



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
NÚCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL  
**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA -**  
AMAZÔNIA ORIENTAL  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

Sílvio Orlan de Castro Chaves

**PESQUISA DE *Campylobacter* spp. EM GRANJAS E  
ABATEDOURO AVÍCOLAS NA MESORREGIÃO  
METROPOLITANA DE BELÉM - PA**

Belém

2007



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
NÚCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL  
**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA –**  
AMAZÔNIA ORIENTAL  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

Sílvio Orlan de Castro Chaves

**PESQUISA DE *Campylobacter* spp. EM GRANJAS E  
ABATEDOURO AVÍCOLAS NA MESORREGIÃO  
METROPOLITANA DE BELÉM - PA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental e da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração: Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. José de Arimatéia Freitas.

Bélem

2007



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
NÚCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL  
**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA –**  
AMAZÔNIA ORIENTAL  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL  
**Sílvio Orlan de Castro Chaves**

**PESQUISA DE *Campylobacter* spp. EM GRANJAS E  
ABATEDOURO AVÍCOLAS NA MESORREGIÃO  
METROPOLITANA DE BELÉM - PA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental e da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração: Sanidade Animal.

**Data : 22/08/2007**

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. José de Arimatéia Freitas – Presidente  
Universidade Federal Rural da Amazônia.

---

Prof. Dr. Cláudio Vieira de Araújo – Titular  
Universidade Federal Rural da Amazônia.

---

Prof. Dra. Hilma Lúcia Tavares Dias – Titular  
Universidade Federal do Pará.

**Belém**  
**2007**

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais  
Benigna (in memorian) e Nesinho.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pela vida e pelo aprendizado diário.

Ao Instituto Evandro Chagas (IEC) e ao Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO-PA) pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho.

À Elisabeth Conceição de Oliveira Santos, diretora do IEC, pela autorização do desenvolvimento das atividades no IEC.

Ao Francisco Airton Nogueira, Coordenador Geral do LANAGRO – PA, pelo apoio no desenvolvimento do presente trabalho.

À Maria Luíza Lopes, chefe da Seção de Bacteriologia e Micologia do IEC pela autorização do desenvolvimento do experimento no Laboratório de Enteroinfecções Bacterianas do IEC.

Ao Naimes de Oliveira Paiva, pelo incentivo no desenvolvimento deste trabalho.

Ao médico Francisco Lúzio de Paula Ramos, pesquisador do IEC, pelo incentivo e colaboração inicial para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu orientador, José de Arimatéia Freitas, pela orientação do mestrado e pelas contribuições valiosas no desenvolvimento da dissertação.

Meu estimado agradecimento à Cintya de Oliveira Souza, pela orientação das atividades no IEC e pelas contribuições indispensáveis no desenvolvimento desta dissertação.

Ao professor Cláudio Vieira de Araújo pela análise estatística dos resultados obtidos neste trabalho.

Ao meu amigo René Ribeiro da Silva pela ajuda nas coletas das amostras e ao constante incentivo no desenvolvimento da dissertação.

Ao Luís Antonio Pinheiro de Melo, médico veterinário responsável pelas três granjas avícolas envolvidas neste estudo, pela autorização do desenvolvimento das atividades de coleta nos galpões dos criatórios.

À Ana Júlia Leão Colares, médica veterinária responsável pela Inspeção Federal no abatedouro, pela coleta das amostras na linha de abate.

À Dolores Dias dos Santos, técnica de laboratório do IEC, pela ajuda nas coletas de amostras e no desenvolvimento do experimento, estando sempre disposta a contribuir nas atividades laboratoriais.

Ao Rieldson Dias dos Santos e José Góes dos Santos, pelas contribuições no desenvolvimento das atividades laboratoriais.

À Patrícia Shiori Yoshida pela contribuição nas coletas das amostras.

Ao José Caetano da Silva e Raimundo Nonato Oliveira de Araújo pela ajuda na coleta de sangue para preparação dos meios de cultura.

À Mariele dos Santos Gonçalves pela contribuição nas coletas de sangue e pela ajuda na preparação de meios.

À Maria Odete Melo Arouche pela contribuição no preparo de meios.

Ao Miguel Otávio Magalhães Neves e Paulo Henrique de Souza Batista pela contribuição nas coletas de sangue, lavagem de vidrarias e esterilização de meios e utensílios.

Ao Edmilson João Castro Lopes pela ajuda na esterilização dos meios.

À Maria Vivina de Barros Monteiro pela valiosa ajuda no preparo da apresentação da dissertação.

À Valéria de Barros Monteiro pelo constante incentivo e apoio para que tudo ocorresse bem durante esta trajetória.

