em uma semana e apenas 20% dos casos necessita de terapia com antibióticos.

A maioria das infecções é autolimitada, sendo necessária apenas a reposição hidro-eletrolítica. Somente nos casos mais graves, recomenda-se o uso de antimicrobianos, onde a droga de eleição é a eritromicina. Ciprofloxacina e outras fluoroquinolonas foram inicialmente utilizadas com sucesso, mas mediante ao aumento de resistência em alguns países, a indicação de uso desta classe de antibiótico passou a ser menos freqüente (SNELLING *et al.*, 2005).

Complicações decorrentes de enterite não são comuns, embora tenham sido relatados casos de bacteremias, septicemias, artrite reativa, endocardites, infecção do trato urinário, peritonites, meningites e abortos após a infecção intestinal (BUTZLER, 2004). A taxa de letalidade é de 0,1 óbitos por mil casos. Fatalidades são raras em indivíduos saudáveis, mas costumam ocorrer em pacientes com câncer ou outras doenças debilitantes (WHO, 2009).

Alguns pacientes (0,01% dos afetados) apresentam como seqüela da infecção uma neuropatia periférica conhecida como Síndrome de Guillain-Barré (GBS). Em muitos casos uma infecção causada por *Campylobacter jejuni*, e em especial por determinados sorogrupos específicos, antecederam o aparecimento da GBS, creditando este fato a uma resposta imune a antígenos específicos de *Campylobacter* (HADDEN e GREGSON, 2001).

GBS é uma doença inflamatória aguda desmielinizante que afeta o sistema nervoso periférico, levando à paralisia flácida e que pode comprometer os músculos da respiração e levar à morte. Desde a erradicação da poliomielite, a GBS é a causa mais freqüente de paralisia neuromuscular em países industrializados (HADDEN e GREGSON, 2001).

---

Em alguns casos, a infecção por *C. jejuni* pode desencadear a Síndrome de Miller Fisher, que se caracteriza por perda dos reflexos oculomotores e relativa perda da força nas extremidades e tronco. O processo é mediado por anticorpos-autoimunes contra a mielina do sistema nervoso periférico e está associado à infecção por *C. jejuni* e *Haemophilus influenzae* (OVERELL e WILLISON, 2005).

O mecanismo pelo qual *Campylobacter* causa doença em humanos ainda não está esclarecido, porém são reconhecidos dois fatores principais de virulência: a adesão e invasão de células epiteliais do hospedeiro e a produção de toxinas.

O passo inicial para que ocorra a infecção por *Campylobacter* é a adesão. Elementos estruturais como o flagelo, algumas proteínas de membrana externa e o lipopolissacarídeo permitem a travessia do muco intestinal e adesão da bactéria à célula epitelial. O formato curvo-espiralado da célula e o movimento típico em “sacacola” do *Campylobacter* facilitam o contato com o epitélio do intestino (FERNANDEZ, 2008). A aderência de bactérias patogênicas é frequentemente mediada por estruturas fimbriais. Não existem relatos na literatura da presença de fimbrias em *Campylobacter*, apenas um estudo demonstrando que uma “fimbria-like” foi produzida na presença de sais biliares (DOIG *et al.*, 1996).

A invasão celular tem importante papel na patogenicidade de *Campylobacter* (FERNANDEZ, 2008), sendo que a habilidade e intensidade de invasão parecem ser cepa-dependente, como mostram os estudos *in vitro* realizados com diferentes linhagens celulares como a Hep-2 (células de carcinoma de laringe humana), a HeLa (célula de carcinoma de útero humano) e também células do tecido epitelial intestinal humano INT-407 (KETLEY, 1997; VAN VLIET e KETLEY, 2001). O mecanismo pelo qual *Campylobacter* invade as células epiteliais ainda não é totalmente definido. Acredita-se que microfilamentos de actina e a formação de microtúbulos seriam responsáveis pela internalização. Além disso, certas proteínas sintetizadas por *Campylobacter*, após contato com a célula eucariótica, poderiam facilitar a internalização da bactéria promovendo a inflamação e a bacteremia (FERNANDEZ, 2008).

A caracterização da atividade tóxica de *Campylobacter* vem sendo estudada, pois se acredita que somente a invasão das células hospedeiras não seria capaz de



causar os efeitos citopáticos observados nas enterites (VAN VLIET e KETLEY, 2001). As toxinas têm sido consideradas um dos fatores mais importantes para explicar a patogenicidade de *Campylobacter*, sendo que essas podem ser enterotoxinas e/ou citotoxinas (KETLEY, 1997; WASSENAAR *et al.*, 1997).

A toxina de distensão citoletal (CDT) já foi caracterizada e detectada em diversas amostras de *Campylobacter* (WASSENAAR *et al.*, 1997; PURDY *et al.*, 2000). Seu papel como fator de virulência ainda não está elucidado, mas acredita-se que haja o envolvimento de CDT no processo de diarreia causando alteração nas células da cripta epitelial, levando a uma erosão temporária e subsequente perda da função de absorção (VAN VLIET e KETLEY, 2001).

Outra citotoxina bastante estudada é a toxina citoletal de arredondamento (CRLT), que recebe esse nome em função do aspecto arredondado que confere às células hospedeiras, observado principalmente em células CHO (célula de ovário de hamster chinês transformada) (WASSENAAR *et al.*, 1997).

Outro fator de virulência que parece ter relação com *C. jejuni* é a produção de hemolisinas. A síntese de hemolisinas, entretanto, parece ser dependente da presença de quelantes de ferro como o cálcio, que auxilia a ligação da toxina na membrana dos eritrócitos (BARATEIA *et al.*, 2001).

## 2.4 Epidemiologia

*Campylobacter* é uma das principais causas de diarreia em humanos, sendo *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* as espécies mais frequentemente associadas com gastroenterites agudas veiculadas por alimentos. *Campylobacter lari* e *Campylobacter upsaliensis* também são reconhecidos como patógenos primários, mas não são isolados com tanta frequência (WHO, 2009).

*Campylobacter* pode ser isolado de diversas fontes e pode provocar uma série de doenças em humanos, apresentadas na Tabela 2.

A campilobacteriose é uma zoonose e os reservatórios de *Campylobacter* são animais domésticos e silvêstres, particularmente aves. Na maioria dos casos, esses animais atuam como hospedeiros (PARK *et al.*, 1991; YANG *et al.*, 2003).

As aves domésticas são consideradas o principal reservatório de *Campylobacter jejuni* e eliminam populações superiores a  $10^6$  UFC por grama de fezes, revelando sua importância na disseminação da bactéria para o ambiente (ALTEKRUSE *et al.*, 1994). A presença de *Campylobacter* em amostras ambientais e de alimentos pode ser utilizada como indicador de contaminação fecal recente (JONES, 2001).

**Tabela 2.** Fontes de isolamento das espécies de *Campylobacter* e doenças provocadas em humanos.

Espécie	Fontes de Isolamento	Doenças provocadas em humanos
<i>C. coli</i>	Suínos, bovinos, ovinos e aves	Gastrenterite, septicemia, aborto
<i>C. concisus</i>	Humanos	Periodontite, gastrenterite
<i>C. curvus</i>	Humanos	Gastrenterite, periodontite
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	Bovinos, ovinos	Septicemia, gastrenterite, aborto, meningite
<i>C. fetus subsp. venerealis</i>	Bovinos	Septicemia
<i>C. gracilis</i>	Humanos	Periodontite, empiema, abscessos
<i>C. helveticus</i>	Cães e gatos	Não relatado
<i>C. hominis</i>	Humanos	Não patogênico, comensal no intestino
<i>C. hyointestinalis subsp. hyointestinalis</i>	Suínos, bovinos, hamsters, gamos, Humanos	Gastrenterite
<i>C. hyointestinalis subsp. lawsonii</i>	Suínos (estômago)	Não relatado
<i>C. insulaenigrae</i>	Mamíferos marinhos	Não relatado
<i>C. jejuni subsp. doylei</i>	Humanos	Gastrenterite, gastrite, septicemia
<i>C. jejuni subsp. jejuni</i>	Aves, suínos, ruminantes, cães, gatos, visons, coelhos, insetos, água	Gastrenterite, septicemia, meningite, aborto, síndrome de Guillain-Barré (SGB)
<i>C. lanienae</i>	Humanos	Não relatado
<i>C. lari</i>	Aves, cães, gatos, macacos, cavalos, lobos marinhos, água doce ou salgada	Gastrenterite, septicemia
<i>C. mucosalis</i>	Suínos	Não relatado
<i>C. rectus</i>	Humanos	Periodontite
<i>C. showae</i>	Humanos	Periodontite
<i>C. sputorum</i>	Ovinos, bovinos, suínos e humanos	Gastrenterite, enterite, abscessos
<i>C. upsaliensis</i>	Cães, gatos, humanos	Gastrenterite, septicemia, abscessos, aborto

Fonte: EUZÉBY, 2004.

---

O consumo de carne de frango é a principal fonte da infecção de *Campylobacter* para humanos e, em alguns países, esse microrganismo pode ser encontrado em até 90% das carcaças de frangos (DICKINS *et al.*, 2002). Carne bovina crua ou mal cozida, hambúrguer e salsicha também têm sido implicados em surtos de campilobacteriose, porém com menor frequência. Leite cru ou submetido a tratamento térmico inadequado e água não tratada têm sido incriminados como fontes de infecção por *Campylobacter* (BUTZLER, 2004).

A campilobacteriose é a causa mais comum de doença diarréica nos Estados Unidos da América (EUA). A vigilância ativa do FoodNet indica que cerca de 13 casos são diagnosticados por ano para cada 100.000. Muitos outros casos não são diagnosticados ou reportados, mas a estimativa é de que este microrganismo afete 2,4 milhões de pessoas todos os anos, ou seja, 0,8% da população americana (CDC, 2009).

No ano de 2008, 18.499 casos de infecção por patógenos intestinais foram confirmados em laboratório nas áreas pesquisadas pelo FoodNet daquele país, sendo que o número de infecções causadas pelo gênero *Campylobacter*, para cada 100.000 habitantes, foi de aproximadamente 5.825, ficando atrás somente de *Salmonella* que afetou 7.444/ 100.000 habitantes (MMWR, 2008).

Na Inglaterra e país de Gales, estimativas mostraram que no ano de 2000 ocorreram aproximadamente 360.000 casos de infecção por *Campylobacter*, totalizando 27% das doenças de origem alimentar (ADAK *et al.*, 2005). Na Holanda são estimados 80.000 casos de campilobacteriose por ano e os custos com a doença chegam a 21 milhões de euros (DE WIT *et al.*, 2001; HAVELAAR *et al.*, 2005).

Alguns surtos recentes de campilobacteriose merecem destaque. Em Madri, na Espanha, em maio de 2003 foi identificado um surto de gastroenterite causada por *Campylobacter* em uma escola. Oitenta e um casos foram identificados em um total de 253 pessoas avaliadas. O estudo revelou que um veículo incomum, uma sobremesa a base de creme feita com leite UHT, foi associado com a doença. O creme foi contaminado com *Campylobacter jejuni* proveniente de frango cru preparado no dia anterior na mesma cozinha (JIMÉNEZ *et al.*, 2005).

---

Em maio de 2005, na cidade de Copenhagem, Dinamarca, ocorreu um surto causado por *Campylobacter jejuni* e relacionado ao consumo de prato à base de frango por empregados de uma empresa. Este foi o primeiro grande surto de campilobacteriose identificado associado a alimento contendo frango na Dinamarca (MAZICK *et al.*, 2006).

Um grande surto causado por *Campylobacter jejuni* ocorreu no Canadá, em junho de 2007. Água e lama contaminadas com fezes de animais foram ingeridas pelos participantes de uma corrida longa de bicicleta e foi a provável causa. O surto afetou mais de 200 dos 785 participantes da corrida de 67 km em British Columbia (STUART *et al.*, 2008).

O mais recente surto de campilobacteriose causado por alimentos e envolvendo um grande número de pessoas, foi relatado ao *Center for Diseases Control* (CDC) dos EUA em outubro de 2007 e foi relacionado ao consumo de queijo fresco (MMWR, 2007). Nesse episódio, 101 pessoas consumiram queijo produzido a partir de leite não pasteurizado em uma comunidade rural no Kansas. Dentre as 101 pessoas que consumiram o queijo, 67 (66%) adoeceram. *Campylobacter jejuni* isolado de duas pessoas doentes apresentaram padrões genéticos indistinguíveis através de eletroforese de campo pulsado (PFGE). Uma cepa de *Campylobacter jejuni* isolada de uma terceira pessoa doente apresentou-se muito semelhante às outras duas. Embora todas as amostras de queijo tenham se mostrado negativas para *Campylobacter*, os resultados de investigação epidemiológica mostraram associação entre a doença e o consumo do mesmo.

No Brasil, assim como em outros países em desenvolvimento, não existem programas nacionais de vigilância que verifiquem a incidência da campilobacteriose, dessa forma os dados são muito escassos.

Em 2001, foi registrado pelo Centro de Vigilância Epidemiológica de São Paulo (CVE-SP), na cidade de Luís Antônio, um surto envolvendo 11 pessoas. Quatro agentes etiológicos foram identificados: *Campylobacter*, *E. coli* O158, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia*, porém a fonte de transmissão não foi reconhecida (CVE, 2001).

Em abril de 2003, foi também notificado ao CVE-SP um surto de infecção por *Campylobacter* envolvendo três pessoas que haviam consumido ovos de páscoa contaminados, na cidade de Ribeirão Preto, SP (CVE, 2003). Em agosto de 2003, foi registrado o último surto relatado causado por *Campylobacter* em São Paulo de acordo com dados do CVE-SP (CVE, 2003). Esse surto ocorrido na cidade de Santo André, SP, envolveu duas pessoas que haviam ingerido frango.

## **2.5 Ocorrência de *Campylobacter* spp. em carnes e produtos cárneos**

A carne de frango e seus derivados são considerados os principais veículos transmissores de *Campylobacter* para humanos (BUTZLER, 2004). Devido à elevada incidência de *Campylobacter* nas aves, estas têm merecido atenção especial por parte de alguns pesquisadores. Carnes de suínos e bovinos também já foram relacionadas com a contaminação por *Campylobacter*, porém a incidência tem se mostrado menor que nas aves.

Na Tabela 3, estão resumidos alguns dados sobre ocorrência de *Campylobacter* em amostras de aves coletadas em diferentes etapas da cadeia produtiva e em diferentes países, publicados nos últimos 13 anos. Resultados de pesquisas com carcaças de frango e produtos derivados de frango são os mais relatados ao redor do mundo.

Para carcaças examinadas em abatedouro a frequência de isolamento de *Campylobacter* variou entre 15% e 78,5% (LINDBLAD *et al.*, 2006; GHAFIR *et al.*, 2007; ARSENAULT *et al.*, 2007; SON *et al.*, 2007; ATANASSOVA *et al.*, 2007), sendo mais elevada na etapa do pré-chiller, conforme verificado por Son *et al.* (2007) que encontraram o microrganismo em 100% das carcaças analisadas. Aves na etapa de pré-escaldagem também apresentaram elevada frequência do microrganismo, sendo este detectado em 92% de carcaças de frango nessa etapa (SON *et al.*, 2007).

A elevada contaminação nas etapas de escaldagem e pré-chiller, pode ser explicada pelo fato de eventualmente ocorrer ruptura do intestino resultando em contaminação das carcaças. O processo de escaldagem a 50–53°C geralmente

reduz o número de *Campylobacter*, mas pode ocorrer recontaminação e contaminação cruzada entre as carcaças (SON *et al.*, 2007).

Dentre as espécies, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* foram as mais encontradas em amostras de carcaças de frango de abatedouro. Atanassova *et al.* (2007), na Alemanha, examinaram 144 amostras de peru na planta processadora após a desossa. A prevalência de *Campylobacter* foi de 29,2% (42 de 144) e a diferenciação bioquímica mostrou que *C. jejuni* foi encontrado em 61,9% das amostras, seguido de *C. fetus* (23,8%) e *C. coli* (14,3%).

Carcaças e cortes de aves obtidos em nível de varejo, de acordo com a Tabela 3, apresentaram positividade variando entre 10% e 100% (FERNANDEZ e PISÓN, 1996; ZANETTI *et al.*, 1996; UYTENDAELE *et al.*, 1999; HARRISON *et al.*, 2001; DOMINGUEZ *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).

Entre as pesquisas realizadas com cortes de frango do varejo, Pezzotti *et al.* (2003) e Sallam (2007) encontraram as maiores taxas de contaminação por *Campylobacter* termofílico. Na Itália, Pezzotti *et al.* (2003) encontraram o microrganismo em 81,3% das 155 amostras de carne de frango do varejo e Sallam (2007), no Japão, observou que 110 (64,7%) de 170 amostras de frango estavam contaminadas com *Campylobacter*.

A ocorrência de *Campylobacter* em amostras de fígado de frango foi bastante elevada, variando de 92,2% (FERNANDEZ e PISÓN, 1996) a 100% (WHYTE *et al.*, 2006). No Chile, Fernandez e Pisón (1996) verificaram que de 126 amostras analisadas, 117 (92,9%) foram positivas para *Campylobacter*, sendo *C. coli* (78,6%) a espécie mais freqüentemente isoladas, seguida de *C. jejuni* (21,4%). Na Nova Zelândia, Whyte *et al.* (2006) encontraram 100% das 30 amostras contaminadas por *Campylobacter*. Dentre os 171 isolados identificados, 168 foram *C. jejuni* e 3 foram *C. coli*. Segundo os autores, a elevada ocorrência de *C. jejuni* gera risco para os consumidores, visto que esta espécie é a mais freqüentemente associada com a doença em humanos.

**Tabela 3.** Ocorrência de *Campylobacter* spp. em aves e subprodutos em diferentes etapas da cadeia produtiva em diferentes países.

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 <i>et al.</i> , 2007
Carcaças de frango de abatedouro	140	35,8%	<i>Campylobacter</i> spp.	Canadá	Arsenault <i>et al.</i> , 2007
Carcaças de frango de abatedouro	636	15%	<i>Campylobacter</i> spp.	Suécia	Lindblad <i>et al.</i> , 2006
Carcaças de frango de abatedouro	325	78,5%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	EUA	Son <i>et al.</i> , 2007
Carcaças de aves do varejo	245	28,6%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Bélgica	Uyttendaele <i>et al.</i> , 1999
Cortes de aves do varejo	418	31,6%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>		
Carne de aves processada	70	10%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>		
Carcaças de frango do varejo	549 e 310	87,8% e 93,2%	<i>Campylobacter</i> spp.	2 estados da Austrália	Pointon <i>et al.</i> , 2008
Carcaças de frango do varejo	877	70,2%	<i>Campylobacter</i> spp.	Reino Unido	Meldrum e Wilson, 2007
Carcaças de frango do varejo	95	77%	<i>Campylobacter</i> spp.	Reino Unido	Harrison <i>et al.</i> , 2001
Carcaças de frango do varejo	15	40%	<i>Campylobacter</i> spp.	Alemanha	Klein <i>et al.</i> , 2007
Carcaças de frango do varejo	50	86%	<i>Campylobacter</i> spp.	Coréia	Scherer <i>et al.</i> , 2006
Cortes de frango e produtos	110	64,7%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Japão	Sallam, 2007
Cortes de frango	155	81,3%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Itália	Pezzotti <i>et al.</i> , 2003
Cortes de frango	32	37,5%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Itália	Zanetti <i>et al.</i> , 1996
Carne de peru	30	20%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>		
Cortes de frango	198	49,5%	<i>Campylobacter</i> sp	Espanha	Dominguez <i>et al.</i> , 2002
Cortes de frango	101	92%	<i>Campylobacter</i> sp	Inglaterra	Jorgensen <i>et al.</i> , 2002
Fígado de frango	30	100%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Nova Zelândia	Whyte <i>et al.</i> , 2006
Fígado de frango congelado	126	92,2%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Chile	Fernandez e Pisón, 1996
Carne de peru de abatedouro	144	29,2%	<i>Campylobacter</i> sp	Alemanha	Atanassova <i>et al.</i> , 2007
Carne de peru de varejo	100	34%	<i>Campylobacter</i> sp		

---

Tanto Dominguez *et al.* (2002) como Jorgensen *et al.* (2002) estudaram a ocorrência de *Campylobacter* spp. e de *Salmonella* em carne de frango e observaram que a frequência de contaminação foi maior para *Campylobacter*, mostrando a importância das aves como reservatórios do microrganismo. Na Espanha, das 198 amostras de carne de frango obtidas no varejo encontrou-se *Salmonella* em 71 (35,83%) e *Campylobacter* em 98 (49,5%) amostras (DOMINGUEZ *et al.*, 2002). Na Inglaterra, das 241 amostras de carnes de frango do varejo *Salmonella* foi isolada de 25% das amostras e *Campylobacter* foi isolado de 83% das amostras (JORGENSEN *et al.*, 2002).

Estudos com carne de peru do varejo foram realizados por Atanassova *et al.* (2007) e Zanetti *et al.* (1996). Na Alemanha a prevalência de *Campylobacter* foi de 34% das 100 amostras examinadas (ATANASSOVA *et al.*, 2007). A espécie mais encontrada foi *C. jejuni* (82,4%), seguida de *C. coli* (11,8%) e dois isolados de *C. fetus*. Na Itália *Campylobacter* foi isolado em 20% de 30 amostras de carne de peru. Dentre os isolados identificados 80% foram *C. jejuni* e 20% foram *C. coli* (ZANETTI *et al.*, 1996).

O estudo da ocorrência de *Campylobacter* em carne de mamíferos tais como suínos e bovinos tem recebido menor atenção por parte dos pesquisadores. Na Tabela 4 pode-se observar que a frequência de isolamento de *Campylobacter* em amostras de suínos e derivados variou entre 2,4% e 17% (ZANETTI *et al.*, 1996; PEZZOTTI *et al.*, 2003; GHAFIR *et al.*, 2007), sendo o patógeno encontrado mais frequentemente nas carcaças de abatedouros do que nos cortes e produtos derivados obtidos no varejo.

A frequência em bovinos também é baixa (Tabela 4), apesar de esses animais serem carreadores (HUMPHREY e BECKETT, 1987; STANLEY *et al.*, 1998; INGLIS *et al.*, 2004). Em estudos realizados com amostras coletadas no varejo verifica-se que em média 5% das amostras foram positivas para *Campylobacter* (STERN *et al.*, 1985; ONO e YAMAMOTO, 1999; WHYTE *et al.*, 2004). *Campylobacter jejuni* é a espécie mais frequentemente isolada de amostras bovinas.



**Tabela 4.** Ocorrência de *Campylobacter* spp. em carne de suínos e bovinos em diferentes etapas da cadeia produtiva em diferentes países.

Amostras	Nº de amostras	Prevalência	Espécie	País	Referência
<b>Suínos</b>					
Carcaças suínas	383	17%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Bélgica	Ghafir <i>et al.</i> , 2007
Carne suína	175	10,3%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Itália	Pezzotti <i>et al.</i> , 2003
Carne suína	27	3,7%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Itália	Zanetti <i>et al.</i> , 1996
Lingüiça suína	40	2,4 %	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>		
<b>Bovinos</b>					
Carcaças bovinas	60	3,3%	<i>Campylobacter jejuni</i>	Bélgica	Ghafir <i>et al.</i> , 2007
Carcaças bovinas	948	3,5%	<i>Campylobacter</i> sp	Finlândia	Hakkinen <i>et al.</i> , 2007
Carne bovina	151	1,3%	<i>Campylobacter jejuni</i> e <i>C. coli</i>	Itália	Pezzotti <i>et al.</i> , 2003
Carne bovina moída	8	-	<i>Campylobacter jejuni</i>	Canadá	Medeiros <i>et al.</i> , 2008
Fígado bovino	8	12,5%	<i>Campylobacter jejuni</i>	Canadá	Medeiros <i>et al.</i> , 2008

## 2.6 Ocorrência de *Campylobacter* spp. em carne de bovinos e aves no Brasil

Não foram encontrados na literatura estudos relacionados à ocorrência em nosso país de *Campylobacter* em carne de bovinos ou mesmo em suas fezes. Na Tabela 5 estão apresentados os dados encontrados sobre a ocorrência do microrganismo em aves e derivados.

Castro *et al.* (1997) desenvolveram uma pesquisa em dois abatedouros de frangos localizados no estado de São Paulo e observaram que 35,7% das águas de lavagem da carcaça após a evisceração foram positivas para *Campylobacter* spp. Outras amostras tiveram frequência de isolamento abaixo desse valor.

Em 2001, Carvalho *et al.* analisaram amostras coletadas em duas granjas comerciais de frango localizadas em Ribeirão Preto, SP, e encontraram baixa frequência de *Campylobacter*, tendo sido isolado em 16,7% amostras de swabs cloacais. Gomes *et al.* (2006) avaliaram a ocorrência de *Campylobacter* termofílico em fezes de frangos de 26 pequenas propriedades rurais localizadas na cidade de Pelotas, RS. Os autores também encontraram baixa frequência de *Campylobacter*, isolando o microrganismo em apenas 5,2% das amostras analisadas.

Carvalho *et al.* (2002) investigaram a presença de *Campylobacter jejuni* nas diferentes etapas da linha de abate de um abatedouro avícola localizado na região nordeste do estado de São Paulo. A água de lavagem das carcaças após a evisceração também mostrou uma elevada taxa de contaminação por *Campylobacter*, sendo 61,3% das amostras positivas para este microrganismo.

Franchin *et al.* (2005) analisaram, no sul do país, as possíveis fontes de contaminação por *Campylobacter* termofílico em frangos antes do abate. As amostras que apresentaram maior frequência de isolamento de *Campylobacter* foram amostras de penas (79,2%) e de cloaca (75%).

**Tabela 5.** Ocorrência de *Campylobacter* spp. em amostras de aves e outras amostras relacionadas em abatedouros no Brasil.

Amostras	Nº de amostras	Prevalência	Espécie	Estado	Referência
<b>Amostras de abatedouros</b>					
Fezes (plataforma)	140	25,8%	<i>Campylobacter</i> spp	São Paulo	Castro <i>et al.</i> , 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 <i>et al.</i> , 2002
Pena (pós-depenação)	50	38%	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Água de escaldamento	30	26,6%	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Água 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>		
Carcaça de frango	74	6,75%	<i>Campylobacter jejuni</i>	São Paulo	Scarcelli <i>et al.</i> , 2005
Carcaça pós-depenagem	72	68%	<i>Campylobacter</i> spp	Santa Catarina	Franchin <i>et al.</i> , 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		
Penas	24	79,2%	<i>Campylobacter</i> spp	Santa Catarina	Franchin <i>et al.</i> , 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 lavagem gaiola	24	25%	<i>Campylobacter</i> spp		
Carcaça de frango	96	99%	<i>Campylobacter jejuni</i>	Rio Grande do Sul	Kuana <i>et al.</i> , 2008
Fezes	404	5,2%-	<i>Campylobacter jejuni</i>	Rio Grande do Sul	Gomes <i>et al.</i> , 2006

**Tabela 6.** Ocorrência de *Campylobacter* spp. em amostras coletadas em granjas avícolas no Brasil.

Amostras	Nº de amostras	Prevalência	Espécie	Estado	Referência
<b>Amostras de granjas avícolas</b>					
Conteúdo cecal	110	81,8%	<i>Campylobacter jejuni</i>	Rio Grande do Sul	Kuana <i>et al.</i> , 2008
Fezes	110	80,9%	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Swab cloacal	230	80,4%	<i>Campylobacter jejuni</i>		
Swab cloacal	192	16,7%	<i>Campylobacter jejuni</i>	São Paulo	Carvalho <i>et al.</i> , 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>		

---

Em 2007, Franchin *et al.* pesquisaram a frequência de *Campylobacter* termofílico em carcaças de frango durante o processo de abate em um abatedouro do sul do Brasil. Dentre as 335 amostras analisadas, 71,3% foram positivas para *Campylobacter*. A frequência de *Campylobacter* nas carcaças após o chiller foi de 84,7%. Somente as amostras de água do chiller apresentaram maiores níveis de contaminação, estando 91,3% das amostras contaminadas por *Campylobacter*.

Kuana *et al.* (2008), em Porto Alegre, RS, pesquisaram a presença de *Campylobacter* spp. em carcaças no abatedouro antes da imersão no chiller e encontraram valores superiores a 97,9% das amostras positivas para *Campylobacter*. Os mesmos autores pesquisaram a presença de *Campylobacter* spp. na produção de 22 lotes comerciais de frangos. *Campylobacter* esteve presente em 81,8% das amostras de conteúdo cecal, 80,9% das amostras de fezes e 80,4% das amostras de swab cloacal, conforme pode ser visualizado na Tabela 6.

Além de pesquisas relacionadas com a ocorrência de *Campylobacter* na produção e processo de abate de frangos, já foram desenvolvidos estudos relacionados com 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).

A ocorrência de *Campylobacter* em carcaças e/ou cortes de aves varia com país, etapa da cadeia produtiva onde foi coletada a amostra e método de análise empregado. Enquanto alguns pesquisadores empregam a técnica de enxágüe (WHYTE *et al.*, 2006; SON *et al.*, 2007), outros optam por utilizar porções de pele de diferentes regiões (pescoço, peito, coxa, etc.) (UYTTENDAELE *et al.*, 1999; JORGENSEN *et al.*, 2002; SALLAM, 2007; GHAFIR *et al.*, 2007). Observa-se uma maior percentagem de positividade para *Campylobacter* quando utilizado o método de enxágüe (WHYTE *et al.*, 2006), onde foi possível detectar *Campylobacter* em 100% de 30 amostras de fígado de frango analisadas. Porém, deve-se considerar também a metodologia empregada para enriquecimento e isolamento das amostras.

---

A escassez de informação referente à ocorrência e população de *Campylobacter* spp. em cortes de aves e de bovinos no varejo em nosso país, bem como a necessidade de melhor conhecimento sobre a sua presença e população em diferentes etapas do abate de bovinos levou ao desenvolvimento deste estudo.

---

### 3 OBJETIVOS

- Avaliar a presença e população de *Campylobacter* spp. em cortes refrigerados de aves e bovinos comercializados no varejo da cidade de São Paulo, SP;
- Avaliar a presença e população de *Campylobacter* spp. em três pontos da linha de abate de bovinos destinados a exportação;
- Avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados obtidos.

---

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os meios de cultura, antibióticos e reagentes utilizados foram adquiridos da Oxoid (Basingstoke, Inglaterra), exceto quando especificado no texto. Os meios de cultura foram preparados de acordo com as instruções do fabricante.

### 4.1 Material

#### 4.1.1 Cepas de microrganismos

Utilizou-se *Campylobacter jejuni* (American Type Culture Collection – ATCC 33291) e *Campylobacter coli* (American Type Culture Collection – ATCC 33559) como controles positivos, adquiridos da Oxoid. As cepas padrão foram mantidas a temperatura de -70° C em água peptonada 1% adicionada de 0,5% de NaCl (Synth, Brasil) e 25% de glicerol (Synth).

#### 4.1.2 Coleta das amostras de frango e de carne bovina

As amostras de cortes refrigerados de frango e de carne bovina foram obtidas de supermercados da região oeste da cidade de São Paulo, SP, foram mantidas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e foram transportadas imediatamente ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. A coleta das amostras foi realizada no período de março de 2008 a maio de 2009.

Foram analisadas 120 amostras de cortes refrigerados de frango, assim distribuídos: 40 amostras de asa, 20 amostras de coxa com sobrecoxa, 20 amostras de coxa, 20 amostras de coxinha da asa (Drumett) e 20 amostras de peito. Cada amostra era composta por aproximadamente 500 g do produto. Já para carne bovina foram analisadas 100 amostras, sendo 20 de patinho bovino (*M. biceps femoris*), 20 de contrafilé (*M. longissimus dorsi*), 20 de coxão mole (*M. semi membranousus*), 20 de lagarto (*M. semitendinosus*) e 20 de alcatra (*M. glutaes medius*). As amostras estavam acondicionadas em bandejas e continham em média 500 g de carne.



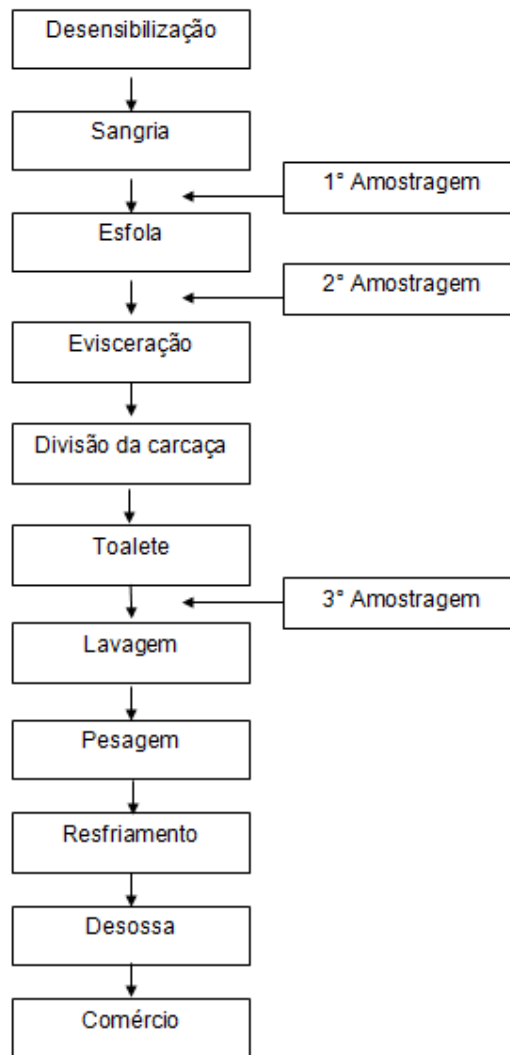
### 4.1.3 Coleta das amostras no abate de bovinos

A análise de amostras de couro e de carcaças bovinas está inserida no projeto de pesquisa “Melhorando a qualidade e a segurança da carne bovina através da pesquisa e inovação” (ProSafeBeef). O projeto é uma iniciativa da União Européia para avaliar a qualidade da carne bovina em toda sua cadeia produtiva. Este projeto envolve 42 participantes de 13 países europeus, além do Brasil, Estados Unidos, Canadá, Austrália e Nova Zelândia. No Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP está sendo desenvolvida a avaliação quantitativa dos principais patógenos bacterianos em carne bovina: *Escherichia coli* verotoxigênica, *Salmonella*, *Campylobacter* e *Listeria*.

As amostras de couro e carcaça bovina foram obtidas em um abatedouro frigorífico localizado no interior do estado de São Paulo, o qual é responsável por 70% da carne brasileira exportada para União Européia. Os pontos examinados e a metodologia empregada para a coleta das amostras foram definidos em comum acordo com os demais participantes do estudo.

Foram amostrados, no período de janeiro a dezembro de 2008, 198 animais. As amostras foram coletadas no couro do animal, logo após a sangria e na carcaça imediatamente após a esola. Para 85 animais um terceiro ponto foi também amostrado, e corresponde à meia carcaça após a evisceração e toailete final (antes de entrar na sala de resfriamento), conforme assinalado no fluxograma da (Figura 1). Os animais a serem amostrados eram identificados de modo a proceder à análise da respectiva carcaça. Em cada um dos pontos de coleta uma amostra total de 400 cm<sup>2</sup> foi obtida na região do peito de cada animal, e sua respectiva carcaça, empregando-se quatro esponjas (Biotrace Int. Bioproducts e Nasco, Modesto, EUA) umedecidas com solução salina peptonada. Cada esponja foi friccionada em uma área de 100 cm<sup>2</sup> e as quatro esponjas foram colocadas em uma mesma bolsa plástica estéril (Nasco).

As esponjas foram mantidas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e transportadas ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.



**Figura 1.** Pontos de amostragem no fluxograma geral de abate de bovinos.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Preparo das amostras de cortes de frango, cortes bovinos e carcaças bovinas

Os cortes de frango foram assepticamente pesados e submetidos a enxágüe com 100 mL de água peptonada tamponada, com fricção de toda superfície durante um minuto. Alíquotas do caldo de enxágüe das amostras foram utilizadas para enumeração e detecção de *Campylobacter*, conforme os itens 4.2.2 e 4.2.4.

Para as amostras de cortes bovinos, uma área de 100 cm<sup>2</sup> foi amostrada pela técnica de swab, utilizando-se amostrador estéril para demarcar a região e esponja umedecida com 10 mL de solução salina peptonada. Cada esponja foi acondicionada em bolsa plástica estéril (Nasco), foram adicionados 100 mL de solução salina peptonada e o conjunto foi homogeneizado durante 30 segundos em *stomacher* (Lab Blender 400, Seward, Inglaterra) e o líquido submetido à centrifugação a 1000 g por 15 minutos a 5°C (Centrífuga Sorvall Instruments, RC-5B, rotor GSA, Dupont, EUA), ressuspendendo-se o sedimento em 100 mL de caldo Bolton.

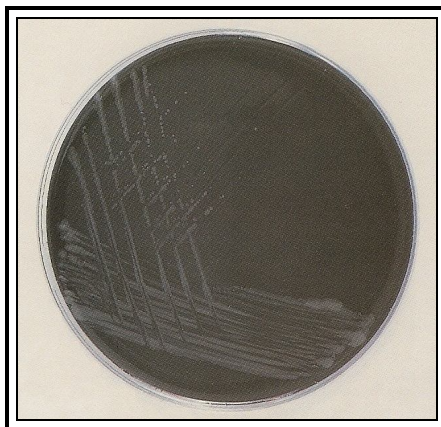
Para as amostras de couro e carcaças bovinas, 200 mL de solução salina peptonada foram adicionados à bolsa contendo as quatro esponjas e submeteu-se à homogeneização durante 30 segundos em *stomacher*. Uma porção de 40 mL foi destinada para a análise de *Campylobacter*, enquanto o restante foi utilizado para os estudos com *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Listeria*. Para a pesquisa de *Campylobacter*, os 40 mL foram submetidos à centrifugação a 1000 g por 15 minutos a 5°C e o sedimento ressuspendido em 100 mL de Caldo Bolton.

### 4.2.2 Enumeração de *Campylobacter* spp. (ISO 10272-2: 2006)

Alíquotas do caldo de lavagem dos frangos (4.2.1) e do caldo Bolton das amostras de bovinos (4.2.1) foram submetidas a diluições seriadas em solução salina peptonada. Porções de 0,1 mL foram semeadas superficialmente em placas de ágar carvão cefoperazona desoxicolato modificado (mCCD). As placas foram incubadas por quatro horas a 37°C seguidas de 44 horas a 41,5°C, sob condições de microaerofilia (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>) empregando o sistema Campygen

(Oxoid). Foram utilizadas jarras de anaerobiose de 2,5 L (Merck, Darmstadt, Alemanha).

As colônias características no ágar mCCD, achatadas, úmidas, com coloração cinza e brilho metálico (Figura 2), foram contadas e três a cinco colônias foram submetidas à identificação bioquímica. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g) de frango analisado e unidades formadoras de colônias por centímetro quadrado (UCF/cm<sup>2</sup>) de carne bovina e carcaça bovina.



**Figura 2.** Crescimento característico de *Campylobacter* em ágar mCCD. Fonte: Oxoid, s.d.

#### **4.2.3 Avaliação da recuperação de *Campylobacter jejuni* em amostras de frango artificialmente contaminadas**

Para a preparação do inóculo, a cepa *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 foi semeada em ágar Columbia suplementado com 5% de sangue de carneiro, incubado por 48 horas a 41,5°C em condições de microaerofilia. Uma porção do crescimento em ágar sangue Columbia foi inoculada em Caldo Tioglicolato até obtenção de uma turvação 0,5 na escala McFarland (BioMérieux, França) equivalente a 10<sup>8</sup> UFC/mL. A partir daí foram realizadas diluições decimais para obtenção das diferentes populações bacterianas desejadas. A população de

*Campylobacter* nos inóculos foi confirmada através da enumeração em ágar mCCD após incubação de 48 h a 41,5°C.

Aproximadamente 250 g de coxa de frango, adquirida no varejo, foram contaminados superficialmente com a suspensão bacteriana de modo a conter populações de *Campylobacter jejuni* na ordem de:  $10^3$  UFC/g,  $10^2$  UFC/g e 10 UFC/g. O inóculo foi deixado em contato com a superfície durante cinco minutos em fluxo laminar. A seguir, os cortes de frango foram submetidos a enxágüe com 100 mL de água peptonada tamponada, com fricção em toda superfície durante um minuto. Alíquotas do caldo de lavagem foram submetidas a diluições seriadas e porções de 0,1 mL foram semeadas superficialmente em placas de ágar mCCD. As placas foram incubadas conforme descrito no item 4.2.1. As colônias características foram contadas e, após identificação, o resultado expresso em UFC/g de frango. Essa avaliação foi repetida por três vezes em dias diferentes.