## RESUMO

As infecções de origem alimentar no homem, causadas por *Campylobacter* spp., resultam em grandes perdas econômicas e estão relacionadas à produção e o abate de frangos, etapas importantes na disseminação dessas bactérias. Baseando-se na importância do *Campylobacter* spp. na saúde pública e tendo em vista os dados constantes na literatura de que as aves comercializadas estão constantemente contaminadas com esse agente, sentiu-se a necessidade de realizar um estudo envolvendo a criação e o abate de frangos na região amazônica para que medidas profiláticas e de controle possam ser adotadas. O trabalho teve como objetivo estudar a ocorrência de *Campylobacter* spp. em granjas e abatedouro avícolas na mesorregião metropolitana de Belém – PA; isolar e identificar as espécies de *Campylobacter* spp. e identificar as fontes de contaminação nas granjas e os pontos críticos no abate. Foi coletado um total de 120 amostras em três granjas avícolas: 30 amostras de “swab” cloacal, 30 amostras de cama de frango, 30 amostras de ração e 30 amostras de água dos bebedouros. No abatedouro, foram colhidas 126 amostras: 36 amostras de água em 12 pontos diferentes da linha de abate e mais 30 amostras de pele do conjunto peito/ pescoço, 30 amostras de fígado e 30 amostras de moela. As amostras foram colhidas entre os meses de janeiro e maio de 2007 para o isolamento e identificação das espécies de *Campylobacter* spp. As amostras foram processadas na Seção de Bacteriologia e Micologia do Instituto Evandro Chagas – IEC da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), Ministério da Saúde, Ananindeua – PA. *Campylobacter* spp. foi isolado em 33,3% (40/120) das amostras das granjas. Não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os percentuais de isolamentos positivos entre as três granjas pesquisadas. Ao analisar as freqüências dos isolados de *Campylobacter* spp. para cada tipo de amostra das granjas, observou-se que 96,6% (29/30) das amostras de “swab” cloacal, 33,3% (10/30) das amostras de cama e 3,3% (1/30) das amostras de água foram positivas para *Campylobacter* spp. Não foi isolada a bactéria nas amostras de ração. *Campylobacter jejuni* foi identificado bioquimicamente em 82,5% (33/40) das cepas isoladas nas granjas. No abatedouro, todas as cepas isoladas foram identificadas como *C. jejuni*., sendo isolado a bactéria em 8,73% (11/126) das amostras provenientes da linha de abate. Ao analisar as freqüências dos isolados de *C. jejuni* para cada tipo de amostra do abatedouro, observou-se que 27,8% (10/36) das amostras de água foram positivas para *C. jejuni*, seguido pela moela com 3,3% (1/30) das amostras positivas. Não foi isolado *Campylobacter* spp. nas amostras de fígado e de pele do conjunto peito/ pescoço. Houve diferença significativa ( $p<0,0001$ ) entre os isolamentos positivos, negativos e os tipos de amostras processadas nas granjas e no abatedouro. As principais fontes de contaminação nas granjas foram o “swab” cloacal, a cama e, em menor escala, a água. Os principais pontos críticos observados no abatedouro foram a água, seguido pela moela. *C. jejuni* foi identificado em elevado percentual entre as cepas isoladas nas granjas e em todas as cepas do abatedouro.

Palavras-chave: *Campylobacter* spp. *Campylobacter jejuni*. Frango. Abatedouro.

## SUMMARY

The human infections of food origin caused by *Campylobacter* spp. result in high economic losses and these infections are correlated to poultry flock and slaughter, important steps in *Campylobacter* spp. dissemination. Based on the importance of this microorganism in public health and in the literature data that show the high poultry contamination by *Campylobacter* spp., we realize a study involving the flock and the poultry slaughter in Amazon region for adoption of prophylactic and control measures. The objective of this work was to investigate the occurrence of *Campylobacter* spp. in poultry flock and slaughterhouse in Amazon region and to isolate and to identify the *Campylobacter* species and to identify the sources of infection in the flock and the critical points in the slaughterhouse. We collected 120 samples in three flocks: 30 cloacal swab samples, 30 poultry litter samples, 30 feed samples and 30 water samples. In the slaughterhouse, 126 samples were collected: 36 water samples from 12 different points in the abattoir, 30 neck/ chest skin samples, 30 liver samples and 30 gizzard samples. The samples were collected from January to May 2007. The samples were processed in the Bacteriology and Micology Laboratory in Evandro Chagas Institute – Health Surveillance Office – Brazil's Health Ministry. *Campylobacter* spp. was isolated in 33,3% (40/120) flock samples. There was no significant difference ( $p>0,05$ ) between positive isolates in the three flocks. *Campylobacter* spp. was isolated in 96,6% (29/30) cloacal swab samples, 33,33% (10/30) poultry litter samples and 3,3% (1/30) water samples. There were no positive samples in the feed. *Campylobacter jejuni* was identified by biochemistry reactions in 82,5% (33/40) of isolates from flocks. In the slaughterhouse, all isolates were identified as *C. jejuni*. This microorganism was isolated in 8,73% (11/126) of slaughterhouse samples. *C. jejuni* was isolated in 27,8% (10/36) water samples and in 3,3% (1/30) gizzard samples. *Campylobacter* spp. was not isolated in liver samples neither in neck/ chest skin samples. There was significant difference ( $p<0,0001$ ) between positive, negative isolates and among all kinds of samples collected in the flocks and at the slaughterhouse. The infections sources identified in the flocks were the cloacal swab, the poultry litter and the water. In the slaughterhouse, the critical points identified were the water and the gizzard. *C. jejuni* was identified in high levels in the flocks and in all isolates from the slaughterhouse.