#### **4.2.4 Detecção de *Campylobacter* spp. (ISO 10272-1: 2006)**

Uma alíquota de 10 mL do caldo de lavagem dos frangos (4.2.1) foi adicionada a 90 mL de caldo Bolton suplementado e foi incubada por um período de pré-enriquecimento de quatro horas a 37°C seguido de enriquecimento de 44 horas a 41,5°C, sob condições de microaerofilia. Para as amostras de cortes bovinos, couro e carcaças bovinas, o volume restante dos caldos Bolton obtidos em 4.2.1 foram incubados sob as mesmas condições descritas para as aves.

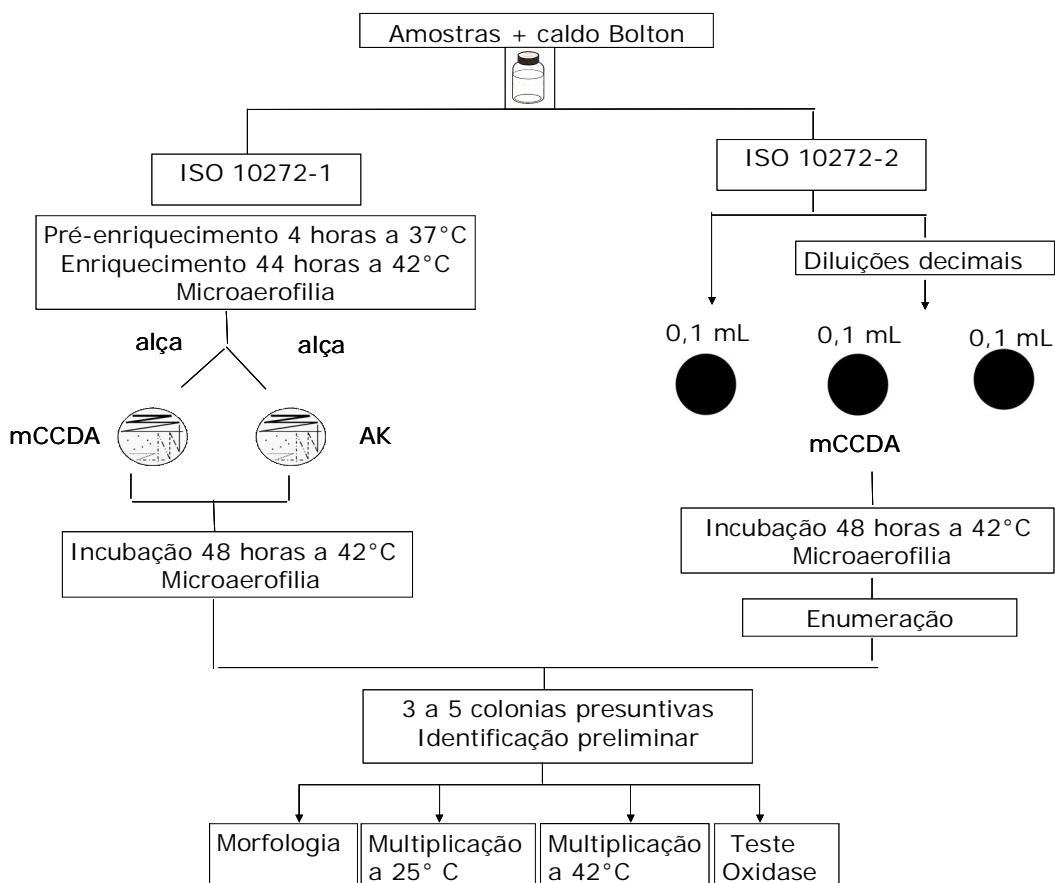
A seguir, alíquotas de cada amostra foram semeadas, por esgotamento, na superfície de ágar mCCD e ágar Karmali. As placas foram incubadas a 41,5°C por 48 horas sob condições de microaerofilia. Entre três e cinco colônias características de pertencerem ao gênero *Campylobacter* foram purificadas e submetidas aos testes bioquímicos para identificação do microrganismo. Colônias típicas no ágar Karmali são semelhantes às do ágar mCCD (4.2.2).

Na Figura 3 está a representação esquemática da metodologia empregada para detecção e enumeração de *Campylobacter* em aves e bovinos.

## 4.2.5 Confirmação do gênero *Campylobacter* spp. (ISO 10272-1: 2006)

### 4.2.5.1 Seleção e purificação das colônias

Cada uma das colônias selecionadas (4.2.2 e 4.2.4) foi semeada por esgotamento em placas de ágar sangue Columbia para purificação e obtenção de colônias isoladas. As placas foram incubadas em microaerofilia a 41,5°C por 24 a 48 horas. As culturas puras foram utilizadas para examinar a morfologia, crescimento a 25°C, crescimento aeróbio a 41,5°C e capacidade de produção de oxidase. Na Tabela 7 encontram-se os resultados confirmatórios para *Campylobacter* para esses testes.



**Figura 3.** Representação esquemática da metodologia ISO 10272-1 e 10272-2 empregada para detecção e enumeração de *Campylobacter* spp. mCCDA: *modified Campylobacter blood-free selective agar*. AK: *Karmali blood-free agar*.

#### **4.2.5.2 Exame da morfologia por coloração com fucsina**

Uma porção da cultura obtida no ágar sangue Columbia foi transferida para uma lâmina de microscopia e submetida à coloração com fucsina. As lâminas foram observadas por imersão empregando microscópio óptico (Olympus, Japão) com aumento de 1000x. Foram consideradas positivas as colônias que apresentaram bacilos pequenos e com formato de “S” ou “asa de gaivota”.

#### **4.2.5.3 Avaliação da capacidade de multiplicação a 25°C**

A partir de uma colônia obtida em 4.2.5.1 semeou-se a superfície de uma nova placa de ágar sangue Columbia que foi incubada a 25°C por 48 horas sob condições de microaerofilia. Como as espécies termofílicas de *Campylobacter* não se desenvolvem a 25°C, aqueles isolados que apresentam multiplicação nessas condições foram descartados.

#### **4.2.5.4 Avaliação da capacidade de multiplicação em aerobiose**

A partir de uma colônia obtida em 4.2.5.1 semeou-se a superfície de uma nova placa de ágar sangue Columbia que foi incubada a 41,5°C por 48 horas em aerobiose. As espécies termofílicas de *Campylobacter* não se multiplicam sob condição de aerobiose.

#### **4.2.5.5 Avaliação da produção de oxidase**

Uma porção do crescimento obtido no ágar sangue Columbia (4.2.5.1) foi aplicada, com auxílio de alça bacteriológica descartável, em tiras de papel filtro umedecido com reagente de Oxidase (N, N, N', N'-Tetramethyl-p-phenylenediamine-2HCL). O aparecimento de coloração azul escuro dentro de 10 segundos indica resultado positivo. *Campylobacter* produz oxidase.

**Tabela 7.** Características de *Campylobacter* spp.

<b>Característica</b>	<b>Resultado</b>
Morfologia	Bacilo pequeno e curvado
Multiplicação a 25°C	Negativo
Multiplicação em aerobiose	Negativo
Produção de Oxidase	Positivo

Fonte: ISO 10272-1: 2006.

#### **4.2.6 Identificação das espécies de *Campylobacter* (ISO 10272-1: 2006)**

##### **4.2.6.1 Avaliação da produção de catalase**

O teste de produção de catalase foi realizado misturando-se em uma lâmina de vidro a cultura proveniente do ágar sangue Columbia (4.2.5.1) com aproximadamente 50 µL de peróxido de hidrogênio (Sigma-Aldrich, Nova Iorque, EUA) a 3% (v/v). A produção de bolhas em 30 segundos indica a produção de catalase.

##### **4.2.6.2 Avaliação da sensibilidade ao ácido nalidíxico e cefalotina**

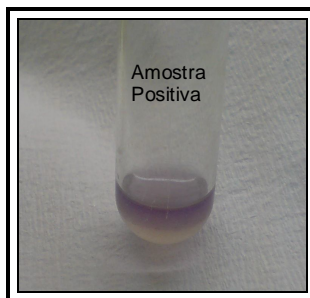
A partir de uma porção do crescimento em ágar sangue Columbia (4.2.5.1) foi preparada uma suspensão, equivalente a 0,5 na escala de McFarland, em caldo Brucela. Uma alíquota de 0,2 µL foi semeada com alça de Drigalski na superfície de ágar Muller-Hinton suplementado com 5% de sangue de carneiro. Em seguida foram adicionados os discos de ácido nalidíxico e cefalotina (Cefar, Brasil) com concentração de 30 µg cada. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas em atmosfera de microaerofilia. A ocorrência de crescimento ao redor do disco levou a classificação do isolado bacteriano como “resistente” e na presença de zona de inibição de crescimento, de qualquer tamanho, a cepa foi classificada como “sensível”.

##### **4.2.6.3 Avaliação da capacidade de hidrolisar o hipurato de sódio**

Para avaliar a capacidade dos isolados bacterianos em hidrolisar o hipurato foi feita uma suspensão da cultura proveniente de 4.2.5.1 em solução de hipurato de sódio (Sigma-Aldrich) 1% (p/v). Os tubos foram homogeneizados e incubados a 37°C



por quatro horas. Em seguida foram adicionados 0,2 mL de solução de ninidrina (3,5% ninidrina em butanol-acetona 1:1) (Sigma-Aldrich, Nova Iorque, EUA) tomando cuidado de não agitar os tubos. As amostras foram novamente incubadas a 37°C por 10 minutos. O aparecimento de coloração violeta escuro (Figura 4) indica reação positiva para hidrólise do hipurato de sódio.



**Figura 4.** Avaliação da capacidade dos isolados em hidrolisar o hipurato de sódio.

#### 4.2.6.4 Avaliação da capacidade de hidrolisar o acetato de indoxila

Discos impregnados com acetato de indoxila (Sigma-Aldrich) foram inoculados com uma porção do crescimento obtido em ágar sangue Columbia (4.2.5.1) e a seguir foi adicionada uma gota de água destilada estéril em cada disco. A hidrólise do acetato de indoxila resulta no aparecimento de coloração azul escura dentro de 5 a 10 minutos.

As espécies de *Campylobacter* foram diferenciadas de acordo com os parâmetros apresentados na Tabela 8.

#### 4.2.7 Manutenção das culturas bacterianas

Os isolados identificados como *Campylobacter* foram mantidos a -70°C em água peptonada 1% (p/v) adicionada de 0,5% de NaCl (p/v) (Synth) e 25% de glicerol (v/v) (Synth).

**Tabela 8.** Características das espécies de *Campylobacter*.

Ensaio	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>
Produção de catalase	+	+	+
Sensibilidade ao ácido nalidíxico	S*	S*	R/S#
Sensibilidade a cefalotina	R	R	R
Hidrólise do hipurato	+	-	-
Hidrólise do acetato de indoxila	+	+	-

+ = 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.

#### 4.2.8 Identificação molecular dos isolados

##### 4.2.8.1 Preparo e extração do DNA

Os isolados suspeitos de pertencerem ao gênero *Campylobacter* e as cepas controle (4.1.1) foram semeados em ágar sangue Columbia e incubados a 41,5°C por 48 horas em condições de microaerofilia. Uma porção do crescimento foi diluída em 100 µL de água Milli-Q estéril (Millipore, Billerica, EUA) a fim de obter uma população de 10<sup>9</sup> UFC/mL (escala 4 de McFarland). As amostras foram submetidas à centrifugação (11000 g) em centrífuga 5417C (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) e o *pellet* usado para extração do DNA empregando-se o Kit comercial *DNeasy Blood & Tissue Kit* (QIAGEN, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante. O material genético foi mantido a – 20°C até o momento do uso.

##### 4.2.8.2 Amplificação dos fragmentos

Foi realizada uma reação de *multiplex* PCR para diferenciar as espécies *C. jejuni* e *C. coli*, segundo metodologia descrita por Harmon *et al.* (1997). Os *primers* utilizados estão listados na Tabela 9. A reação de PCR foi realizada empregando-se o kit *GoTaq Green Master Mix* (Promega Corporation, Madison, USA), adicionando-se 20 pmole de cada um dos primers C1 e C4, 40 pmole de cada um dos primers pg3 e pg50 e 5,0 ng da amostra de DNA molde (4.2.8.1) para 25 µL de reação. A amplificação foi realizada através de um aquecimento inicial (*hot start*) a 94°C por 4 min seguidos de 25 ciclos de 1 min a 94°C; 1 min a 45°C e 1 min a 72°C e uma

extensão final por 7 min a 72°C em termociclador epMastercycler S (Eppendorf). Após a amplificação os produtos da PCR, se não submetidos imediatamente à eletroforese, foram mantidos a – 20°C.

Em todas as reações empregou-se *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 e *Campylobacter coli* ATCC 33559 como controles positivos. Utilizou-se como controle negativo um tubo de reação onde água ultra-pura estéril foi utilizada em substituição ao DNA bacteriano.

**Tabela 9.** Sequência dos *primers* utilizados na identificação molecular dos isolados (HARMON *et al.*, 1997).

Primer	Sequência de Nucleotídeos (5' – 3')	Tamanho do fragmento (pb)	Gene alvo	Espécie identificada
pg3	GAA-CTT-GAA-CCG-ATT-TG	460	<i>fla A</i>	<i>C. coli</i>
pg50	ATG-GCA-TTT-CGT-ATT-AAC	480		<i>C. jejuni</i>
c-1	CAA-ATA-AAG-TTA-GAG-GTA-GAA-TGT	160	ND	<i>C. jejuni</i>
c-4	GGA-TAA-GCA-CTA-GCT-AGC-TGA-T			

ND: Gene não determinado de *C. jejuni*.

#### 4.2.8.3 Visualização dos produtos da PCR

Aos produtos da amplificação foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,5% em tampão TBE 0,5X [0,9 M Tris (Pharmacia Buckinghamshire, USA), 0,9 M ácido bórico (Pharmacia), 0,02 M EDTA (Pharmacia) – pH 8,2] e utilizou-se o marcador de peso molecular 100 pb GeneRuler™ 100 pb (Fermentas, Ontário, Canadá). A eletroforese foi realizada em cuba horizontal Gel XL Ultra V2 (Labnet) por 30 minutos a 100 V, contendo TBE 0,5X. Após a eletroforese o gel foi corado em solução de brometo de etídeo (1 µg.mL<sup>-1</sup>) (Pharmacia), e a imagem foi registrada com o auxílio do sistema EDAS120 (Eastman Kodak, Nova Iorque, USA), sob transiluminação a UV 302 nm (Pharmacia LKB Macro Vue, Pharmacia). Os padrões obtidos foram comparados visualmente.

---

#### 4.2.9 Avaliação da sensibilidade antimicrobiana

Realizou-se a avaliação da sensibilidade antimicrobiana pelo método de disco-difusão segundo Bauer e Kirby (1966), interpretado segundo o *Clinical and Laboratory Standards Institute-CLSI* (2003). Os isolados de *Campylobacter* foram descongelados, semeados em placas de ágar sangue Columbia e incubados a 41,5°C por 48 horas em condições de microaerofilia. A seguir, foi preparada uma suspensão em solução salina peptonada equivalente a 0,5 na Escala de McFarland. Uma alíquota de 100 µL foi semeada com alça de Drigalsky na superfície do ágar Muller-Hinton suplementado com 5% de sangue de carneiro. Em seguida foram adicionados os discos impregnados com os agentes antimicrobianos. Testou-se a sensibilidade dos isolados frente aos seguintes agentes: ácido nalidíxico (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), eritromicina (15 µg), cefalotina (30 µg), estreptomicina (10 µg), gentamicina (10 µg), cloranfenicol (30 µg) e tetraciclina (30 µg) (CEFAR, Brasil).

#### 4.2.10 Análise estatística

O teste estatístico não-paramétrico ( $\chi^2$ ) foi aplicado nos resultados de frequência de *Campylobacter* para avaliar se havia diferença estatística entre os cortes de frango contaminados, num intervalo de 95% de confiança e grau de liberdade de 4.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Enumeração de *Campylobacter* spp.

As amostras examinadas de aves e bovinos apresentaram população de *Campylobacter* spp. abaixo do limite de detecção do método, ou seja, < 2 UFC/g para frangos e < 10 UFC/cm<sup>2</sup> para cortes bovinos do varejo. O mesmo foi observado para as amostras de carcaças colhidas em diferentes etapas do abate, sendo que nesse caso as populações foram < 13 UFC/cm<sup>2</sup>.

Os dados obtidos nesse estudo para a população de *Campylobacter* em aves estão bem abaixo dos poucos estudos relatados por pesquisadores de outros países. Johannessen *et al.* (2007), na Noruega, encontraram carcaças de frango, provenientes de lotes sabidamente positivos para *Campylobacter*, com populações entre  $2,6 \times 10^4$  a  $2,6 \times 10^6$  UFC/carcaça. Na Alemanha, Reich *et al.* (2008) verificaram elevada população de *Campylobacter* em carcaças após a depenagem, com média de 5,9 log<sub>10</sub> UFC/carcaça, sendo que após o resfriamento a população foi de 5,2 log<sub>10</sub> UFC/carcaça. Figueroa *et al.* (2009), no Chile, quantificaram *Campylobacter* spp. em carcaças de frango no abatedouro obtendo população média de 6,4 log<sub>10</sub> UFC/carcaça. A sensibilidade do método em detectar o microrganismo foi estimado em 2 UFC/carcaça, ou seja, maior que a sensibilidade dos métodos utilizados neste estudo.

O fato das amostras desses três estudos terem sido colhidas no ambiente de abate pode ter influenciado o número de células viáveis encontradas, devido ao contato recente com o conteúdo das vísceras, equipamentos, superfícies e água de processo contaminados. Em amostras obtidas no varejo as populações tendem a ser menores devido ao processo de resfriamento que as carcaças/cortes sofrem durante o armazenamento e comercialização.

Os dados obtidos para bovinos, de cortes obtidos no varejo ou carcaças durante o abate, também indicam baixa população de *Campylobacter*. A comparação desses resultados com o de outros pesquisadores não foi possível visto que estudos semelhantes não foram encontrados na literatura.

A impossibilidade de enumerar *Campylobacter* nas amostras examinadas pode ser explicada por algumas hipóteses. As células do patógeno poderiam estar injuriadas, pelos diferentes processos pelos quais as amostras passaram durante a produção, assumindo a forma viável mas não cultivável (VNC). Células VNC não são passíveis de recuperação pelos métodos tradicionais (HAZELEGER *et al.*, 1994), mas mantém sua capacidade de causar doença.

Bolton e Robertson (1982) afirmaram que a técnica de semeadura direta pode ser utilizada em laboratórios de análises clínicas, onde as populações de *Campylobacter* spp. presente nas fezes são altas, porém, em amostras que apresentam baixas populações, a etapa de enriquecimento é fundamental. Uma alternativa seria a utilização da técnica do Número Mais Provável (NMP), mas esta é inviável para a rotina laboratorial.

Outra hipótese estaria relacionada à elevada seletividade do ágar mCCD utilizado para a enumeração. Entretanto, alguns estudos (ROSENQUIST *et al.*, 2007; HABIB *et al.*, 2008) demonstraram que essa pode não ser a causa.

Rosenquist *et al.* (2007) avaliaram um protocolo para enumeração de *Campylobacter* em alimentos comparando o desempenho do ágar mCCD e do ágar Abeyta-Hunt-Bark (AHB) adicionado de 0,1% de trifetil tetrazólio. As contagens obtidas no ágar AHB e ágar mCCD não apresentaram diferença significativa. Entretanto, de 195 amostras obtidas do mCCD 14 não confirmaram ser *Campylobacter*, enquanto que no AHB, apenas 4 amostras de 196 não eram *Campylobacter*.

No estudo realizado por Habib *et al.* (2008) foi comparado o desempenho do ágar mCCD com o ágar Karmali e o ágar CampyFood ID (CFA). Os resultados obtidos com culturas puras revelaram que o desempenho do ágar Karmali e CFA foi melhor que do mCCD. Em amostras artificialmente contaminadas, o ágar Karmali demonstrou maior incerteza e desempenho pobre requerendo volumes de 0,4 mL, enquanto que o desempenho do CFA foi semelhante ao do mCCD. Entretanto em amostras naturalmente contaminadas, houve dificuldade de distinguir *Campylobacter* típico de não-*Campylobacter* no ágar CFA. Os autores concluíram que o método ISO

---

10272-2:2006 para a enumeração de *Campylobacter* utilizando o ágar mCCD é eficiente.