Key words: *Campylobacter* spp. *Campylobacter jejuni*. Poultry. Slaughterhouse.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

		Página
Figura 1	Bastonetes delgados Gram negativos com formas típicas de <i>Campylobacter</i> spp. Aumento: 1000X.	21
Figura 2	Colheita de amostra de “swab” cloacal em frango de corte (gênero: <i>Gallus</i> ).	40
Figura 3	Colheita de amostra de cama de frango em saco plástico estéril.	41
Figura 4	Colheita de amostra de ração diretamente do comedouro em saco plástico estéril.	42
Figura 5	Bebedouro por gotejamento presente na granja 1.	43
Figura 6	As granjas 2 e 3 apresentavam bebedouros do tipo pendular.	44
Figura 7	Escaldadeira – ponto de colheita de água no abatedouro.	44
Figura 8	Calha de escoamento da água de evisceração das carcaças – ponto de colheita de água no abatedouro.	45
Figura 9	Mini-tanques de resfriamento da moela, fígado e do conjunto cabeça/pescoço - pontos de colheitas de água no abatedouro.	45
Figura 10	Tanque de pré-resfriamento das carcaças – ponto de colheita de água no abatedouro.	46
Figura 11	Tanque de resfriamento das carcaças – ponto de colheita de água no abatedouro.	46
Figura 12	Trituração de amostra de fígado com auxílio de pinça e tesoura esterilizadas.	47
Figura 13	Meio seletivo para <i>Campylobacter</i> spp. com membrana filtrante de 0,45 µm de porosidade.	49
Figura 14	Meio seletivo para <i>Campylobacter</i> spp. com amostra inoculada sobre membrana filtrante de 0,45 µm de porosidade.	50
Figura 15	Meio seletivo para <i>Campylobacter</i> spp. com colônias típicas do gênero.	52
Figura 16	Teste de hidrólise do hipurato. À esquerda, cepa de <i>Campylobacter jejuni</i> que hidrolisou o hipurato (líquido com coloração violeta). À direita, cepa de <i>Campylobacter</i> spp., que não hidrolisou o hipurato (anel superior do líquido com coloração amarela e coluna inferior do líquido incolor).	52
Figura 17	Freqüência de isolados de <i>Campylobacter</i> spp. em cada tipo de amostra coletada em três granjas avícolas na mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.	58
Figura 18	Freqüência dos isolados de <i>Campylobacter jejuni</i> em cada tipo de amostra colhida em abatedouro avícola na região metropolitana de Belém, estado do Pará.	61

## LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Produção mundial de carne de frango no período de 1999 a 2007**, segundo os principais países produtores.	17
Tabela 2	Exportação mundial de carne de frango no período de 2000 a 2007**, segundo os principais países exportadores.	18
Tabela 3	Efetivo de aves (galos, frangas, frangos e pintos) do Brasil, Região Norte, estado do Pará e mesorregiões.	18
Tabela 4	Características bioquímicas de <i>Campylobacter</i> spp. termotolerante.	35
Tabela 5	Número e tipo de amostras colhidas em cada granja avícola.	38
Tabela 6	Número e tipo de amostras colhidas no abatedouro.	39
Tabela 7	Freqüência de isolamentos de <i>Campylobacter</i> spp. em três granjas avícolas localizadas na mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.	55
Tabela 8	Freqüência de isolamento de <i>Campylobacter</i> spp. nas granjas 1,2 e 3 localizadas na mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.	56
Tabela 9	Freqüência de isolamentos de <i>Campylobacter</i> spp., segundo os tipos de amostras coletadas em três granjas da mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.	57
Tabela 10	Freqüência de isolamento de <i>Campylobacter</i> spp. em amostras procedentes de três granjas avícolas da mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará, segundo a espécie identificada.	59
Tabela 11	Freqüência de isolamentos de <i>Campylobacter jejuni.</i> , segundo os tipos de amostras coletadas em um abatedouro avícola da mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.	60

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS e SÍMBOLOS

ABEF – Associação Brasileira dos Exportadores de Frango.

AMPc – Adenosina Monofosfato Cíclico.

°C – Grau Celcius.

*C. coli* – *Campylobacter coli*.

CEPAN - Comitê de Ética em Pesquisa com Animais.

*C. fetus* - *Campylobacter fetus*.

*C. hyoilei* - *Campylobacter hyoilei*.