Apesar de as carcaças de bovinos amostradas no abatedouro, não terem sido submetidas às condições de estresse que pudessem provocar injúrias em *Campylobacter* e levar à uma redução na população, essas amostras foram analisadas somente após seu transporte ao laboratório de microbiologia de alimentos da FCF. Em média as amostras permaneciam por 10 h em caixas isotérmicas contendo gelo até o início das análises o que poderia causar a diminuição da população do microrganismo. Essa hipótese também não se sustenta, pois no estudo realizado por Stern e Line (2009) foi verificado que não houve redução nas populações de *Campylobacter* após um transporte de 24 h. Os autores avaliaram três diferentes meios: água estéril, água peptonada tamponada e caldo de pré-enriquecimento universal (UP), e observaram que não houve redução estatisticamente significativa na população de *Campylobacter* quando se comparou os resultados obtidos pela semeadura imediatamente após a coleta e aqueles obtidos após 24 h a 4°C.

A enumeração de *Campylobacter* em alimentos através de métodos tradicionais é problemática devido à fragilidade deste microrganismo (SOLOMON e HOOVER, 1999). Métodos baseados no DNA, como a PCR, têm sido cada vez mais utilizados para uma rápida, sensível e específica detecção e quantificação de *Campylobacter*. Botteldoorn *et al.* (2008), na Bélgica, quantificaram *Campylobacter* em carcaças de frango utilizando a PCR em tempo real e encontraram média de população de 8,25 log<sub>10</sub> UFC. Utilizando a metodologia tradicional de enumeração em ágar mCCD, os autores tiveram uma média de contagem de 4,64 log<sub>10</sub> UFC.

#### **5.1.1 Recuperação de *C. jejuni* em amostras de frango artificialmente contaminadas**

A fim de avaliar a capacidade de recuperação de *Campylobacter* pelo método de enumeração empregado, realizou-se esse estudo. Na Tabela 10 têm-se os resultados obtidos. Observa-se que quando os cortes de frango foram inoculados com 3,6 Log UFC/g houve perda de 1 Log na população recuperada, sendo a

população média de 2,9 Log UFC/g. Para os cortes inoculados com 2,6 Log UFC/g e 1,7 Log UFC/g a recuperação média foi de 2,3 Log UFC/g e de 1,8 Log UFC/g. A redução de quase 1 Log na população de *Campylobacter* quando se inoculou a população mais elevada não pode ser explicada.

**Tabela 10.** Recuperação de *Campylobacter* spp. (Log UFC.g<sup>-1</sup>) em cortes de aves artificialmente contaminados.

Inóculo (Log UFC.g <sup>-1</sup> )	Populações de <i>Campylobacter</i> sp. (Log UFC.g <sup>-1</sup> )			
	Teste 1	Teste 2	Teste 3	Média
3,6	3,0	2,0	3,0	2,9
2,6	2,2	3,1	2,4	2,2
1,7	2,0	1,5	1,8	1,8

Avaliação semelhante foi realizada por Habib *et al.* (2008) que contaminaram coxas com pele e filés de peito de frango com populações de *Campylobacter jejuni* de 3,0 Log UFC/g (inóculo médio) e 4,0 Log UFC/g (inóculo alto). Os autores utilizaram a mesma metodologia desse estudo (ISO 10272-2: 2006) para enumerar *Campylobacter* e verificaram que em coxas de frango, as contagens obtidas foram de 3,3 Log UFC/g para o inóculo médio e 4,14 Log UFC/g para o inóculo alto. Nas amostras de filé de peito as contagens foram de 3,34 Log UFC/g e 4,17 Log UFC/g, para o inóculo médio e alto respectivamente. Resultados demonstraram que a metodologia ISO 10272-2: 2006 permitiu enumerar valores semelhantes àqueles inoculados nas amostras.

Entretanto, deve-se destacar que em ambas as amostras, as culturas bacterianas empregadas foram preparadas a partir de células recém ativadas e não submetidas a estresse, condição essa bem diferente do *Campylobacter* naturalmente presente em alimentos.



## 5.2 Estudo da ocorrência de *Campylobacter* spp. em cortes refrigerados de frango e de bovinos

### 5.2.1 Ocorrência em cortes refrigerados de frango

Foi analisado um total de 120 amostras de cortes refrigerados de frango, sendo 40 provenientes de asa, 20 de coxinha da asa (“drumett”), 20 de peito, 20 de coxa e 20 de coxa com sobrecoxa. Desses cortes adquiridos no varejo da cidade de São Paulo, *Campylobacter* spp. foi isolado em 14,2% (17/120) das amostras estudadas (Tabela 11).

**Tabela 11.** Ocorrência de *Campylobacter* spp. em cortes refrigerados de frango comercializados no varejo da cidade de São Paulo.

Tipo de corte	N° Amostras Examinadas	N° Amostras Positivas (%)
Peito	20	5 (25)
Coxa sobrecoxa	20	3 (15)
Asa	40	6 (15)
Coxa	20	2 (10)
Drumett	20	1 (5)
<b>Total</b>	<b>120</b>	<b>17 (14,2)</b>

Avaliando-se a ocorrência de *Campylobacter* por tipo de corte verifica-se que o microrganismo foi mais freqüentemente isolado das amostras de peito (5/20), seguido das amostras de coxa com sobrecoxa (3/20) e asa (6/40). As amostras de coxa (10%) e “drumett” (5%) foram as que apresentaram menor frequência de positividade (Tabela 11).

A diferença entre a ocorrência do patógeno nos diferentes cortes de aves foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Variações na frequência de isolamento de *Campylobacter* em cortes de aves já foram relatadas por diversos pesquisadores (DENIS *et al.*, 2001; VAN DER ZEE *et al.*, 2005; SAVASÇI e OZDEMIR, 2006; SALLAM, 2007).

A maior taxa de contaminação (25%) das amostras de peito pode ser explicada por essa região entrar em contato com resíduos de fezes da cama do aviário, visto que as aves apóiam-se sobre o peito enquanto descansam. Além disso, o peito apresenta maior superfície e a estrutura dos folículos da pele do peito facilita a permanência do microrganismo nessa região (KOTULA e PANDYA, 1995).

As frequências de positividade encontradas nesse estudo para peito são semelhantes às relatadas por van der Zee *et al.* (2005) que encontraram 27,8% das 529 amostras de peito de frango examinadas na Holanda, contaminadas por *Campylobacter* spp. Por outro lado, são superiores àquelas relatadas por van Asselt *et al.* (2008) que, naquele mesmo país, detectaram o microrganismo em 10,3% das amostras de peito de frango examinadas.

Entretanto, a maioria dos estudos relata frequências de positividade para *Campylobacter* para os diferentes cortes bem superiores às observadas nesse estudo. Kotula e Pandya (1995), nos EUA, avaliaram a presença de *Campylobacter* em peito, asa e coxa de frango e encontraram maior frequência de *Campylobacter* spp. em amostras do peito (62,5%), seguido das asas (50%) e das coxas (45%).

Denis *et al.* (2001), na França, avaliaram 70 amostras de cortes de frango obtidas em supermercados, sendo: moela (n=4), escalope (n=32), coxa com pele (n=12), sobrecoxa com pele (n=12) e peito com pele (n=10). Os autores encontraram elevada frequência de *Campylobacter* em todas as amostras sendo moela 100%, sobrecoxa 100%, coxa 83,3%, escalope 71,9% e peito 60%.

Savasçi e Ozdemir (2006), na Turquia, avaliaram a presença de *Campylobacter* termofílico em cortes de frangos do varejo e encontraram 93% (40/43) das amostras de peito, 81,8% (36/44) das amostras de asa e 75% (30/40) das amostras de coxa contaminadas por *Campylobacter* spp.

Sallam (2007), no Japão, realizou um estudo para determinar a ocorrência de *Campylobacter* em carne de frango fresca e subprodutos de frango comercializados no varejo da cidade de Sapporo. Entre os diferentes produtos, a asa de frango mostrou uma elevada taxa de contaminação (77,1%), seguida de coxa de frango (70%), fígado (65%), peito (64,4%), enquanto que moela de frango e

coração apresentaram menor índice de contaminação (45% e 40%, respectivamente).

Luber e Bartelt (2007), na Alemanha, analisaram 100 amostras da superfície de filés de peito e 55 amostras do tecido profundo. Os autores encontraram *Campylobacter* spp. em 87% de 100 amostras de superfícies e em 20% das amostras de tecido profundo. Em outro trabalho realizado na Alemanha por Klein *et al.* (2007) detectou-se *Campylobacter* spp. em 26,7% de 15 filés de peito e 33% de 15 amostras de peito com pele analisados.

Analisando a ocorrência geral de *Campylobacter* no frango, independente do tipo de corte, observa-se que o microrganismo esteve presente em 14,2% das amostras examinadas (Tabela 11). Resultados semelhantes foram obtidos por Lindblad *et al.* (2006), na Suécia, que encontraram 15% das carcaças de frango positivas para *Campylobacter*. Vindigni *et al.* (2007), na Tailândia, desenvolveram um estudo com amostras de carne de diferentes espécies animais adquiridas no varejo, e observaram que a frequência de *Campylobacter* em carne de frango foi também de 15%.

Já na Estônia, Roasto *et al.* (2007) obtiveram frequência de isolamento de *Campylobacter* menor que a desse estudo, isolando o microrganismo em 7,6% (26/340) das amostras. O mesmo foi verificado por Kegode *et al.* (2008) que nos EUA obtiveram 9% (11/123) de amostras positivas.

Apesar de haver grande variação na frequência de positividade de *Campylobacter* em carne de frango do varejo dos diferentes países, em geral esses valores são superiores aos encontrados no presente estudo.

Estudos realizados nos EUA demonstram que a ocorrência de *Campylobacter* é bastante elevada em amostras de frangos. Cloak *et al.* (2001) encontraram espécies de *Campylobacter* em 65% das amostras de frango, e Zhao *et al.* (2001) relataram ocorrência de 71%. Han *et al.* (2009) avaliaram a presença de *Campylobacter* em frangos convencionais e orgânicos e observaram que de 141 amostras convencionais, *Campylobacter* foi isolado em 61 (43%). Mesma percentagem foi obtida para frangos orgânicos (23/53).

No Canadá, no estudo realizado por BohayChuk *et al.* (2006) avaliou-se 800 amostras de carne de aves e outros produtos que foram adquiridos no varejo de Edmonton, Alberta. *Campylobacter* foi detectado em 62% das amostras de coxa de frango (n=100), não sendo encontrado nos demais produtos.

Na Europa pesquisas foram desenvolvidas em diferentes países para determinar a frequência de *Campylobacter* em amostras de frango. Moore *et al.* (2002) encontraram, na Irlanda, 94% de 63 carcaças frescas e 77% de 44 carcaças congeladas contaminadas com *Campylobacter* spp. Whyte *et al.* (2004), na Irlanda no Norte, pesquisaram amostras de frango, peru e pato, e relataram a presença de *Campylobacter* em 49,9%, 37,5% e 45,8% das amostras, respectivamente. No mesmo país, Moran *et al.* (2009) encontraram 91% de positividade dentre as 336 amostras de frango analisadas.

Kramer *et al.* (2000), no Reino Unido, encontraram *Campylobacter* spp. em 83,3% de 198 amostras de frango examinadas. Jorgensen *et al.* (2002), também no Reino Unido, analisaram 241 amostras de frango obtidas no varejo e detectaram *Campylobacter* em 199 (83%) amostras. Little *et al.* (2008), no Reino Unido, realizaram um estudo para determinar a ocorrência de *Campylobacter* e *Salmonella* em amostras de carne de aves obtidas no varejo entre 2003 e 2005. Foram analisadas 301 amostras de frango inteiro e 1477 amostras de frango porcionado, totalizando 1778 amostras. *Campylobacter* esteve presente em 62,1% dos frangos inteiros e 60,7% dos cortes de frango.

Na República Tcheca a ocorrência de *Campylobacter* em amostras de frango aumentou nos últimos anos. Segundo Bardon *et al.* (2009), em 2006 a frequência de *Campylobacter* era de 43%, aumentando para 46% em 2007 e 50% em 2008.

Scherer *et al.* (2006), na Alemanha, também encontraram elevada percentagem (65,7%) de *Campylobacter* spp. em 140 amostras de coxa de frango.

Parisi *et al.* (2007), no sul da Itália, avaliaram 30 amostras de carne de frango do varejo e detectaram *Campylobacter* em 22 (76%) amostras. Em outro trabalho realizado na Itália por Pepe *et al.* (2009) foi demonstrada a presença de *Campylobacter* em 37,1% das amostras de carcaças de frango analisadas.

Uma pesquisa realizada por Mena *et al.* (2008), no varejo da cidade do Porto, Portugal, demonstrou que *Campylobacter* foi detectado em 99 de 164 amostras analisadas. A frequência foi de 74,2% em carcaças de frango, 63,2% em cortes de frango e 58,9% em produtos para sopa de galinha (pés, ossos, pele, fígado, coração e vísceras).

A ocorrência de *Campylobacter* em frangos na China, Coréia e Japão também é superior àquela relatada nesse estudo. Na China, Yang-Chih-Shih (2000), relatou que 68% das amostras de frango obtidas no varejo da cidade de Taipei eram positivas para *Campylobacter*. Yang *et al.* (2003), também na China, encontraram *Campylobacter* spp. em 30,6% das amostras de frango examinadas (92/300). Na Coréia, Hong *et al.* (2007) analisaram 270 amostras de frango obtidas no varejo entre setembro de 2001 e abril de 2006. Uma elevada taxa de contaminação foi observada nas amostras, com 220 (81,4%) de 270 amostras positivas para *Campylobacter* spp. Kang *et al.* (2006) analisaram amostras de carne de frango obtidas em mercados tradicionais, grandes lojas de varejo e lojas de departamento de diferentes regiões da Coréia. *Campylobacter* foi detectado em 61,8% (570/923) das amostras de frango inteiro. No Japão, Suzuki e Yamamoto (2009) encontraram *Campylobacter* em 60% das amostras de carne de frango.

Estudos para avaliar a frequência de isolamento de *Campylobacter* em amostras de frango e subprodutos também foram desenvolvidos na África do Sul, Vietnã, Paquistão, Turquia, Nova Zelândia e Austrália. Van Neiroop *et al.* (2005) investigaram a presença de *Campylobacter* em carcaças de aves adquiridas em supermercados, açougues e vendedores de rua em Gauteng, África do Sul. Esses autores relataram uma ocorrência de 39,3% em carcaças frescas e 32,3% em carcaças congeladas.

Luu *et al.* (2006) desenvolveram um estudo para determinar a ocorrência de *Campylobacter* em carne de frango em Hanói, Vietnã. Do total de 100 amostras analisadas, 31 (31%) foram positivas para *Campylobacter*.

Hussain *et al.* (2007), no Paquistão, avaliaram a ocorrência de *Campylobacter* em diferentes produtos alimentares e encontraram o microrganismo em 48% (236/492) das amostras de carne de frango analisadas.

---

Yucel e Erguler (2008) avaliaram a ocorrência de *Campylobacter* spp. a partir de amostras de frango adquiridas no comércio varejista de Ancara, Turquia, entre junho de 2005 e maio de 2006. De 125 amostras de frango (asa, peito e coxa) e subprodutos de frango (fígado e intestino), 107 (85,6%) estavam contaminadas por *Campylobacter*.

Na Nova Zelândia, Whyte *et al.* (2006) puderam observar que *Campylobacter* estava presente em 90% das amostras de fígado de frango. No mesmo país, Wong *et al.* (2007) avaliaram a presença do patógeno em produtos cárneos e relataram que 89,1% das amostras de carne de frango apresentavam resultado positivo para sua presença. Em 2008, Chrytal *et al.* detectaram *Campylobacter* em 44,8% das carcaças de frango no varejo da Nova Zelândia. Pointon *et al.* (2008) avaliaram a ocorrência de *Campylobacter* em amostras de frango cru de dois estados da Austrália, durante o inverno de 2005 e verão de 2006. Os autores encontraram prevalência de 93,2% e 87,8% das amostras nos dois estados pesquisados.

Estudos sobre a ocorrência de *Campylobacter* em cortes de aves, no varejo, em nosso país são raros. Sakuma *et al.* (1992) detectaram o microrganismo em 13,5% de 200 amostras de carne de frango e miúdos obtidos no varejo da cidade de São Paulo-SP. A ocorrência de *Campylobacter* foi 17,6% em cortes, 20% em carcaças e 9,7% em miúdos de frango.

Freitas e Noronha (2007) encontraram uma elevada percentagem de amostras coletadas em açougues, feiras livres e supermercados em Belém-PA contaminadas por *Campylobacter*. Foram analisadas 16 amostras e *Campylobacter* foi identificado em 85,7% delas.

A variação observada entre a prevalência de *Campylobacter* pode ser resultado de diferenças geográficas, sazonalidade, além do emprego de diferentes técnicas de amostragem e metodologias laboratoriais.

---

A sazonalidade de *Campylobacter* em países de clima temperado é bem caracterizada nos EUA e na Bélgica. Willis e Murray (1997) verificaram nos EUA que a frequência de *Campylobacter* em carcaças de frangos era de 57% no verão, caindo para 7% no inverno. Queda menos marcante foi verificada na Bélgica por Habib *et al.* (2008) que observaram frequências mais elevadas em julho (70%) e menores (35%) no inverno.

Em países tropicais, onde as variações climáticas são menos dramáticas, pelo menos com relação à temperatura, pode ser que essa sazonalidade não exista, entretanto são necessários estudos para avaliar.

Além do efeito sazonal, a prevalência de *Campylobacter* em amostras de aves pode variar de acordo com as metodologias e meios de cultura empregados para detectar e isolar *Campylobacter* de produtos alimentícios. Por esse motivo, a comparação de resultados de diferentes estudos deve ser realizada com cautela.

Diversas hipóteses podem ser levantadas para explicar o freqüente isolamento de *Campylobacter* de carcaças e carne de frango. O controle da contaminação das carcaças é bastante difícil e pode ocorrer nas diversas etapas do processo (DENIS *et al.*, 2001). Uma fonte importante de contaminação é o extravasamento de conteúdo intestinal durante o processo de evisceração. Entretanto, Franchin *et al.* (2007) encontraram uma pequena diferença na frequência de *Campylobacter* spp. após a depenagem (68%) e após a evisceração (69,4%), sugerindo que a evisceração, processo no qual pode haver ruptura das vísceras com extravasamento de conteúdo intestinal, não é o principal fator responsável pela contaminação cruzada.

A contaminação cruzada entre os lotes pode ocorrer, especialmente, na etapa de resfriamento das carcaças, chamada de “chiller”. A contaminação cumulativa de *Campylobacter* no tanque de resfriamento promove o aumento da contaminação superficial do frango com células bacterianas presentes na água. Franchin *et al.* (2007) observaram que o elevado número de amostras positivas para *Campylobacter* após o “chiller” (85%) pode ser conseqüência do baixo teor de cloro livre na água de resfriamento (1 ppm), que mostrou ser insuficiente para inativar o patógeno. De acordo com a Portaria nº 210 do Ministério da Agricultura Pecuária e

---

Abastecimento do Brasil (1998), a água do “chiller” pode conter até 5 ppm de cloro para aves comercializadas no mercado interno.

Johannessen *et al.* (2007) e Reich *et al.* (2008) observaram que durante a operação de abate existe contaminação cruzada entre lotes de animais portadores de *Campylobacter* e lotes não portadores. Para minimizar o risco de contaminação do patógeno, seria interessante que lotes negativos fossem abatidos no início do dia e os positivos ao final, como já é feito em muitos abatedouros para controlar *Salmonella*.

Ghafir *et al.* (2007) atribuem a elevada taxa de contaminação dos frangos ao fato de não haver o processo de descontaminação física das carcaças, com a remoção da pele durante o processo de abate, semelhante à esfolagem dos bovinos ou a raspagem da carcaça que é realizada nos suínos.

Outras fontes de contaminação podem ser a manipulação inadequada dos cortes da indústria até o varejo. A manipulação e estocagem inadequadas durante o abate, processamento ou transporte da carne de frango, podem resultar em níveis relativamente elevados de contaminação por *Campylobacter* (KANG *et al.*, 2006).

A ocorrência de *Campylobacter* spp. em amostras de carne de frango no varejo é influenciada por diversos fatores, tais como a temperatura de armazenamento (refrigeração, congelamento, ou temperatura ambiente), umidade relativa, pH da carne e/ou período de armazenamento (HUNT *et al.*, 1998).

Lee *et al.* (1998) relataram que populações elevadas de *C. jejuni* foram capazes de persistir na pele de cortes de frango embalados e armazenados a 4° C por 7 dias e a temperatura ambiente por 3 dias.