*C. hyointestinalis* – *Campylobacter hyointestinalis*.

*C. jejuni* – *Campylobacter jejuni*.

*C. lari* – *Campylobacter lari*.

*C. showae* – *Campylobacter showae*.

CT – Toxina da cólera.

*C. upsaliensis* – *Campylobacter upsaliensis*.

H<sub>2</sub>S – Ácido sulfídrico.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

IEC – Instituto Evandro Chagas.

LT - Toxina termolábil de *Escherichia coli*.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

mL – Mililitros.

MS - Ministério da Saúde.

n – Número de amostras.

*p* - Probabilidade.

PA – Pará.

PCR – Reação em cadeia mediada pela polimerase.

PFGE - Eletroforese em gel com campo pulsátil.

pH – Potencial de hidrogênio.

ppm – partes por milhão

rRNA – Ácido ribonucleico ribossômico.

SGB - Síndrome de Guillain-Barré.

SP – São Paulo.

Suplemento FBP – Suplemento com 0,025% de sulfato ferroso, 0,025% de piruvato de sódio e 0,025% de metabissulfito de sódio.

SVS - Secretaria de Vigilância em Saúde.

TSI – Meio com três açúcares e ferro (triplise sugar iron).

UFC/g – Unidade formadora de colônia por grama.

µm – micrômetro.

χ<sup>2</sup> - Teste do qui-quadrado.

% - Percentual.

## SUMÁRIO

	Página
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2 OBJETIVOS</b>	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b>	17
3.1 DADOS DA PRODUÇÃO AVÍCOLA	17
3.2 CAMPYLOBACTERIOSE	19
<b>3.2.1 Histórico</b>	19
<b>3.2.2 Etiologia</b>	20
<b>3.2.3 Patogênese</b>	21
<b>3.2.4 Epidemiologia</b>	22
3.2.4.1 Fontes de Contaminação na Granja	25
3.2.4.2 Pontos Críticos no Abate	26
3.2.4.3 Reservatórios e Campilobacteriose em Outras Espécies	27
<b>3.2.5 Ocorrência de Campilobacteriose em Aves</b>	28
<b>3.2.6 Campilobacteriose Humana</b>	29
<b>3.2.7 Diagnóstico Laboratorial</b>	30
3.2.7.1 Isolamento Bacteriano	30
<b>3.2.8 Prevenção e Controle</b>	32
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	34
4.1 MATERIAL	34
<b>4.1.1 Amostras</b>	34
4.1.1.1 Fontes de Contaminação no Criatório	34
4.1.1.2 Pontos Críticos no Abate	35
4.2 MÉTODOS	36
<b>4.2.1 Obtenção e Processamento das Amostras</b>	36
4.2.1.1 Swab Cloacal	36
4.2.1.2 Cama e Ração	36
4.2.1.3 Água	38
4.2.1.4 Pele do Conjunto Peito/Pescoço, Fígado e Moela	41
<b>4.2.2 – Isolamento de <i>Campylobacter</i> spp.</b>	42
4.2.2.1 Amostras Cloacais, de Cama, Ração, Pele de Pescoço, Fígado e Moela	43
4.2.2.2 Água	44
<b>4.2.3 – Identificação de <i>Campylobacter</i> spp.</b>	44
<b>4.2.4 – Estudo Estatístico</b>	46
<b>4.2.5 – Aspectos Éticos</b>	46
<b>4.2.6 – Armazenamento e Estocagem das Cepas</b>	47
<b>5. RESULTADOS</b>	48
5.1 FONTES DE CONTAMINAÇÃO NA GRANJA	48
5.2 PONTOS CRÍTICOS NO ABATE	51
<b>6. DISCUSSÃO</b>	53
<b>7. RECOMENDAÇÕES</b>	58
<b>8. CONCLUSÃO</b>	59

<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	60
APÊNDICE A - Termo de anuência – granja	69
APÊNDICE B - Termo de anuência - abatedouro	70
APÊNDICE C - Ficha epidemiológica - granjas	71
ANEXO A - Protocolo de preparo de meio	73
ANEXO B - Processamento da amostra cloacal	77
ANEXO C - Processamento da pele de pescoço, fígado, moela, cama e ração	78
ANEXO D - Processamento da água	79

## 1. INTRODUÇÃO

As zoonoses que ocorrem com maior frequência nos países industrializados são as infecções de origem alimentar causadas por espécies dos gêneros *Salmonella* e *Campylobacter*, sendo os principais patógenos associados aos produtos de origem avícola (BRYAN & DOYLE, 1995).

Vários fatores contribuem para o aumento da contaminação da carne de frango: a alta densidade populacional no criatório e as elevadas taxas de abate no abatedouro, onde as carcaças permanecem muito próximas umas das outras. Tais condições favorecem uma rápida disseminação de qualquer patógeno que possa ter acesso ao criatório (MEAD, 2004).

*Campylobacter jejuni* está amplamente distribuído no trato intestinal de aves domésticas e selvagens. Entretanto, de acordo com Butzler (1984), nem todas as aves apresentam *Campylobacter jejuni* na microbiota saprófita do intestino e algumas cepas podem ser patogênicas e causar hepatite e enterite nas aves.

A contaminação da carne de frango por patógenos configura-se como um sério problema para saúde pública, pois causa redução de produtividade e aumenta os custos com a rede de saúde coletiva. Nos países em desenvolvimento, o problema torna-se mais grave devido ao baixo padrão sanitário da população (MEAD, 2004).

O primeiro isolamento de *Campylobacter* spp. em fezes de pacientes com diarreia foi realizado por microbiologistas belgas em 1972. O desenvolvimento de meios seletivos de crescimento na década dos anos de 1970 permitiu que mais laboratórios isolassem *Campylobacter* spp (ALTEKRUSE *et al*, 1994). A partir desta década, vem aumentando o isolamento de *Campylobacter* spp. em amostras humanas, de animais, água e alimentos (BUTZLER, 2004).

As infecções de origem alimentar, causadas por *Campylobacter* spp., resultam em grandes perdas econômicas e estão relacionadas à produção e abate de frangos, etapas importantes na disseminação dessas bactérias para o homem. Portanto, linhas de pesquisas envolvendo a cadeia de produção avícola são

fundamentais para que medidas de profilaxia e de controle possam ser adotadas (HARTNETT *et al.*, 2002).

Baseando-se na importância do *Campylobacter* spp. na saúde animal e coletiva e tendo em vista os dados da literatura que apontam as aves comercializadas prontas para o consumo como contaminadas com esse agente, sentiu-se a necessidade de realizar um estudo envolvendo a cadeia de produção do frango de corte, para que medidas profiláticas e de controle possam ser adotadas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Estudar a ocorrência de *Campylobacter* spp. em granjas e abatedouro avícolas na mesorregião metropolitana de Belém - PA.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar e identificar as espécies de *Campylobacter* spp;
- Identificar as fontes de contaminação no criatório;
- Identificar os pontos críticos no abate.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 DADOS DA PRODUÇÃO AVÍCOLA

O Brasil é o terceiro maior produtor de carne de frango no mundo, porém se encontra como o maior exportador mundial, superando as exportações dos Estados Unidos da América a partir de 2004. Prevê-se que o Brasil seja, em 2007, responsável por quase 50% das exportações mundiais de carne de frango (Tabelas 1 e 2) (ABEF, 2007). Em 2005, o estado do Pará foi responsável por mais de 50% da produção avícola da Região Norte e, no mesmo ano, a região metropolitana de Belém englobou 42,63% da produção estadual (Tabela 3) (IBGE, 2007).

Tabela 1 - Produção mundial de carne de frango no período de 1999 a 2007, segundo os principais países produtores.

ANO	Mil toneladas					
	EUA	CHINA	BRASIL	UE	MÉXICO	MUNDO
1999	13.367	8.550	5.526	6.614	1.784	47.554
2000	13.703	9.269	5.977	7.606	1.936	50.097
2001	14.033	9.278	6.736	7.883	2.067	52.159
2002	14.467	9.558	7.517	7.788	2.157	54.000
2003	14.696	9.898	7.843	7.439	2.290	54.067
2004	15.286	9.998	8.494	7.656	2.389	55.846
2005	15.869	10.200	9.200	7.736	2.498	59.092
2006*	16.162	10.350	9.336	7.425	2.610	60.090
2007**	16.413	10.520	9.700	7.530	2.724	61.162

Nota:\* Preliminar \*\* Previsão.

Fonte: [www.abef.com.br](http://www.abef.com.br)

Tabela 2 – Exportação mundial de carne de frango no período de 2000 a 2007, segundo os principais países exportadores.

<b>Mil toneladas</b>						
<b>ANO</b>	<b>BRASIL</b>	<b>EUA</b>	<b>UNIÃO EUROPÉIA</b>	<b>TAILÂNDIA</b>	<b>CHINA</b>	<b>MUNDO</b>
<b>2000</b>	907	2.231	774	333	464	4.856
<b>2001</b>	1.265	2.520	726	392	489	5.527
<b>2002</b>	1.625	2.180	871	427	438	5.702
<b>2003</b>	1.960	2.232	788	485	388	6.023
<b>2004</b>	2.470	2.170	813	200	241	6.055
<b>2005</b>	2.846	2.360	755	240	331	6.791
<b>2006*</b>	2.713	2.454	620	280	350	6.470
<b>2007**</b>	3.203	2.508	685	280	365	6.737

Nota: \* Preliminar \*\* Previsão.

Fonte: [www.abef.com.br](http://www.abef.com.br)

Tabela 3 – Efetivo de aves (galos, frangas, frangos e pintos) do Brasil, Região Norte, estado do Pará e mesoregiões.