Um estudo realizado por Chantarapanont *et al.* (2003) demonstrou que, quando 500 UFC/g de *C. jejuni* eram inoculadas na pele do frango, o patógeno sobrevivia por 3 dias a 4° C e a população diminuía 1 log durante 24 h de armazenamento a 25° C. Em contraste, quando inoculados sob a pele (a 20-30 µm de profundidade), *C. jejuni* permanecia viável por 24 h sem diminuição da população a 25 ° C. Possivelmente, a pele dos frangos proporciona condições de microaerofilia favoráveis para a sobrevivência desta bactéria. Segundo os autores, *C. jejuni* tem



---

chances de sobrevivência e multiplicação em temperatura ambiente, se a carne de frango estiver contaminada com uma quantidade relativamente alta do patógeno.

No varejo, a contaminação cruzada entre os cortes pode ocorrer através da contaminação de equipamentos e superfícies. Segundo Burgess *et al.* (2005), cerca de 1,1% de embalagens externas de carne de frango estavam contaminadas por *Campylobacter* spp., indicando que é necessário um cuidado minucioso durante a manipulação do alimento e durante o contato com superfícies.

A população de *Campylobacter* presente na carne de frangos representa, de maneira geral, risco à saúde dos consumidores, uma vez que 500 células já podem desencadear a doença. A manipulação e cozimento adequados dos produtos avícolas eliminam os riscos. Entretanto, as pessoas continuam cometendo erros durante o manuseio e preparo dos alimentos, o que propicia a ocorrência da campilobacteriose (MANFREDA *et al.*, 2006).

A redução dos níveis de exposição pública às carcaças contaminadas seria uma medida razoável para prevenir a doença. Isto aconteceu na Islândia, onde as intervenções reduziram a exposição do público à carne de frango contaminada com concomitante redução da frequência de doença em humanos (STERN e ROBACH, 2003).

O potencial de transmissão de patógenos de origem alimentar aos seres humanos através de produtos avícolas é conhecido mundialmente. A redução de patógenos pode exigir trabalho e consumir tempo e dinheiro, tornando-se uma tarefa difícil para produtores avícolas. Resultados apresentados por McCrea *et al.* (2006) revelam que um ponto crítico de controle (PCC) para a redução da contaminação por um microrganismo pode ser diferente do de outra espécie bacteriana, além de ser dependente do produto. O desenvolvimento de um plano HACCP (Análise de perigos e pontos críticos de controle) focado para *Salmonella* e *Campylobacter* precisa ser feito levando em consideração essas diferenças a fim de garantir a inocuidade alimentar.

### 5.2.2 Ocorrência em cortes refrigerados de bovinos

Foi analisado um total de 100 amostras de cortes de carne bovina, tendo sido analisadas 20 amostras de patinho (*M. biceps femoris*), 20 de contra-filé (*M. longissimus dorsi*), 20 de coxão mole (*M. semi membranousus*), 20 de lagarto (*M. semitendinosus*) e 20 de alcatra (*M. glutaes medius*), sendo que não se isolou *Campylobacter* spp.

Resultados semelhantes ao desse estudo também foram relatados por outros pesquisadores. Ono e Yamamoto (1999), no Japão, não detectaram *Campylobacter* nas 112 amostras de carne bovina obtidas no varejo.

Kegode *et al.* (2008) analisaram 133 amostras de carne bovina coletadas na região metropolitana de Fargo, Dakota, EUA, e também não detectaram *Campylobacter* nas amostras analisadas.

O mesmo ocorreu no Canadá, onde BohayChuk *et al.* (2006) avaliaram diferentes amostras de alimentos obtidos em mercados e observaram que *Campylobacter* não foi detectado nas amostras de carne bovina moída e nem nos produtos prontos para consumo, como, por exemplo, salsicha e rosbife. Na Bélgica, Ghafir *et al.* (2007) não encontraram o patógeno dentre as 67 amostras de carne picada analisadas.

De maneira geral, a ocorrência de *Campylobacter* em carnes vermelhas, especialmente bovina, é bastante baixa, sendo que os relatos variam entre 0,5% (ZHAO *et al.*, 2001) e aproximadamente 11% (HUSSAIN *et al.*, 2007).

Korsak *et al.* (1998), na Bélgica, encontraram *Campylobacter* em 10% das amostras de carne bovina coletadas em 5 frigoríficos diferentes. Nos EUA, Zhao *et al.* (2001) analisaram 182 amostras de carne bovina coletadas no varejo de Washington DC, e encontraram *Campylobacter* em apenas 1 (0,5%) amostra.

Em um estudo realizado no nordeste da Itália, foram analisadas 151 amostras de carne bovina crua e *Campylobacter* esteve presente em 2 (1,3%) amostras (PEZZOTTI *et al.*, 2003).

Na Irlanda, Whyte *et al.* (2004) pesquisaram a ocorrência de *Campylobacter* em amostras do varejo e dentre as 221 amostras de carne bovina analisadas, *Campylobacter* foi detectado em 7 amostras, o que equivale a 3,2% das amostras.

No Irã, Taremi *et al.* (2006) relataram o primeiro isolamento de *Campylobacter* em carne crua do varejo, sendo que encontraram 10% das 120 amostras de carne bovina crua contaminadas pelo microrganismo.

Ghafir *et al.* (2007), na Bélgica, avaliaram o nível de contaminação da carne bovina por *Campylobacter*. O microrganismo foi detectado em 5% de 60 amostras de cortes bovinos analisadas.

Wong *et al.* (2007), na Nova Zelândia, analisaram 1.011 amostras de carne do varejo, incluindo carnes de frango, vermelha, de cordeiro e de suíno. Do total de 230 amostras de carne bovina examinadas, 8 (3,5%) estavam contaminadas por *Campylobacter*.

No Paquistão, Hussain *et al.* (2007) avaliaram a prevalência de *Campylobacter* em carne, leite e outros alimentos e a frequência de positividade do patógeno em carne bovina foi de 10,9% dentre as 451 amostras analisadas.

Hong *et al.* (2007) realizaram, na Coreia, um estudo com 250 amostras de carne bovina e observaram que três amostras (1,2%) estavam contaminadas por *Campylobacter*.

Medeiros *et al.* (2008), também no Canadá, encontraram apenas 1 (12,5%) amostra de fígado bovino contaminada por *Campylobacter* dentre as 8 amostras analisadas.

Apesar de restritos, os resultados obtidos em nosso estudo indicam que cortes de carne bovina não são um veículo importante de *Campylobacter* em nosso país.

### 5.3 Estudo da ocorrência de *Campylobacter* spp. em carcaças bovinas

Do total de 481 amostras de carcaça analisadas, 45 (9,4%) foram positivos para *Campylobacter* spp. (Tabela 12). O microrganismo foi isolado a partir das amostras de carcaças com couro, mas não foi encontrado nas carcaças após a esfolagem e após evisceração (Figura 5).

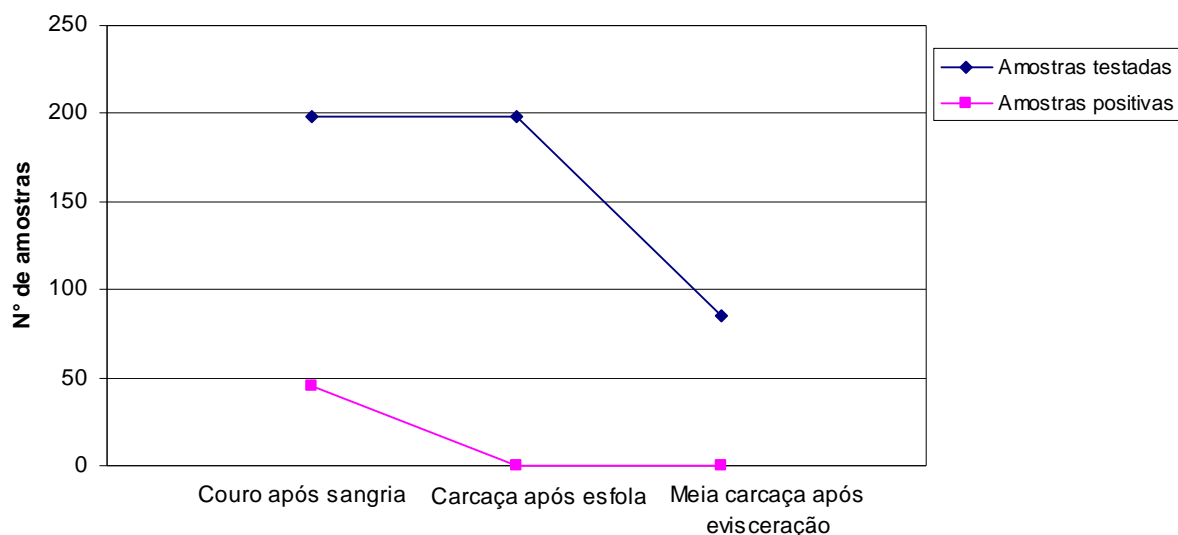
**Tabela 12.** Ocorrência de *Campylobacter* spp. em amostras de carcaças bovinas colhidas em três pontos da linha de abate de bovinos em frigorífico do estado de São Paulo com autorização para exportação para União Européia.

Ponto de amostragem	N° de amostras testadas	N° de amostras positivas (%)
Carcaça com couro após sangria	198	45 (22,7)
Carcaça após esfolagem	198	0
Meia carcaça após evisceração	85	0
<b>Total</b>	<b>481</b>	<b>45 (9,4)</b>

Das 198 carcaças amostradas na região do peito antes da esfolagem, 22,7% foram positivas para *Campylobacter* (Tabela 12). O fato de o patógeno ser encontrado no couro revela que os animais entraram em contato com fezes antes do abate, sendo que esse contato pode ter ocorrido na fazenda, no transporte até a chegada ao frigorífico, ou mesmo durante a permanência dos animais no curral de espera antes do abate. O chuveiro empregado para acalmar os animais antes da entrada na sala de matança não tem pressão suficiente para remover essa contaminação superficial, fazendo com que ela permaneça aderida.

O couro, durante o desenvolvimento dos bovinos, adquire uma elevada população de bactérias do solo, água, pasto, fezes e/ou contato direto com outros animais. No momento do abate essa população pode variar de acordo com o sistema de produção, transporte e higiene dos estábulos no abatedouro (BEACH *et al.*, 2002). O couro de bovinos é uma das principais fontes de contaminação microbiana da carne devido à possibilidade de transferência de microorganismos para a carcaça durante o processo de esfolagem (REID *et al.*, 2002).

McEvoy *et al.* (2000), na Irlanda, desenvolveram um estudo onde o couro dos bovinos foi inspecionado visualmente no estábulo de uma abatedouro comercial e uma nota foi atribuída variando de 1 (muito limpa) a 5 (muito suja). Os autores relataram que os animais que receberam a nota 5 (valor máximo) apresentavam diferenças significativas nas contagens de microrganismos nas respectivas carcaças quando comparados ao animais que receberam nota 2. Os autores destacam, no entanto, que uma área visivelmente limpa pode não estar livre de patógenos, resultando em risco de contaminação da carcaça.



**Figura 5.** Relação entre amostras testadas e amostras positivas para *Campylobacter* spp. em três pontos da linha de abate de bovinos em frigorífico do estado de São Paulo com autorização para exportação para União Européia

Apesar de haver relação direta entre contaminação visível do couro dos animais e a população de indicadores nas carcaças, Small *et al.* (2002) verificaram, na Iugoslávia, que a frequência de isolamento de *Campylobacter* em currais bovinos é baixa (1,1%), sendo entre seis e sete vezes menos freqüente que *Escherichia coli* e *Salmonella*. Os autores atribuem isso a possibilidade de ocorrer menor excreção fecal de *Campylobacter* pelos bovinos. Como o patógeno não foi isolado do couro

---

dos animais, os pesquisadores sugerem que sua taxa de sobrevivência nessa superfície seja inferior à dos outros patógenos.

A escolha do peito dos animais (antes e após a retirada do couro) como ponto de amostragem nesse estudo foi devido ao contato direto dessa região com o solo quando o animal está deitado na fazenda ou nos currais antes do abate. O peito dos animais também pode entrar em contato com o piso e paredes dos caminhões de transporte e com outros animais do rebanho tornando-o mais suscetível à contaminação. Já outras regiões, como o flanco, têm menor possibilidade de entrar em contato com contaminação.

Em estudo realizado por Reid *et al.* (2002), na Inglaterra, foi avaliada a presença de *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Campylobacter* no couro de três regiões (alcatra, flanco e peito) de 90 bovinos e foi verificado que o peito era a área mais contaminada tanto por *E. coli* (22,2%) como por *Salmonella* spp. (10%), entretanto *Campylobacter* spp. não foi isolado nas amostras.

A influência do transporte na contaminação dos animais foi avaliada por Beach *et al.* (2002) que, nos EUA, analisaram amostras fecais e “swabs” do couro de bovinos, na região do peito, antes e após o transporte da fazenda até o abatedouro. Eles verificaram que a taxa de excreção de *Campylobacter* aumentou após o transporte de 64% para 68%, entretanto a ocorrência de *Campylobacter* no couro dos bovinos foi praticamente a mesma antes e após o transporte.

Agentes zoonóticos, como o *Campylobacter*, podem ser albergados no trato intestinal dos animais de produção, especialmente de bovinos jovens e bezerros (MILNES *et al.*, 2009). Segundo Wesley *et al.* (2000), a prevalência de *Campylobacter* em bovinos pode variar de 5 a 33%. A importância da colonização de bovinos por *Campylobacter* não está relacionado apenas à contaminação do leite e das carcaças durante o abate, mas também à contaminação do meio ambiente e das águas através da descarga de efluentes (BEACH *et al.*, 2002).

Não se encontraram, na literatura, dados sobre a ocorrência de *Campylobacter* em bovinos no Brasil, ou em sua carne. Entretanto, nos EUA, McNamara *et al.* (1995) isolaram o microrganismo em 4% de 2089 carcaças de novilhos avaliadas.

Na Austrália, Vanderline *et al.* (1998) avaliaram a qualidade microbiológica de carcaças bovinas produzidas para o mercado interno e para exportação. *Campylobacter* spp. foi isolado em apenas uma (0,81%) de 124 carcaças produzidas para o mercado interno, e em uma (0,19%) das 533 carcaças destinadas a exportação.

Madden *et al.* (2001), na Irlanda, avaliaram a ocorrência de *Escherichia coli* O157:H7 (n=780), *Listeria monocytogenes* (n=200), *Salmonella* (n=200) e *Campylobacter* spp. (n=100) em carcaças bovinas. A frequência de detecção de *Campylobacter* spp. nas carcaças bovinas foi menor que 3%, que, de acordo com os pesquisadores, é inferior à observada nos EUA. Entretanto, os autores reconhecem que um número maior de amostras é necessário para determinar os níveis reais de contaminação na Irlanda.

Pezzoti *et al.* (2003), na Itália, analisaram a ocorrência de *Campylobacter* em fezes de bovinos antes do abate e na carne crua do varejo e verificaram que o microrganismo foi encontrado em 53,9% dos animais antes do abate e em 1,3% da carne.

Na Bélgica, Ghafir *et al.* (2007) monitoraram a prevalência de *Campylobacter* em carcaças bovinas durante o período de 1997 a 1999, e, dentre as 60 carcaças bovinas amostradas, *Campylobacter jejuni* foi detectado em 3,3% das amostras. Resultado semelhante foi encontrado por Hakkinen *et al.* (2007), na Finlândia, que detectaram a bactéria em 3,5% de 948 amostras de carcaças bovinas colhidas no ambiente de abate.

No Iran, Rahimi *et al.* (2008) desenvolveram um estudo para determinar a prevalência de *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* e

---

*Campylobacter* spp. em carcaças bovinas durante o abate, e verificaram que *Campylobacter* não foi detectado nas 183 carcaças analisadas.

Nesse estudo, dentre os 45 animais positivos para *Campylobacter* no couro, 85% eram provenientes de fazendas com sistema de confinamento (Tabela 13). Nas coletas realizadas no período de janeiro a junho de 2008, os lotes de animais abatidos eram provenientes de fazendas com sistemas de criação a campo, sendo que nesse período, as taxas de contaminação por *Campylobacter* foram mais baixas do que as taxas encontradas no segundo semestre quando a totalidade dos animais era proveniente de confinamento.

Os resultados indicam que animais criados a pasto, onde ocorre menor contato entre eles, têm menores taxas de contaminação no couro que aqueles criados em sistemas de confinamento. Isso foi verificado na Austrália, onde a ocorrência de *Campylobacter* em bovinos de corte confinados foi maior que a de animais a pasto, com média de 58% (12-92%) de animais positivos para *C. jejuni* (BAILEY *et al.*, 2003).

Na Irlanda, Minihan *et al.* (2004) avaliaram a prevalência de *Campylobacter* em amostras de fezes de bovinos durante um período de 4 meses de confinamento. A prevalência do microrganismo foi aumentando ao longo dos meses com médias de 12, 52, 74 e 76% nos meses de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro, respectivamente.

Em 2005 nos EUA, Besser *et al.* realizaram uma pesquisa com o objetivo de avaliar a prevalência de *Campylobacter jejuni* em fezes de bovinos submetidos ao confinamento, desde o início do confinamento até o abate. A prevalência do microrganismo na primeira amostragem, após duas semanas de confinamento, foi de 1,6% e na última amostragem, realizada imediatamente antes do abate, essa prevalência aumentou para 62,2%, indicando que o confinamento leva a um aumento na frequência de excreção de *Campylobacter* pelos animais.

Além da proximidade entre os animais, a dieta no confinamento também influencia na dinâmica populacional de patógenos entéricos como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* e *Campylobacter*. Wesley *et al.* (2000) observaram que lotes de animais que recebiam suplementação a base de alfafa e caroço de algodão



apresentavam maior positividade para *Campylobacter*. Eles verificaram também que o acesso de aves à ração dos bovinos também pode levar a contaminação.

**Tabela 13.** Identificação dos bovinos positivos para *Campylobacter jejuni* nas amostras coletadas antes da esfolagem.

Data da coleta	Procedência dos animais	Tipo de criação	N° da amostra (ponto amostrado)	Espécie identificada
20/02/2008	Ribas do Rio Pardo-MS	A campo	14/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
20/02/2008	Ribas do Rio Pardo-MS	A campo	16/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/03/2008	Três Lagoas-MS	A campo	21/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/03/2008	Brasilândia-MS	A campo	30/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
25/03/2008	Três Lagoas-MS	A campo	35/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
25/03/2008	Três Lagoas-MS	A campo	40/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/06/2008	Aparecida do Rio Doce-GO	A campo	80/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
13/08/2008	Guaíçara-SP	Confinado	86/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
13/08/2008	Guaíçara-SP	Confinado	91/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
13/08/2008	Guaíçara-SP	Confinado	94/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
13/08/2008	Guaíçara-SP	Confinado	98/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
24/09/2009	Pontes Gestal-SP	Confinado	111/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
24/09/2009	Pontes Gestal-SP	Confinado	112/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
24/09/2009	Pontes Gestal-SP	Confinado	113/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
24/09/2009	Pontes Gestal-SP	Confinado	114/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
24/09/2009	Pontes Gestal-SP	Confinado	115/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
15/10/2009	Valparaíso-SP	Confinado	134/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
15/10/2009	Valparaíso-SP	Confinado	136/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
15/10/2009	Valparaíso-SP	Confinado	139/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
15/10/2009	Valparaíso-SP	Confinado	140/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
15/10/2009	Valparaíso-SP	Confinado	144/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
15/10/2009	Aporé-GO	Confinado	149/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
15/10/2009	Aporé-GO	Confinado	150/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
15/10/2009	Aporé-GO	Confinado	151/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
15/10/2009	Aporé-GO	Confinado	154/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	178/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	179/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	180/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	181/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	182/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	183/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	184/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	185/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	187/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	188/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	189/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	190/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	191/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	192/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	193/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	194/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	195/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	196/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	197/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>
05/12/2009	General Salgado-SP	Confinado	198/1 (Couro)	<i>C. jejuni</i>

O emprego de água clorada, uma das recomendações para o controle de *Campylobacter* na criação intensiva de aves, não parece levar à redução da frequência desse patógeno no confinamento de bovinos (BESSER *et al.*, 2005).

O não isolamento de *Campylobacter* nas carcaças, no presente estudo, indica que o abatedouro emprega boas práticas de higiene durante a esola e evisceração. Essas etapas são críticas para a contaminação da carne, podendo colocar em risco a inocuidade do produto.

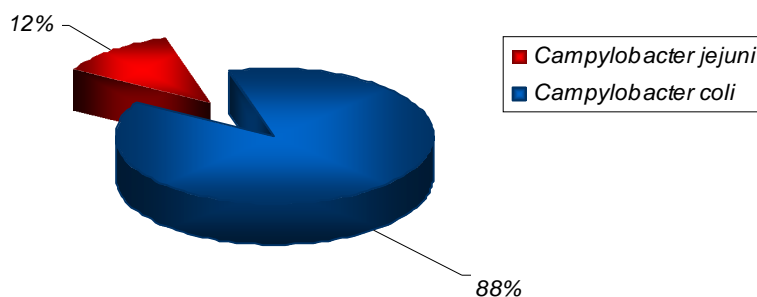
#### 5.4 Especiação dos isolados

Foram testados 630 isolados bacterianos provenientes de cortes de frango e que nos ágaros mCCD e Karmali apresentaram características semelhantes às de *Campylobacter*. Os isolados foram submetidos à avaliação da produção de oxidase, produção de catalase, capacidade de multiplicação a 25°C, capacidade de multiplicação em aerobiose e exame da morfologia da célula como métodos de triagem.

Dessas 630 colônias, 75 apresentaram características de *Campylobacter* e foram submetidas à avaliação da hidrólise do hipurato e sensibilidade ao ácido nalidíxico e cefalotina. Dentre as 75 colônias, 66 (88%) foram identificadas como sendo *Campylobacter coli* e 9 (12%) como sendo *Campylobacter jejuni* (Figura 6).

Esses 75 isolados são provenientes de 17 amostras de frango, sendo que *C. jejuni* foi detectado em 5 e *C. coli* em 12 amostras.

Entre as amostras de couro e carcaça bovina, selecionou-se 451 colônias com características semelhantes às de *Campylobacter* para serem submetidas à identificação preliminar, conforme realizado para os isolados de frango. Dessas, 114 apresentaram características de *Campylobacter* e foram submetidos às avaliações adicionais, sendo todas identificadas como *Campylobacter jejuni*. Esses 114 isolados bacterianos são provenientes de 45 amostras de couro de animais diferentes.



**Figura 6.** Distribuição das espécies de *Campylobacter* spp. isoladas de amostras de cortes de frango obtidas no varejo na zona oeste da cidade de São Paulo.

A baixa atividade bioquímica de *Campylobacter* e a ocorrência de resultados ambíguos dificultam a identificação fenotípica desse microrganismo. Características fenotípicas incomuns como cepas de *C. jejuni* incapazes de hidrolisar o hipurato são freqüentemente citadas (RAUTELIN *et al.*, 1999; NACHAMKIN *et al.*, 2000). Para minimizar estes problemas, técnicas moleculares, como a PCR, têm sido utilizadas com sucesso para identificar as espécies de *Campylobacter* (STEINHAUSEROVA *et al.*, 2001).

Assim, todos os 75 isolados provenientes dos cortes de aves e os 114 dos bovinos foram submetidos à identificação molecular empregando-se a PCR segundo Harmon *et al.* (1997). Na Figura 7 tem-se a imagem de um gel típico onde cepas de *C. jejuni* apresentam dois fragmentos amplificados (480 pb e 160 pb) e as de *C. coli* apresentam apenas um fragmento de 460 pb. A identificação obtida pelos métodos tradicionais foi confirmada para todos os isolados bacterianos.

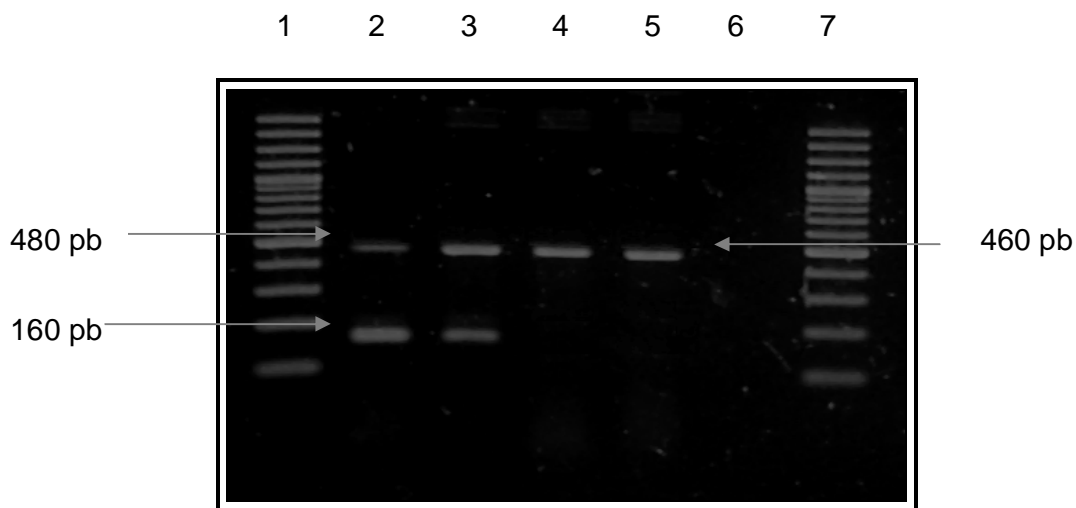
Vilardo *et al.* (2006) observaram que a técnica molecular apresentou resultados semelhantes aos testes fenotípicos em 163 de 167 isolados bacterianos. Os autores relataram que 4 cepas, primeiramente identificadas como *C. coli*, baseados na incapacidade de hidrolisar o hipurato de sódio, mais tarde foram identificados como *C. jejuni* pela técnica de PCR. Eles sugerem que a multiplex-

PCR pode ser útil na resolução de resultados ambíguos, para caracterizar cepas incomuns e para investigação epidemiológica.

Neste estudo, o uso da técnica de multiplex-PCR como ferramenta para identificação de espécies de *Campylobacter* se mostrou bastante útil, prática e permitiu a obtenção de resultados de maneira mais rápida e confiável que pelo emprego das técnicas convencionais.

É interessante observar que o predomínio das espécies de *Campylobacter* variou com a espécie animal. Os cortes de aves albergaram predominantemente *C. coli*, enquanto que nas amostras de bovinos só se isolou *C. jejuni*.

Dados de estudos realizados com fezes de bovinos de outros países (PARISI *et al.*; 2007; HUANG *et al.*, 2009; ELLIS-IVERSEN *et al.*, 2009) também indicam maior positividade para *C. jejuni* ou mesmo o não isolamento de *C. coli*.



**Figura 7.** Identificação das espécies de *Campylobacter* por multiplex-PCR segundo Harmon *et al.* (1997) realizada neste trabalho. Colunas 1 e 7: marcador de peso molecular (1 Kb); colunas 2 e 3: amostras positivas para *Campylobacter jejuni*; colunas 4 e 5: amostra positiva para *Campylobacter coli*; coluna 6: controle negativo da reação.

Já para aves não existe unanimidade sobre a espécie mais freqüente. A elevada frequência de isolamento de *C. coli* em amostras de aves (88%) (Figura 6) observada nesse estudo também foi relatada por outros pesquisadores. Sakuma *et*

*al.* (1992), no Brasil, relataram que entre as cepas isoladas de frango 86% foram identificadas como *C. coli* e 14% como *C. jejuni*. Fernández e Pison (1996), no Chile, observaram que *C. coli* (78,6%) foi mais frequentemente isolado que *C. jejuni* (21,4%) em amostras de fígado de frango. Van Neiroop *et al.* (2005), na África do Sul, também relataram maior ocorrência de *C. coli* que de outras espécies de *Campylobacter* em carcaças de frango. Hong *et al.* (2007) identificaram *C. coli* em 62,9% das amostras carne de frango do varejo, seguido de *C. jejuni* (51,9%).

Por outro lado, diversos trabalhos têm relatado maior ocorrência de *C. jejuni* em amostras de frango (CLOAK *et al.*, 2001; DENIS *et al.*, 2001; BOHAYCHUK *et al.*, 2006; ATANASSOVA *et al.*, 2007; BARDON *et al.*, 2009).

## 5.5 Avaliação da resistência antimicrobiana

A avaliação da resistência a antimicrobianos foi realizada com 120 isolados de *Campylobacter* spp., sendo 75 provenientes das amostras de frango e 45 das amostras bovinas. Foram selecionados todos os isolados bacterianos provenientes das 17 amostras de frango e, de acordo com normas do ProSafeBeef, apenas um isolado bacteriano de cada uma das 45 amostras de carcaças bovinas. Foram avaliadas 66 cepas de *Campylobacter coli* (do frango) e 54 cepas de *Campylobacter jejuni* (9 do frango e 45 de bovinos). Os perfis de resistência antimicrobiana de *C. jejuni* e *C. coli* de origem bovina e do frango estão apresentados na Tabela 14.

A resistência às quinolonas foi frequentemente observada. Dos isolados provenientes do frango, 44% dos *C. coli* e 78% dos *C. jejuni* foram resistentes à ciprofloxacina. Com relação ao ácido nalidíxico, uma elevada taxa de resistência foi observada nas amostras de frango, onde 67% dos isolados de *C. jejuni* e 56% dos isolados de *C. coli* apresentaram resistência. A resistência cruzada foi bastante freqüente dentro do grupo da quinolonas, com cepas resistentes à ciprofloxacina e ácido nalidíxico concomitantemente.

Nas cepas isoladas de bovinos a resistência ao grupo das quinolonas foi menor. Dentre as amostras de *Campylobacter jejuni* de origem bovina 7% foi resistente à ciprofloxacina e 14% ao ácido nalidíxico.

**Tabela 14.** Perfil de resistência a antimicrobianos de cepas de *C. coli* e *C. jejuni* isoladas de frango e do couro bovino.

Antimicrobiano ( $\mu\text{g} \cdot \text{disco}^{-1}$ )	N° (%) de isolados resistentes do frango		N° (%) de isolados resistentes de bovinos
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>
Ac. Nalidíxico (30)	6/9 (67%)	38/66 (56%)	6/45 (14%)
Ciprofloxacina (5)	7/9 (78%)	29/66 (44%)	3/45 (7%)
Eritromicina (15)	0/9 (0%)	5/66 (8%)	7/45 (16%)
Cefalotina (30)	9/9 (100%)	66/66 (100%)	45/45 (100%)
Estreptomicina (10)	1/9 (12%)	7/66 (11%)	14/45 (32%)
Gentamicina (10)	0/9 (0%)	0/66 (0%)	2/45 (5%)
Cloranfenicol (30)	0/9 (0%)	0/66 (0%)	5/45 (12%)
Tetraciclina (30)	1/9 (12%)	0/66 (0%)	0/45 (0%)

A resistência à eritromicina (macrolídeo) foi mais freqüente em amostras de *C. jejuni* de origem bovina (16%), não tendo sido observada naquelas provenientes dos cortes de frango. Com relação às cepas de *C. coli* do frango, 8% apresentaram resistência a este antibiótico.

A elevada resistência das bactérias à cefalotina (Tabela 14) era esperada, uma vez que esta característica é utilizada na identificação das espécies de *Campylobacter*.

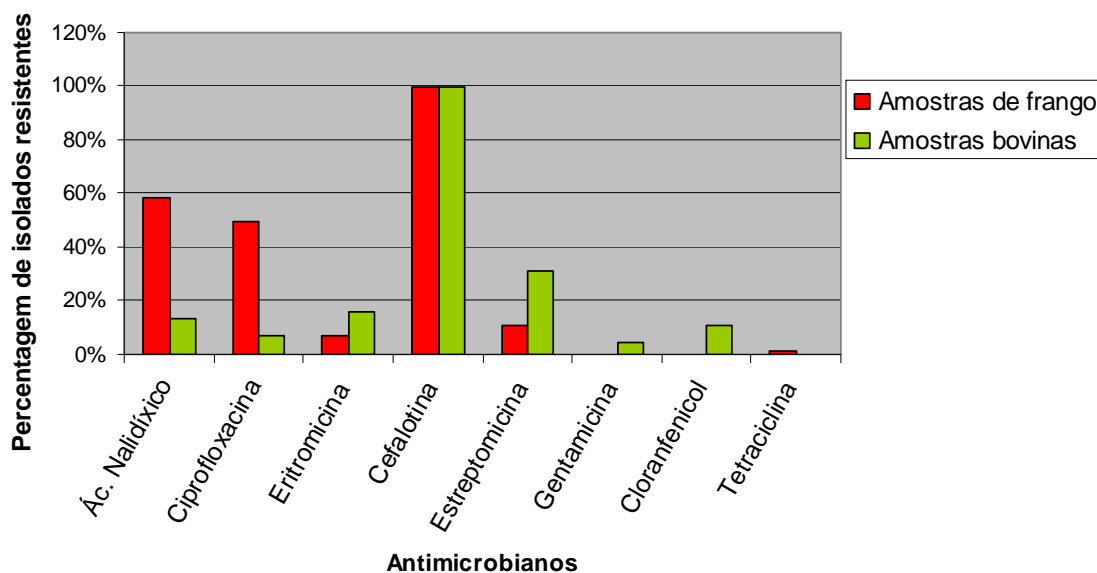
Resistência à estreptomicina foi observada em 32% das amostras de *C. jejuni* de origem bovina, em 12% das *C. jejuni* e 11% das *C. coli* dos cortes de frango.

Todas as amostras, tanto de *C. coli* como de *C. jejuni*, provenientes de frango foram sensíveis à gentamicina e ao cloranfenicol, e 12% das amostras de *C. jejuni* isolados de mesma fonte foram resistentes à tetraciclina (Tabela 14). Por outro lado o comportamento de *C. jejuni* de origem bovina foi diferente, com 5% dos isolados resistentes à gentamicina, 12% ao cloranfenicol e nenhum à tetraciclina.

A resistência antimicrobiana de isolados de *Campylobacter* é variável com a espécie do organismo e a fonte de isolamento. A taxa de resistência à eritromicina

foi mais elevada em isolados de *C. coli* (8%) do que em isolados de *C. jejuni* (0%), para as amostras provenientes de cortes de frango. Existem indícios de que as duas espécies expressam diferentes perfis de resistência aos macrolídeos.

A frequência de isolados provenientes de aves resistentes à eritromicina é inferior àquela relatada por outros pesquisadores. Aarestrup *et al.* (1997), na Dinamarca, relataram que 18% dos isolados de *C. coli*, obtidos do frango, eram resistentes à eritromicina, enquanto que 3% dos de *C. jejuni* mostraram essa característica. Ge *et al.* (2003) constataram que a resistência a eritromicina estava presente em 61% dos isolados de *C. coli*, enquanto que isolados de *C. jejuni* apresentaram 42% de resistência. Parisi *et al.* (2007) observaram 23% das cepas de *C. coli* obtidas de amostras de frango resistentes à eritromicina, enquanto que entre as cepas de *C. jejuni* apenas 3% foram resistentes.



**Figura 8.** Percentagem de isolados do couro bovino e cortes de frango resistentes a diferentes antimicrobianos.

Os resultados obtidos nesse estudo demonstram elevada resistência ao ácido nalidixico (67%) e a ciprofloxacina (78%) entre os isolados de *Campylobacter* do frango (Figura 8).

Taremi *et al.* (2006) relataram resultados semelhantes. A resistência ao ácido nalidíxico foi a mais elevada, ocorrendo em 75% das cepas. Resistência a ciprofloxacina foi relatada em 69,4% dos isolados testados. A elevada taxa de resistência ao ácido nalidíxico e ciprofloxacina também foi relatada por outros autores em diferentes países (LI *et al.*, 1998; LUBER *et al.*, 2003; GE *et al.*, 2003; PEZZOTTI *et al.*, 2003).

A metodologia empregada nesse estudo para a identificação das espécies de *Campylobacter* (ISO 10272-1: 2006) utiliza a prova de sensibilidade ao ácido nalidíxico para diferenciar *C. jejuni* e *C. coli* de *C. lari*. Entretanto, nossos resultados indicam pouca validade desse teste já que mais de 50% das cepas foram resistentes à esse antimicrobiano.

Resistência à tetraciclina (12%) foi detectada apenas entre isolados de *C. jejuni* do frango. Esse dado é semelhante ao observado por Ledergerber *et al.* (2003), na Alemanha, que encontraram 12,6% das cepas de *Campylobacter* testadas apresentavam resistentes à tetraciclina.

Lucey *et al.* (2000), na Irlanda, relataram frequência de resistência à tetraciclina um pouco mais elevada. Os autores observaram 19,4% dos isolados de frango resistentes a este antibiótico.

Entre os isolados de *C. jejuni* de bovinos, a maior taxa de resistência foi observada para a estreptomicina (32%) (Tabela 14). Esse resultado é bem superior ao encontrado por Pezzotti *et al.* (2003), que relataram resistência à estreptomicina em 16,4% das cepas de *C. jejuni*.

É interessante notar que entre os isolados de *C. jejuni* provenientes de bovinos criados a campo, houve menores taxas de resistência aos antimicrobianos. Apenas um isolado (amostra 21) apresentou resistência concomitante a eritromicina, estreptomicina e cloranfenicol (Apêndice A), sendo que os demais isolados foram sensíveis aos antimicrobianos. Já com os isolados provenientes de animais confinados, sete apresentaram resistência à três ou mais agentes (Apêndice A), sendo que dois deles (isolados 150 e 187) apresentaram resistência à cinco agentes.



Apesar da frequência de resistência a antimicrobianos ser maior em isolados de *Campylobacter* provenientes de cortes de aves (46,7%), se comparado aos de bovinos (20%) (Apêndice A) nenhum desses se mostrou resistente à cinco agentes antimicrobianos.

A incidência de infecções humanas por *C. jejuni* e *C. coli* vem aumentando acentuadamente em muitas partes do mundo nas últimas décadas, bem como o número de cepas resistentes às quinolonas e, em menor número, aos macrolídeos.

A maior parte dos casos de enterites causadas por *Campylobacter* não requer tratamento com antimicrobiano, sendo a campilobacteriose uma doença breve, clinicamente leve e autolimitada (DRYDEN *et al.*, 1996). No entanto, uma proporção dessas infecções requer tratamento. Em casos graves e prolongados de enterite, septicemia e outras infecções extra-intestinais, a eritromicina ou uma fluoroquinolona, como a ciprofloxacina, têm sido os antibióticos de escolha (SKIRROW *et al.*, 2000; AARESTRUP e ENDBERG *et al.*, 2001). Como alimento contaminado é um veículo habitual de infecção à humanos, a presença de cepas resistentes às quinolonas e aos macrolídeos na cadeia alimentar compromete o tratamento dessas infecções (ENGBERG *et al.*, 2001).

Endtz *et al.* (1991) relataram que o surgimento de cepas de *C. jejuni* resistentes às quinolonas, isoladas de seres humanos na Holanda, coincidiu com a introdução de fluoroquinolonas na medicina veterinária. Atualmente, *Campylobacter* isolados de alimentos de origem animal resistente às quinolonas são reconhecidos como um problema de saúde pública emergente.

Antibióticos do grupo dos macrolídeos-lincosamidas têm sido utilizados no tratamento de animais de produção em todo o mundo. Os agentes mais comumente usados são a lincomicina e a tilosina para controlar a disenteria e o *Mycoplasma* em suínos, e a espiramicina no tratamento da mastite bovina. Por mais de 20 anos, a tilosina foi o agente mais comumente utilizado como promotor de crescimento na produção de suínos, enquanto a espiramicina foi muito utilizada em frangos. O uso de macrolídeos como promotor de crescimento foi banido em todos os países da União Européia desde 1999. (ENGBERG *et al.*, 2001). A utilização de

---

antimicrobianos como promotores de crescimento em rações foi totalmente abolida na comunidade Européia a partir de janeiro de 2006.

Antimicrobianos promotores do crescimento (APC) são incorporados rotineiramente em rações de frangos visando melhorar a produtividade, e sua prática não deve ser confundida com o uso terapêutico ou preventivo dos antimicrobianos. Segundo Fiorentin (2005), frangos criados até 40 dias com rações contendo APCs podem apresentar até 50 g a mais de peso do que frangos criados na ausência de APCs. Nos Estados Unidos em 1998, um comitê da *Food and Drug Administration* (FDA) concluiu não haver informação conclusiva de que o uso de APC causa resistência em bactérias que infectam humanos. Baseados nisso, o uso de APC nos EUA não foi banido, porém seu uso caiu de 93% em 1995 para 60% em 2000 (FIORENTIN, 2005).

No Brasil o uso de APC não foi abolido. Entretanto, a nova realidade do mercado europeu faz com que os países exportadores criem frangos nas mesmas condições da Europa. Como alternativas para substituição dos antimicrobianos como promotores de crescimento estão o uso de ácidos orgânicos e de probióticos (FARIA *et al.*, 2009). O não uso de APC pode explicar a menor frequência de cepas resistentes encontradas no presente estudo, se comparada à dos demais países. Para confirmar se isso está realmente ocorrendo, estudos de longo prazo avaliando o perfil de resistência de *Campylobacter* isolados de aves devem ser realizados.