<b>País, Estado, Mesoregião</b>	<b>Ano</b>			
	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>	<b>2005</b>
<b>Brasil</b>	703.718.166	737.523.096	759.512.029	812.467.900
<b>Norte</b>	17.529.974	22.721.489	18.648.006	18.219.721
<b>Pará</b>	10.767.321	13.981.176	9.801.586	9.918.115
<b>Baixo Amazonas</b>	879.384	867.980	897.177	903.225
<b>Marajó</b>	132.858	162.088	149.440	139.370
<b>Metropolitana de Belém</b>	3.832.712	4.604.010	3.966.029	4.228.900
<b>Nordeste Paraense</b>	3.489.911	6.245.706	2.872.082	2.795.151
<b>Sudoeste Paraense</b>	794.962	737.953	695.423	605.782
<b>Sudeste Paraense</b>	1.637.494	1.363.439	1.221.435	1.245.687

Fonte: [www.ibge.com.br](http://www.ibge.com.br)

## 3.2 CAMPYLOBACTERIOSE

### 3.2.1 Histórico

Os relatos das implicações da campilobacteriose em saúde pública remontam ao final do século XIX. Em 1886, Escherich observou organismos semelhantes ao *Campylobacter* spp em fezes de crianças e gatos com diarreia. Escherich denominou as bactérias observadas bacterioscopicamente de *Vibrio felinus* (FERNANDEZ & FARACE, 2003).

Em 1913, McFaydean e Stockman identificaram espécies microaerófilas semelhantes morfológicamente às espécies do gênero *Vibrio* em tecidos fetais de ovelhas e vacas que haviam abortado, denominando-as de *Vibrio fetus*. Em 1931, Jones e Little isolaram a partir de bovinos com distúrbios intestinais, um microorganismo microaerófilo que denominaram de *Vibrio jejuni*. Em 1944, Doyle descreveu um microorganismo isolado no intestino de cervídeos com diarreia, denominando-os de *Vibrio coli* (FERNANDEZ & FARACE, 2003).

Em 1957, King descreveu o isolamento de *Vibrio* em amostras de sangue de crianças com diarreia. Sébald e Veron sugeriram em 1963 a criação do gênero *Campylobacter*. Em 1972, microbiologistas clínicos na Bélgica isolaram *Campylobacter* spp. em amostras de fezes de pacientes com diarreia (FERNANDEZ & FARACE, 2003). Skirrow (1977), confirmou os achados dos microbiologistas belgas, descrevendo uma técnica simples para cultivo de *C. jejuni* e *C. coli* de amostras de fezes, o que permitiu uma difusão ainda maior do isolamento de *Campylobacter*.

Na Inglaterra e nos Estados Unidos, o número de casos de gastroenterite causado por *Campylobacter* spp. supera os casos de salmonelose (LACEY, 1993; ALTEKRUSE *et al.*, 1999).

### 3.2.2 Etiologia

O gênero *Campylobacter* agrupa bactérias em forma de bastonetes delgados, Gram-negativos, curvos ou em espiral (Figura 1), microaerófilas e com movimento de “saca-rolha”. Todas as espécies denominadas *Campylobacter* e os grupos taxonômicos relacionados pertencem ao mesmo grupo filogenético, nomeado superfamília VI de rRNA. Na atualidade, essa superfamília contém cinco gêneros: *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, *Wolinella* e *Flexispira*. A presença ou ausência de uma catalase permite uma primeira distinção entre as diferentes espécies de *Campylobacter*. As espécies catalase-positivas se distinguem em dois grupos quanto às temperaturas ótimas de crescimento:

- As espécies que se desenvolvem a 25°C, como é o caso do *C. fetus*, responsável por abortos em bovinos;
- As espécies que se desenvolvem a 42°C, chamadas de *Campylobacter* termotolerantes, responsáveis por gastroenterites em humanos. São representadas, em sua maioria, pelas seguintes espécies: *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, *C. hyoilei*, *C. hyointestinalis* e *C. showae*. Em alimentos, duas espécies predominam: *C. jejuni*, responsável por 80-90% dos isolados e *C. coli* (SKIRROW, 1990; PILET et al, 1997; KONEMAN et al., 2001).