---

## 6 CONCLUSÕES

- Cortes de aves, principalmente peito, comercializados no varejo da cidade de São Paulo, podem ser veículo de *Campylobacter* spp., já os cortes de bovinos não apresentam esse risco. A população do microrganismo esteve sempre abaixo do limite de detecção do método.
- Apesar de *Campylobacter* spp. estar presente no couro de bovinos de corte, se Boas Práticas de Higiene forem utilizadas nos abatedouros, o risco de contaminação das carcaças é muito baixo.
- A criação de bovinos confinados pode contribuir para uma maior ocorrência de *Campylobacter* spp. no couro dos animais.
- *Campylobacter coli* foi predominante em cortes de aves, enquanto *Campylobacter jejuni* foi a única espécie isolada de couro bovino.
- *Campylobacter* isolado de amostras de aves foram mais resistentes à antimicrobianos que aqueles isolados de bovinos.
- *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* isolados de amostras de frango apresentaram elevada resistência à antimicrobianos da classe das quinolonas. Já *Campylobacter jejuni* isolado de bovinos apresentou elevada taxa de resistência à estreptomicina.

---

**REFERÊNCIAS**

AARESTRUP, F.M.; ENGBERG, J. Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*. **Veterinary Research**, v.32, n.3/4, p.311–321, 2001.

AARESTRUP, F.M.; NIELSEN, E.M.; MADSEN, M.; ENGBERG, J. Antimicrobial susceptibility patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. from humans, pigs, cattle, and broilers in Denmark. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.41, n.10, p.2244–2250, 1997.

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.

AGROCARNES. Carnes. **Carne bovina – Carne suína – Carne de frango**. Disponível em: <http://www.agrocarnes.com.br/carnes.htm>. Acesso em: 9 out. 2009.

ALLOS, B.M.; TAYLOR, D.N. *Campylobacter* infections. In: EVANS, A.S.; BRACHMAN, P.S. **Bacterial infection of humans: epidemiology and control**. 3.ed. New York: Phenum Medical Book, 1998. cap.8, p.169-190.

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

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.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. Disponível em: [http://www.abiec.com.br/estatisticas\\_relatorios.asp](http://www.abiec.com.br/estatisticas_relatorios.asp). Acesso em: 9 de outubro de 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGOS. Disponível em: [http://www.abef.com.br/noticias\\_portal/exibenoticia.php?notcodigo=972](http://www.abef.com.br/noticias_portal/exibenoticia.php?notcodigo=972). Acesso em: 9 de outubro de 2009.

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.

BAILEY, G.D.; VANSELOW, B.A.; HORNITZKY, M.A.; HUM, S.I.; EAMENS, G.J.; GILL, P.A.; WALKER, K.H.; CRONIN, J.P. A study of the foodborne pathogens: *Campylobacter*, *Listeria* and *Yersinia*, in faeces from slaughter-age cattle and sheep in Australia. **Communicable Diseases Intelligence**, v.27, n.2, p.249–257, 2003.

BARATÉIA, R.C.; SARIDAKIS, H.O.; GAZIRI, L.C.J.; PELAYO, J.S. Effects of medium composition, calcium, iron and oxygen on haemolysin production by

- Plesiomonas shigelloides* isolated from water. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, n.3, p.482-487, 2001.
- BARDON, J.; KOLAR, M.; CEKANOVA, L.; HEJNAR, P.; KOUKALOVA, D. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and its resistance to antibiotics in poultry in the Czech Republic. **Zoonoses and Public Health**, v.56, n.3, p.111-116, 2009.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardizes single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966.
- BEACH, J.C.; MURANO, E.A.; ACUFF, G.R. Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in beef cattle from transport to slaughter. **Journal of Food Protection**, v.65, n.11, p.1687-1693, 2002.
- BESSER, T.E.; LEJEUNE, J.T.; RICE, D.H.; BERG, J.; STILBORN, R.P.; KAYA.; BAE, W.; HANCOCK, D.D. Increasing prevalence of *Campylobacter jejuni* in feedlot cattle through the feeding period. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.10, p.5752–5758, 2005.
- BLASER, M.J.; HARDESTY, H.L.; POWERS, B.; WANG, W.L. Survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in biological milieus. **Journal of Clinical Microbiology**, v.11, n.4, p.309-313, 1980.
- BOHAYCHUK, V.M.; GENSLER, G.E.; KING, R.K.; MANNINEN, K.I.; SORENSEN, O.; WU, J.T.; STILES, M.E.; MCMULLEN, L.M. Occurrence of pathogens in raw and ready-to-eat meat and poultry products collected from the retail marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. **Journal of Food Protection**, v.69, n.9, p.2176–2182, 2006.
- BOLTON, F.J.; ROBERTSON, B. A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni/coli*. **Journal of Clinical Pathology**, v.35, n.4, p.462-467, 1982.
- BOTTELDOORN, N.; VAN COILLIE, E.; PIESSENS, V.; RASSCHAERT, G.; DEBRUYNE, L.; HEYNDRICKX, M.; HERMAN, L.; MESSENS, W. Quantification of *Campylobacter* spp. in chicken carcass rinse by real-time PCR. **Journal of Applied Microbiology**, v.105, n.6, p.1909-1918, 2008.
- 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 Abastecimento. **Portaria nº 210**. Publicado no Diário Oficial da União de 26/11/1998, seção 1, página 226.
- BURGESS, F.; LITTLE, C.L.; ALLEN, G.; WILLIAMSON, K.; MITCHELL, R.T. Prevalence of *campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* on the external packaging of raw meat. **Journal of Food Protection**, v.68, n.3, p.469–475, 2005.
- BUTZLER, J.P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. **Clinical Microbiology and Infection**, v.10, n.10, p.868-876, 2004.

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. **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, p.191-195, 2001.

CASTRO, A.G.M.; GENOVEZ, M.E.; SCARCELLI, E.; 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. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.64, n.2, p.21-26, 1997.

CDC. Center for Diseases Control and Prevention. Division of Foodborne, Bacterial and Mycotic Diseases (DFBMD). Disease Listing – ***Campylobacter* General Information**. Disponível em: [http://www.cdc.gov/nczved/dfbmd/disease\\_listing/campylobacter\\_gi.html](http://www.cdc.gov/nczved/dfbmd/disease_listing/campylobacter_gi.html). Acesso em: 31 de março de 2009.

CHANTARAPANONT, W.; BERRANG, M.; FRANK, J.F. Direct microscopic observation and viability determination of *Campylobacter jejuni* on chicken skin. **Journal of Food Protection**, v.66, n.12, p.2222–2230, 2003.

CHRYSTAL, N.D.; HARGRAVES, S.J.; BOA, A.C.; IRONSIDE, C.J. Counts of *Campylobacter* spp. and prevalence of *Salmonella* associated with New Zealand broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, v.71, n.12, p.2526-2532, 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**: Approved Standard-Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). Pennsylvania, USA, 2003.

CLOAK, O.M.; DUFFY, G.; SHERIDAN, J.J.; BLAIR, I.S.; McDOWELL, D.A. A survey on the incidence of *Campylobacter* spp. and the development of surface adhesion polymerase chain reaction assay for the detection of *Campylobacter jejuni* in retail meat products. **Food Microbiology**, v.18, n.3, p.287–298, 2001.

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: 31 de março de 2009.

CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica. **Surtos de doenças transmitidas por água e alimentos notificados à Divisão do DDTHA – CVE 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: 31 de março de 2009.

DENIS, M.; REFRÉGIER-PETTON, J.; LAISNEY, M.J.; ERMEL, G.; SALVAT, G. *Campylobacter* contamination in French chicken production from farm to consumers:

use of a PCR assay for detection and identification of *Campylobacter jejuni* e *Camp. coli*. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, n.2, p.255-267, 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.

DICKINS, M.A.; FRANKLIN, S.; STEFANOVA, R.; SCHUTZE, G.E.; EISENACH, K.D.; WESLEY, I.; CAVE, M.D. Diversity of *Campylobacter* isolates from retail poultry carcasses and from humans demonstrated by pulsed-field gel electrophoresis. **Journal of Food Protection**, v.65, n.6, p.957–962, 2002.

DOIG, P.; YAO, R.J.; BURR, D.H.; GUERRY, P.; TRUST, T.J. An environmentally regulated pilus-like appendage involved in *Campylobacter* pathogenesis. **Molecular Microbiology**, v.20, n.4, p.885-894, 1996.

DOMÍNGUEZ, C.; GOMEZ, 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.

DRYDEN, M.S.; GABB, R.J.; WRIGHT, S.K. Empirical treatment of severe acute community-acquired gastroenteritis with ciprofloxacin. **Clinical Infectious Disease**, v.22, n.6, p.1019-1025, 1996.

ELLIS-IVERSEN, J.; PRITCRAD, G.C.; WOOLDRIDGE, M.; NIELSEN, M. Risk factors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in young cattle on English and Welsh farms. **Preventive Veterinary Medicine**, v.88, n.1, p.42–48, 2009.

ENDTZ, H.P.; RUIJS, G.J.; VAN KLINGEREN, B.; JANSEN, W.H.; VAN DER REYDEN, T.; MOUTON, R.P. Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.27, n.2, p.199-208, 1991.

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.

ENGBERG, J.; AARESTRUP, F.M.; TAYLOR, D.E.; GERNER-SMIDT, P.; NACHAMKIN, I. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. **Emerging Infectious Disease**, v.7, n.1, p.24–34, 2001.

EUZÉBY, J.P. *Campylobacter*. In: \_\_\_\_\_. **Dictionnaire de bacteriologie veterinaire**. 2004. Disponível em: <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/cc/campylobacter.html>. Acesso em: 25 jun. 2008.

FARIA, D.E.; HENRIQUE, A.P.F.; FRANZOLIN NETO, R.; MEDEIROS, A.A.; JUNQUEIRA, O.M.; FARIA FILHO, D.E. Alternativas ao uso de antibióticos como promotores de crescimento para frangos de corte. 2. Ácidos orgânicos e probióticos. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.1, p.29-39, 2009.

- FERNANDEZ, H. Família Campylobacteraceae. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. eds. Microbiologia. 5. ed. São Paulo: Atheneu, p.357-362, 2008.
- FERNÁNDEZ, 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.
- FIGUEROA, G.; TRONCOSO, M.; LÓPEZ, C.; RIVAS, P.; TORO, M. Occurrence and enumeration of *Campylobacter* spp. during the processing of Chilean broilers. **BMC Microbiology**, v.9, p.94, 2009.
- FIORENTIN, L. Entendendo a questão dos antibióticos promotores de crescimento em frangos. **Embrapa Suínos e Aves**. 2005. Disponível em: [www.cnpesa.embrapa.br/sgc/sgc\\_artigos/artigos\\_x9t63k4g.pdf](http://www.cnpesa.embrapa.br/sgc/sgc_artigos/artigos_x9t63k4g.pdf). Acesso em: 24 set. 2009.
- 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.
- GE, B.; WHITE, D.G.; MCDERMOTT, P.F.; GIRARD, W.; ZHAO, S.; HUBERT, S.; MENG, J. Antimicrobial-resistant *Campylobacter* species from retail raw meats. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, p.3005–3007, 2003.
- 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, F.R.; CURCIO, B.R.; LADEIRA, S.R.L.; FERNÁNDEZ, H.; MEIRELES, M.C.A. *Campylobacter jejuni* occurrence in chicken fecal samples from small properties in Pelotas, Southern of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, n.3, p.375-378, 2006.
- HABIB, I.; SAMPERS, I.; UYTENDAELE, M.; BERKVENSC, D.; DE ZUTTER, L. Performance characteristics and estimation of measurement uncertainty of three plating procedures for *Campylobacter* enumeration in chicken meat. **Food Microbiology**, v.25, p.65-74, 2008.
- HADDEN, R.D.M.; GREGSON, N.A. Guillain-Barré syndrome and *Campylobacter jejuni* infection. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, n.30, p.145-154, 2001.
- HAKKINEN, M.; HEISKA, H.; HÄNNINEN, M. Prevalence of *Campylobacter* spp. in Cattle in Finland and antimicrobial susceptibilities of bovine *Campylobacter jejuni* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, v.73, n.10, p.3232-3238, 2007.



- HAN, F.; LESTARI, S.I.; PU, S.; GE, B. Prevalence and antimicrobial resistance among *Campylobacter* spp. in Louisiana retail chickens after the Enrofloxacin ban. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.6, n.2, p.163-171, 2009.
- HARMON, K.M.; RAMSON, G.M.; WESLEY, I.V. Differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by polymerase chain reaction. **Molecular and Cellular Probes**, v.11, n.3, p.195-200, 1997.
- 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.
- HAVELAAR, A.H.; NAUTA, M.J.; MANGEN, M.J.J.; DE KOEIJER, A.G.; BOGAARDT, M.J.; EVERS, E.G.; JACOBS-REITSMA, W.F.; PELT, W.; VAN WAGENAAR, J.A.; DEWIT, G.A.; VAN DER ZEE, H. **Campylobacter risk management and assessment: costs and benefits of controlling *Campylobacter* in The Netherlands: integrating risk analysis, epidemiology and economics.** (RIVM Report 250911009/2005). Bilthoven: Microbiological Laboratory for Health Protection, 2005. 53p. Disponível em: <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/250911009.pdf>. Acesso em: dia mês abrev. ano.
- HAZELEGER, W.; ARKESTEIJN, Ç.; TOOROP-BOUMA, A.; BEUMER, R. Detection of the coccoid form of *Campylobacter jejuni* in chicken products with the use of the polymerase chain reaction. **International Journal of Food Microbiology**, v.24, n.1/2, p.273-281, 1994.
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. Aerobic/microaerophilic, motile, helical/vibrioid Gram-negative bacteria. In: BERGEY, D.H. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9.ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 2000. Grupo 2, p.39-64.
- HONG, J.; KIM, J.M.; JUNG, W.K.; KIM, S.H.; BAE, W.; KOO, H.C.; GIL, J.; KIM, M.; SER, J.; PARK, Y.H. Prevalence and antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. isolated from chicken meat, pork, and beef in Korea, from 2001 to 2006. **Journal of Food Protection**, v.70, n.4, p.860–866, 2007.
- HUANG, J.L.; XU, H.Y.; BAO, G.Y.; ZHOU, X.H.; JI, D.J.; ZHANG, G.; LIU, P.H.; JIANG, F.; PAN, Z.M.; LIU, X.F.; JIAO, X.A. Epidemiological surveillance of *Campylobacter jejuni* in chicken, dairy cattle and diarrhoea patients. **Epidemiology and Infection**, v.137, n.8, p.1-10, 2009.
- HUMPHREY, T.J.; BECKETT, B. *Campylobacter jejuni* in dairy cows and raw milk. **Epidemiology and Infection**, v.98, n.3, p.263–269, 1987.
- HUNT, J.M.; ABEYTA, C.; TRAN, T. Isolation of *Campylobacter* species from food and water. In: UNITED STATES. Food and Drug Administration. **Bacteriological analytical manual**. 8.ed. Gaithersburg: AOAC International, 1998. p.7.01–7.24.

HUSSAIN, I.; MAHMOODA, M.S.; AKHTARB, M.; KHANC, A. Prevalence of *Campylobacter* species in meat, milk and other food commodities in Pakistan. **Food Microbiology**, v.24, n.7/8, p.219–222, 2007.

INGLIS, G.D.; KALISCHUK, L.D.; BUSZ, H.W. Chronic shedding of *Campylobacter* species in beef cattle. **Journal of Applied Microbiology**, v.97, n.2, p.410-420, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Brasil: 2009**. Disponível em: <http://www.ibge.org.br>. Acesso em: 13 fev. 2009.

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).

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (2006) **ISO 10272-1:2006 (E)**. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp.

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 fev. 2009.

JOHANNESSEN, G.S.; JOHNSEN, G.; OKLAND, M.; CUDJOE, K.S.; HOFSHAGEN, M. Enumeration of thermotolerant *Campylobacter* spp. from poultry carcasses at the end of the slaughter-line. **Letters in Applied Microbiology**, v.44, n.1, p.92–97, 2007.

JONES, K. *Campylobacters* in water, sewage and the environment. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, n.30, p.68S–79S, 2001.

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, 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.

KEGODE, R.B.; DOETKOTT, D.K.; KHAITSA, M.L.; WESLEY, I.V. Occurrence of *Campylobacter* species, *Salmonella* species and generic *Escherichia coli* in meat products from retail outlets in the Fargo metropolitan area. **Journal of Food Safety**, v.28, n.1, p.111–125, 2008.

KETLEY, J.M. Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. **Microbiology**, v.143, n.1, p.5-21, 1997.

- KIST, M. Who discovered *Campylobacter jejuni/coli*? a historical review. **Zentralblatt fuer Bakteriologie, Microbiologie und Hygiene, Abt.1, Originale A: Medizinische Mikrobiologie, Infektionsk**, v.261, p.177-186, 1986.
- 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.
- KORSAK, N.; DAUBE, G.; GHAFIR, Y.; CHAHED, A.; JOLLY, S.; VINDEVOGEL, H. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. **Journal of Food Protection**, v.61, n.5, p.535-541, 1998.
- KOTULA, K.L.; PANDYA, Y. Bacterial contamination of broiler chickens before scalding. **Journal of Food Protection**, v.58, n.12, p.1326-1329, 1995.
- KRAMER, J.M.; FROST, J.A.; BOLTON, F.J.; WAREING, D.R.A. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: Identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. **Journal of Food Protection**, v.63, n.12, p.1654-1659, 2000.
- KUANA, S.L.; SANTOS, L.R.; RODRIGUES, L.B.; BORSOI, A.; MORAES, H.L.S.; SALLE, C.T.P.; NASCIMENTO, V.P. Occurrence and characterization of *Campylobacter* in the Brazilian production and processing of broilers. **Avian Diseases**, v.52, n.4, p.680-684, 2008.
- 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.
- LEDERGERBER, U.; REGULA, G.; STEPHAN, R.; DANUSER, J.; BISSIG, B.; STARK, K.D. Risk factors for antibiotic resistance in *Campylobacter* spp. isolated from raw poultry meat in Switzerland. **BMC Public Health**, v.3, n.39, 2003.
- LEE, A.; SMITH, S.C.; COLOE, P.J. Survival and growth of *Campylobacter jejuni* after artificial inoculation onto chicken skin as a function of temperature and packaging conditions. **Journal of Food Protection**, v.61, n.12, p.1609-1614, 1998.
- LI, C.C.; CHIU, C.H.; WU, J.L.; HUANG, Y.C.; LIN, T.Y. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *coli* by using E-test in Taiwan. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v.30, n.1, p.39-42, 1998.
- LINDBLAD, M.; LINDMARK, 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.
- LITTLE, C.L.; RICHARDSON, J.F.; OWEN, R.J.; PINNA, E.; THRELFALL, J. Prevalence, characterisation and antimicrobial resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* in raw poultrymeat in the UK, 2003-2005. **International Journal of Environmental Health Research**, v.18, n.6, p.403-414, 2008.

- LUBER, P.; BARTELT, E. Enumeration of *Campylobacter* spp. on the surface and within chicken breast fillets. **Journal of Applied Microbiology**, v.102, n.2, p.313–318, 2007.
- LUBER, P.; BARTELT, E.; GENSCHOW, E.; WAGNER, J.; HAHN, H. Comparison of broth microdilution, E test, and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, p.1062–1068, 2003.
- LUCEY, B.; FEURER, C.; GREER, P.; MOLONEY, P.; CRYAN, B.; FANNING, S. Antimicrobial resistance profiling and DNA Amplification Fingerprinting (DAF) of thermophilic *Campylobacter* spp. in human, poultry and porcine samples from the Cork region of Ireland. **Journal of Applied Microbiology**, v.89, p.727-734, 2000.
- LUU, Q.H.; TRAN, T.H.; PHUNG, D.C.; NGUYEN, T.B. Study on the prevalence of *Campylobacter* spp. from chicken meat in Hanoi, Vietnam. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1081, p.273–275, 2006.
- MADDEN, R.H.; ESPIE, W.E.; MORAN, L.; McBRIDE, J.; SCATES, P. Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on beef carcasses in Northern Ireland. **Meat Science**, v.58, n.4, p.343–346, 2001.
- MANFREDA, G.; CESARE, A.; BONDILOLO, V.; STERN, N.J.; FRANCHINI, A. Enumeration and identity of *Campylobacter* spp. in Italian broilers. **Poultry Science**, v.85, n.3, p.556–562, 2006.
- MAZICK, A.; ETHELBERG, S.; MOLLER NIELSEN, E.; 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 fev. 2009.
- McCREA, B.A.; TONOOKA, K.H.; VANWOTH, C.; BOGGS, C.L.; ATWILL, E.R.; SCHRADER, J.S. Prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* species on farm, after transport, and at processing in specialty market poultry. **Poultry Science**, v.85, n.1, p.136–143, 2006.
- McEVOY, J.M.; DOHERTY, A.M.; FINNERTY, M.; SHERIDAN, J.J.; McGUIRE, L.; BLAIR, I.S.; McDOWELL, D.A.; HARRINGTON, D. The relationship between hide cleanliness and bacterial numbers on beef carcasses at a commercial abattoir. **Letters in Applied Microbiology**, v.30, n.5, p.390-395, 2000.
- McNAMARA, A.M. Establishment of baseline data on the microbiota of meats. **Journal of Food Safety**, v.15, p.113-119, 1995.
- MEAD, P.S. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v.5, n.5, p.607-625, 1999.

MEDEIROS, D.T.; SATTAR, S.A.; FARBER, J.M.; CARRILLO, C.D. Occurrence of *Campylobacter* spp. in raw and ready-to-eat foods and in a Canadian food service operation. **Journal of Food Protection**, v.71, n.10, p.2087–2093, 2008.

MEDEIROS, M.I.C.; NEME, S.N.; SILVA, P.; CAPUANO, D.M.; ERRERA, M.C.; FERNANDES, 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.

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.

MENA, C.; RODRIGUES, D.; SILVA, J.; GIBBS, P.; TEIXEIRA, P. Occurrence, Identification, and characterization of *Campylobacter* species isolated from Portuguese poultry samples collected from retail establishments. **Poultry Science**, v.87, n.1, p.187–190, 2008.

MILNES, A.S.; SAYERS, A.R.; STEWART, I.; CLIFTON-HADLEY, F.A.; DAVIES, R.H.; NEWELL, D.G.; COOK, A.J.C.; EVANS, S.J.; SMITH, R.P.; PAIBA, G.A. Factors related to the carriage of Verocytotoxigenic *E. coli*, *Salmonella*, thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in cattle, sheep and pigs at slaughter. **Epidemiology and Infection**, v.137, n.8, p.1-14, 2009.

MINIHAN, D.; WHYTE, P.; O'MAHONY, M.; FANNING, S.; MCGILL, K.; COLLINS, J.D. *Campylobacter* spp. in Irish feedlot cattle: a longitudinal study involving pre-harvest and harvest phases of the food chain. **Journal of Veterinary Medicine, B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v.51, n.1, p.28–33, 2004.

MMWR. *Campylobacter jejuni* infection associated with unpasteurized milk and cheese – Kansas, 2007. **MMWR, Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.57, n.51, p.1377-1379, 2009. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5751a2.htm>. Acesso em: 31 mar. 2009.

MMWR. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 States, 2007. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.57, n.14, p.366-370, 2008. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5714a2.htm>. Acesso em: 31 mar. 2009.

MOORE, J.E.; WILSON, T.S.; WAREING, D.R.A.; HUMPHREY, T.J.; MURPHY, P.G. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* spp. in ready-to-eat foods and raw poultry in Northern Ireland. **Journal of Food Protection**, v.65, n.8, p.1326–1328, 2002.

MORAN, L.; SCATES, P.; MADDEN, R. Prevalence of *Campylobacter* spp. in raw retail poultry on sale in Northern Ireland. **Journal of Food Protection**, v.72, n.9, p.1830-1835, 2009.

- NACHAMKIN, I. *Campylobacter jejuni*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R. **Food microbiology: fundamental and frontiers**. 3.ed. Washinton: ASM Press, 2007. p.237-248.
- NACHANKIN, I.; ENGBERG, J.; AARESTRUP, F.M. Diagnosis and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* species. In: NACHANKIN, I.; BLASER, M.J., eds. **Campylobacter**. 2.ed. Washington: ASM Press, 2000. p.3-26.
- ON, S.L.W. Taxonomy of *Campylobacters*, *Arcobacter*, *Helicobacters*, 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. **International Journal of Food Microbiology**, v.47, n.3, p.211–219, 1999.
- OVERELL, J.R.; WILLISON, H.J. Recent developments in Miler Fisher syndrome and related disorders. **Current Opinion in Neurology**, v.18, p.562-566, 2005.
- OXOID. **Food-borne pathogens**. Basingstoke: Technical Support Department, s.d. 33 p. (MONOGRAPH NUMBER 3, *CAMPYLOBACTER*). [Catálogo].
- PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2.ed. Goiânia: EDUFF/UFG–Editora Universitária, 2001. 623p. [v.1: Ciência e higiene da carne. Tecnologia da sua obtenção e transformação].
- PARISI, A.; LANZILOTTA, S.G.; ADDANTE, N.; NORMANNO, G.; DI MODUGNO, G.; DAMBROSIO, A.; MONTAGNA, C.O. Prevalence, molecular characterization and antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter* isolates from cattle, hens, broilers and broiler meat in South-eastern Italy. **Veterinary Research Communications**, v.31, n.1, p.113–123, 2007.
- PARK, R.W.A.; GRIFFITHS, P.L.; MORENO, G.S. Sources and survival of campylobacters: relevance to enteritis and the food industry. **Society for Applied Bacteriology Symposium Series**, v.70, n.20, p.97S-106S, 1991.
- PEPE, T.; DOMINICS, R.; ESPOSITO, G.; VENTRONE, I.; FRATAMICO, P.; CORTESI, M.L. Detection of *Campylobacter* from poultry carcass skin samples at slaughter in Southern Italy. **Journal of Food Protection**, v.72, n.8, p.17718-17721, 2009.
- 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.
- 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.; SUMNER, 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.

- PURDY, D.; BUSWELL, C.M.; HODGSON, A.E.; McALPINE, K.; HENDERSON, I.; LEACH, S.A. Characterisation of cytolethal distending toxin (CDT) mutants of *Campylobacter jejuni*. **Journal of Medical Microbiology**, v.49, p.473-479, 2000.
- RAHIMI, E.; MOMTAZ, H.; HEMMATZADEH, F. The prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter* spp. on bovine carcasses in Isfahan, Iran. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v.9, n.4, p.365-370, 2008.
- RAUTELIN, H.; JUSUFOVIC, J.; HANNINEM, M.J. Identification of hippurate negative thermophilic campylobacters. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.35, n.1, p.9-12, 1999.
- REICH, F.; ATANASSOVA, V.; HAUNHORST, E.; KLEIN, G. The effects of *Campylobacter* numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*. **International Journal of Food Microbiology**, v.127, n.1/2, p.116-120, 2008.
- REID, C.A.; SMALL, A.; AVERY, S.M.; BUNCIC, S. Presence of food-borne pathogens on cattle hides. **Food Control**, v.13, n.6/7, p.411-415, 2002.
- ROASTO, M.; JUHKAM, K.; TAMME, T.; HORMAN, A.; HAKKINEN, L.; REINIK, M.; KARUS, A.; HANNINEN, M.L. High level of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* isolated from broiler chickens in Estonia in 2005 and 2006. **Journal of Food Protection**, v.70, n.8, p.1940-1944, 2007.
- 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, 3.ed. 2007). **International Journal of Food Microbiology**, v.118, n.2, p.201-213, 2007.
- 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, n.1, 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.18, n.9, p.1113-1120, 2007.
- SAVASÇI, M.; OZDEMIR, H. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* spp. in retail chicken meat in Ankara. **Journal of Food Safety**, v.26, n.3, p.244-250, 2006.
- SCARCELLI, E.; MIYASHIRO, S.; CAMPOS, F.R.; CASTRO, A.G.M.; TESSARI, E.N.C.; CARDOSE, A.L.P. Detecção de *Campylobacter jejuni* em carcaças e cortes de frangos pela reação da polimerase em cadeia. **Higiene Alimentar**, v.19, n.129, p.71-75, 2005.
- 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.

SKIRROW, M.B. *Campylobacter* enteritis: a new disease. **British Medical Journal**, v.2, n.6078, p.9-11, 1977.

SKIRROW, M.B.; BLASER, M.J. Clinical aspects of *Campylobacter* infection. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M.J., eds. **Campylobacter**. Washington: ASM Press, 2000. cap.4, p.69-88.

SMALL, A.; REID, C.A.; AVERY, S.M.; KARABASIL, N.; CROWLEY, C.; BUNCIC, S. Potential for the spread of *Escherichia coli* O157, *Salmonella* and *Campylobacter* in the lairage environment at abattoirs. **Journal of Food Protection**, v.65, n.6, p.931-936, 2002.

SNELLING, W.J.; MATSUDA, M.; MOORE, J.E.; DOOLEY, J.S.G. Under the microscope – *Campylobacter jejuni*. **Letters in Applied Microbiology**, v.41, n.4, p.297-302, 2005.

SOLOMON, E.B.; HOOVER, D.G. *Campylobacter jejuni*: a bacterial paradox. **Journal of Food Safety**, v.19, n.2, p.121-136, 1999.

SON, I.; ENGLIN, 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, n.1, p.16-22, 2007.

STANLEY, K.; JONES, K. Cattle and sheeps farms as reservoirs of *Campylobacter*. **Journal of Applied Microbiology**, v.94, p.104-113, 2003.

STANLEY, K.; WALLACE, J.S.; CURRIE, J.E.; DIGGLE, P.J.; JONES, K. The seasonal variation of thermophilic campylobacters in beef cattle, dairy cattle and calves. **Journal of Applied Microbiology**, v.85, n.3, p.472-480, 1998.

STEINHAUSEROVA, I.; CESKOVA, J.; FOJTIKOVA, K.; OBROVSKA, I. Identification of thermophilic *Campylobacter* spp. by phenotypic and molecular methods. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, n. 3, p. 470-475, 2001.

STERN, N.; LINE, J.E. Enumeration of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* in broiler carcass rinses before and after simulated transport in artificial ice for 24 hours. **Journal of Food Protection**, v.72, n.5, p.1099-1101, 2009.

STERN, N.J.; LINE, J.E.; CHEN, H.C. *Campylobacter*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiology examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. p.301-310.

STERN, N.J.; ROBACH, M.C. Enumeration of *Campylobacter* spp. in broiler feces and in corresponding processed carcasses. **Journal of Food Protection**, v.66, n.9, p.1557-1563, 2003.

STERN, N.J.; ROTHENBERG, P.J.; STONE, J.M. Enumeration and reduction of *Campylobacter jejuni* in poultry and red meats. **Journal of Food Protection**, v.48, p.606-610, 1985.



STUART, T.L.; SANDHU, J.; STIRLING, R. An 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.

SUZUKI, H.; YAMAMOTO, S. *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in Japan: a literature survey. **Food Control**, v.20, n.6, p.531–537, 2009.

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. **International Journal of Food Microbiology**, v.108, n.3, p.401-403, 2006.

TOSIN, I.; MACHADO, R.A. Ocorrência de *Campylobacter* spp. entre manipuladores de alimentos em cozinhas hospitalares de localidade urbana da região sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.29, n.6, p.472-477, 1995.

UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. Disponível em: [http://www.uba.org.br/ubanews\\_files/relatorio\\_uba\\_06\\_07\\_baixa\\_1.pdf](http://www.uba.org.br/ubanews_files/relatorio_uba_06_07_baixa_1.pdf). Acesso em: 9 out. 2009.

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.735–740, 1999.

VAN ASSELT, E.D.; JACOBS-REITSMA, W.F.; VAN BRAKEL, R.; VAN DER VOET, H.; VAN DER FELLS-KLERX, H.J. *Campylobacter* prevalence in the broiler supply chain in the Netherlands. **Poultry Science**, v.87, n.10, p.2166–2172, 2008.

VANDAMME, P.; DE LEY, J. Proposal of a new family, *Campylobacteraceae*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 41, p. 451-55, 1991.

VANDAMME, P. Taxonomic of the family *Campylobacteriaceae*. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M.J., eds. **Campylobacter**. Washington: ASM Press, 2000. p.3-27.

VANDERLINDE, P.B.; SHAY, B.; MURRAY, J. Microbiological quality of Australian beef carcass meat and frozen bulk packed beef. **Journal of Food Protection**, v.61, n.4, p.437–443, 1998.

VAN DER ZEE, H.; WIT, B.; VOLLEMA, A.R. Monitoring pathogen in kip en kipproducten. **Food and Consumer Product Safety Authority**, Zutphen, the Netherlands (In Dutch). 2005.

VAN NIEROP, W.; DUSE, A.G.; MARAISA, E.; AITHMAA, N.; THOTHOBOLOA, N.; KASSELA, M.; STEWARTA, R.; POTGIETERA, A.; FERNANDESA, B.; GALPINB, 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, n.1, p.1-6, 2005.

- VAN VLIET, A.H.M.; KETLEY, J.M. Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection. **Society for Applied Microbiology Symposium Series**, v.90, n.30, p.45S-56S, 2001.
- VILARDO, M.C.B.; THOMÉ, J.D.S.; ESTEVES, W.T.C.; FILGUEIRAS, A.L.L.; OLIVEIRA, S.S. Application of biochemical and polymerase chain reaction assays for identification of *Campylobacter* isolates from non-human primates. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, n.5, p.499-501, 2006.
- VINDIGNI, S.M.; SRIJAN, A.; WONGSTITWILAIROONG, B.; MARCUS, R.; MEEK, J.; RILEY, P.L.; MASON, C. Prevalence of foodborne microorganisms in retail foods in Thailand. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.4, n.2, p.208-215, 2007.
- ZANETTI, F.; VAROLI, O.; STAMPI, S.; DE LUCA, G. Prevalence of thermophilic *Campylobacter* and *Arcobacter butzleri* in food of animal origin. **International Journal of Food Microbiology**, v.33, n.2/3, p.315-321, 1996.
- ZHAO, C.; GE, B.; DE VILENA, J.; SUDLER, R.; YEH, E.; ZHAO, S.; WHITE, D.G.; WAGNER, D.; MENG, J. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the greater Washington, D.C. area. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, n.12, p.5431-5436, 2001.
- WASSENAAR, T.M.; ENGELSKIRCHEN, M.; PARK, S.; LASTOVICA, A. Differential uptake killing potential of *Campylobacter jejuni* by human peripheral monocytes/macrophages. **Medical Microbiology and Immunology**, v.186, n.2/3, p.139-144, 1997.
- WESLEY, I.V.; WELLS, S.J.; HARMON, K.M.; GREEN, A.; SCHROEDER-TUCKER, L.; GLOVER, M.; SIDDIQUE, I. Fecal shedding of *Campylobacter* and *Arcobacter* spp. in dairy cattle. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.5, p.1994-2000, 2000.
- 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 of Food Microbiology**, v.95, n.2, p.111-118, 2004.
- WHYTE, R.; HUDSON, J.A.; GRAHAM, C. *Campylobacter* in chicken livers and their destruction by pan frying. **Letters in Applied Microbiology**, v.43, n.6, p.591-595, 2006.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Programmes and Projects. Media Centre. Fact Sheets. **Food safety and foodborne illness**. 2007. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>. Acesso em: 20 mar. 2009.
- WILLIS, W.L.; MURRAY, C. *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail market broilers. **Poultry Science**, v.76, n.2, p.314-317, 1997.
- WONG, T.L.; HOLLIS, L.; CORNELIUS, A.; NICOL, C.; COOK, R.; HUDSON, J.A. Prevalence, numbers and subtypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*

in uncooked retail meat samples. **Journal of Food Protection**, v.70, n.3, p.566–573, 2007.

YANG-CHIH-SHIH, D. Isolation and identification of enteropathogenic *Campylobacter* spp. from chicken samples in Taipei. **Journal of Food Protection**, v.63, n.3, p.304-308, 2000.

YANG, C.; JIANG, Y.; HUANG, K.; ZHU, C.; YIN, Y. Application of real-time PCR for quantitative detection of *Campylobacter jejuni* in poultry, milk and environmental water. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.38, n.3, p.265-271, 2003.

YUCEL, N.; ERGULER, O. Prevalence and resistance to antibiotics of *Campylobacter* spp. isolated from chicken meat in the central area of Turkey. **Archiv für Lebensmittelhygiene**, v.59, n.5, p.170–174, 2008.

## APÊNDICE

**Apêndice A** – Perfil de resistência dos isolados de *Campylobacter* das carcaças bovinas frente aos antimicrobianos.

Amostra	Espécie	NAL 30 µg	CIP 5 µg	ERI 15 µg	CFL 30 µg	EST 10 µg	GEN 10 µg	CLO 30 µg	TET 30 µg
14	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
16	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
21	<i>C. jejuni</i>	S	S	R	R	R	S	R	S
30	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
35	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
40	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
80	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
86	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
91	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
94	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
98	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
111	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
112	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
113	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
114	<i>C. jejuni</i>	S	S	R	R	R	S	S	S
115	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
134	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
136	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
139	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
140	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	R	S	S	S
144	<i>C. jejuni</i>	R	S	S	R	R	S	S	S
149	<i>C. jejuni</i>	R	S	R	R	R	R	S	S
150	<i>C. jejuni</i>	R	R	S	R	R	R	S	S
151	<i>C. jejuni</i>	R	S	S	R	R	S	S	S
154	<i>C. jejuni</i>	S	S	R	R	R	S	R	S
178	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	R	S	S	S
179	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
180	<i>C. jejuni</i>	S	S	R	R	S	S	S	S
181	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
182	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	R	S	S	S
183	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
184	<i>C. jejuni</i>	S	S	R	R	R	S	R	S
185	<i>C. jejuni</i>	S	R	S	R	R	S	R	S
187	<i>C. jejuni</i>	R	R	S	R	R	S	R	S
188	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
189	<i>C. jejuni</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
190	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
191	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
192	<i>C. jejuni</i>	S	S	R	R	S	S	S	S
193	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
194	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
195	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
196	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
197	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
198	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S

S = sensível

R = resistente

NAL = ácido nalidíxico; CIP = ciprofloxacina; ERI = eritromicina; CFL = cefalotina; EST = estreptomicina; GEN = gentamicina; CLO = cloranfenicol; TET = tetraciclina.

**Apêndice B** – Perfil de resistência dos isolados de *Campylobacter* do frango frente aos antimicrobianos.

Isolado	Espécie	NAL 30 µg	CIP 5 µg	ERI 15 µg	CFL 30 µg	EST 10 µg	GEN 10 µg	CLO 30 µg	TET 30 µg
1	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
2	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
3	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
4	<i>C.jejuni</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
5	<i>C.jejuni</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
6	<i>C.jejuni</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
7	<i>C.jejuni</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
8	<i>C.jejuni</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
9	<i>C.coli</i>	S	S	R	R	R	S	S	S
10	<i>C.coli</i>	S	S	R	R	S	S	S	S
11	<i>C.coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
12	<i>C.coli</i>	S	S	R	R	R	S	S	S
13	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
14	<i>C.coli</i>	R	S	R	R	R	S	S	S
15	<i>C.coli</i>	S	S	R	R	R	S	S	S
16	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
17	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
18	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
19	<i>C.coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
20	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
21	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
22	<i>C.jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
23	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
24	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
25	<i>C.coli</i>	S	R	S	R	S	S	S	S
26	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
27	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
28	<i>C.coli</i>	S	R	S	R	S	S	S	S
29	<i>C.coli</i>	S	R	S	R	S	S	S	S
30	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
31	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
32	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
33	<i>C.coli</i>	S	R	S	R	S	S	S	S
34	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
35	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
36	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
37	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	R	S	S	S
38	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	R	S	S	S
39	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
40	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	R	S	S	S
41	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
42	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
43	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
44	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
45	<i>C.coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
46	<i>C.coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
47	<i>C.jejuni</i>	S	R	S	R	R	S	S	S
48	<i>C.jejuni</i>	R	R	S	R	S	S	S	R
49	<i>C.coli</i>	S	R	S	R	S	S	S	S
50	<i>C.coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S

Cont.

## Continuação Apêndice B.

51	<i>C. coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
52	<i>C. coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
53	<i>C. coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
54	<i>C. coli</i>	S	R	S	R	S	S	S	S
55	<i>C. coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
56	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
57	<i>C. coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
58	<i>C. coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
59	<i>C. coli</i>	R	R	S	R	S	S	S	S
60	<i>C. jejuni</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
61	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
62	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
63	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
64	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
65	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
66	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
67	<i>C. coli</i>	R	S	S	R	S	S	S	S
68	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
69	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
70	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
71	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
72	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
73	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
74	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S
75	<i>C. coli</i>	S	S	S	R	S	S	S	S

S = sensível

R = resistente

NAL = ácido nalidíxico; CIP = ciprofloxacina; ERI = eritromicina; CFL = cefalotina; EST = estreptomicina; GEN = gentamicina; CLO = cloranfenicol; TET = tetraciclina.