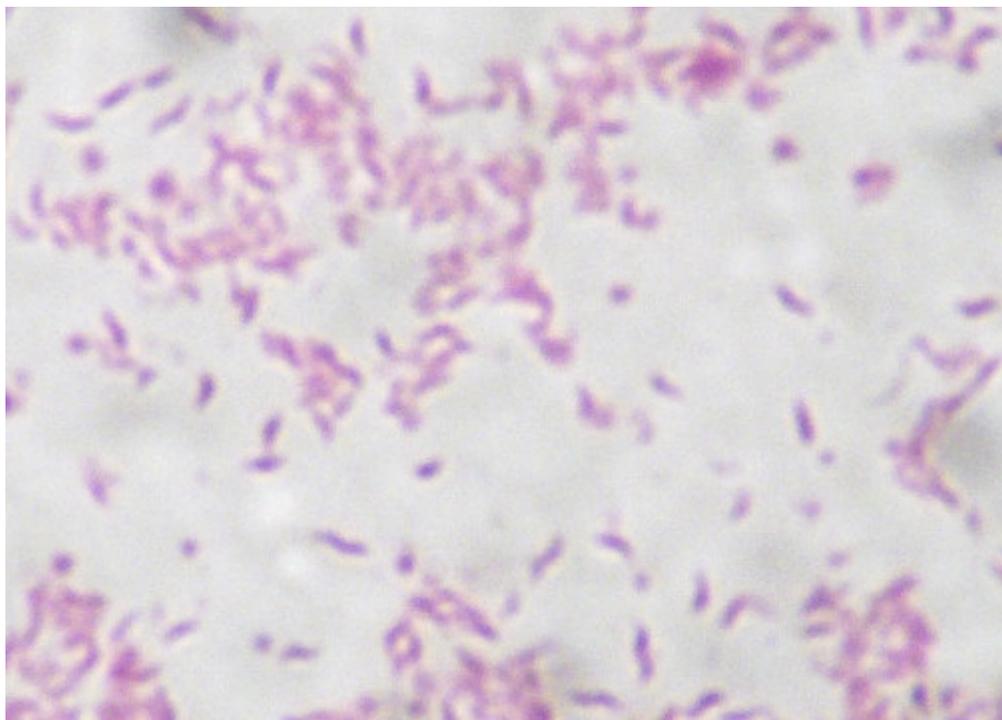


Figura 1 – Bastonetes delgados Gram-negativos com formas típicas de *Campylobacter* spp. Aumento: 1000X.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.

### 3.2.3 Patogênese

A patogênese da campilobacteriose envolve fatores relacionados ao hospedeiro e ao patógeno. O estado sanitário do hospedeiro, a idade e a imunidade humoral específica para *Campylobacter* spp. devido à prévia infecção, influenciam no surgimento ou não dos sinais clínicos (ALTEKRUSE, 1999). Em um estudo voluntário com pacientes, *C. jejuni* causou infecção após ingestão de 800 células. As taxas de infecção aumentaram com a elevação da quantidade de células ingeridas e quando as células foram fornecidas em uma suspensão tampão que reduzia a acidez gástrica (BLACK *et al.*, 1988). Isto significa que um número muito pequeno de células que esteja presente na água ou no alimento pode representar um risco em potencial para a saúde pública (YANG, *et al.*, 2003).

Muitos determinantes de virulência podem contribuir para a patogênese da infecção por *Campylobacter* spp. Suspeita-se que os mecanismos de patogenicidade incluem: quimiotaxia, motilidade e o flagelo que é utilizado para aderência e colonização no epitélio intestinal. Uma vez ocorrida a colonização, outros possíveis determinantes de virulência são: aquisição de ferro, invasão de células do hospedeiro, produção de toxina, inflamação, atividade secretora e ruptura epitelial com extravasamento de fluido seroso (KETLEY, 1997).

A diarreia aquosa profusa observada em algumas infecções por *Campylobacter* pode indicar que as cepas sejam enterotoxigênicas. Algumas cepas de *C. jejuni* produzem uma toxina imunologicamente semelhante à toxina da cólera (CT) e à toxina termolábil de *Escherichia coli* (LT). A toxina produzida por *Campylobacter* induz mudanças em culturas de células via estimulação da produção da adenosina monofosfato cíclico (AMPc). O papel da citotoxina na campilobacteriose ainda não está definido, mas animais desafiados com cepas que produzem citotoxinas têm uma diarreia mais severa do que aqueles inoculados com cepas que não produzem citotoxinas. A presença de citotoxinas também está relacionada com pacientes que apresentam diarreia sanguinolenta (DOWNES & ITO, 2001).

### 3.2.4 Epidemiologia

As espécies de *Campylobacter* spp. vêm se tornando uma causa comum de gastroenterite e enterocolite em humanos, principalmente nos países em desenvolvimento. As principais espécies que acometem o homem, demais mamíferos e os pássaros são *C. jejuni* e *C. coli*, sendo que as aves, geralmente, são assintomáticas. Evidências epidemiológicas têm sugerido os produtos de origem animal, especialmente os produtos avícolas, como principal veículo para infecção humana. (HARRIS *et al.*, 1986; RAMPLING *et al.*, 1989; ALTERKRUSE *et al.*, 1994; MACHADO, *et al.*, 1994; TRESIERRA-AYLA *et al.*, 1995; SALEHA *et al.*, 1998).

O trato intestinal das aves domésticas tem sido demonstrado como o principal reservatório de *C. jejuni* e de 30 a 100% das aves transportam este agente no intestino.

Durante as etapas de abate, as carcaças e vísceras comestíveis podem ser contaminadas com o material fecal e o agente pode ser detectado no produto acabado e pronto para o consumo (ALMEIDA & SERRANO, 1987; DOYLE, 1988; SAKUMA *et al.*, 1992; CARVALHO & COSTA, 1996; CARVALHO, 1998).

De acordo com Bailey (1993), as principais fontes de contaminação das aves são a ração contaminada, a transmissão horizontal e o ambiente de criação contaminado, envolvendo vetores como roedores, insetos, pássaros silvestres, animais domésticos e o homem.

Fatores responsáveis pela introdução e disseminação de *C. jejuni* em aves de produção comercial foram determinados, sugerindo a cama, pés dos tratadores e a água como os principais veiculadores do agente (BERNDTSON *et al.* 1996).

Jacob-Reitsma *et al.* (1995) lembram que as aves contaminadas podem eliminar de  $10^6$  a  $10^9$  UFC/g de fezes, indicando o material fecal como potencial fonte de introdução e disseminação do agente dentro do lote. Aliado a estes fatores, o hábito coprofágico das aves auxilia na rápida disseminação do *Campylobacter* no lote (STERNE, *et al.*, 1988) e, uma vez isolado no bando, a propagação é rápida e elevada proporção de aves excretará *Campylobacter* até o abate (DOYLE, 1988).

Carvalho *et al.* (2002) investigaram a presença de *C. jejuni* nas diferentes etapas da linha de abate durante o processamento industrial de um abatedouro avícola de pequeno porte, localizado na região Nordeste do estado de São Paulo e isolaram o agente em amostras de água do tanque de esaldamento, água de lavagem das carcaças após evisceração, carcaças pós-evisceração, fezes frescas obtidas na plataforma de recebimento dos frangos, fígado e penas colhidas após a depenação.

Na Europa, a infecção humana de origem alimentar mostra-se geralmente como uma enfermidade sazonal com picos nos meses do verão (NYLEN *et al.*, 1998; ALTEKRUSE *et al.*, 1999). As espécies de *Campylobacter* spp. têm sido reconhecidas como as principais fontes de infecção gastrointestinal em humanos nos Estados Unidos da América, Inglaterra, Suíça e provavelmente em todo o mundo (ALTEKRUSE *et al.*, 1999; ANONYMUS, 2001; FREDIANI-WOLF & STEPHAN, 2002).

A campilobacteriose é a causa mais comum de gastroenterite bacteriana nos Estados Unidos da América com aproximadamente 2,5 milhões de casos anualmente. A taxa de isolamento de *C. jejuni* em estudantes dos “campi” de universidades dos Estados Unidos é de 10 e 46 vezes superior às taxas de isolamento de *Salmonella* e *Shigella*, respectivamente (TAUXE *et al.*, 1985).

A maioria dos casos de campilobacteriose ocorre de forma isolada, sendo incomum a ocorrência de surtos por *Campylobacter* spp (SKIRROW *et al.*, 1992). Na Grã-Bretanha, a maioria dos surtos notificados, ocorre pela manipulação deficiente de alimentos em estabelecimentos comerciais (FROST, *et al.*, 2002).

A contaminação cruzada de outros alimentos causada pela carne crua de frango durante a preparação de refeições tem se tornado importante em locais com grande produção de alimentos. Vários estudos conduzidos em países desenvolvidos vêm demonstrando que os principais fatores de risco para infecção no homem são a manipulação e o consumo da carne e vísceras de frango. A infecção por *Campylobacter* spp. resulta em grandes perdas econômicas, exigindo o surgimento de pesquisas que investiguem toda a cadeia de produção avícola (HARRIS, 1986; FRIEDMAN *et al.*, 2000).

Os principais grupos de risco em adquirir campilobacteriose através do contato direto com animais são os fazendeiros, veterinários, trabalhadores de abatedouros e açougueiros. Estes profissionais geralmente adquirem imunidade ao *Campylobacter* spp. após repetidas exposições (BLASER *et al.*, 1983). Outra importante forma de contágio por contato direto com animais, ocorre através da manipulação de filhotes de cães e gatos com diarreia causada por *Campylobacter* spp. Apesar destas formas de contágio serem relevantes em estudos de casos de campilobacteriose, apenas uma minoria dos casos de infecções por *Campylobacter* spp. ocorre por essa via. A principal forma de contágio ocorre através da ingestão de alimentos contaminados (SKIRROW, 1991).

Um estudo de caso controle nos Estados Unidos da América demonstrou que cerca de 50% dos casos de campilobacteriose humana é veiculada pelo consumo de carne de frango. A produção de frangos livres de *Campylobacter* spp. ainda é impraticável, mas com incentivos governamentais e da própria indústria avícola é

possível reduzir significativamente os riscos da campilobacteriose humana (SKIRROW, 1991).

Outros alimentos podem veicular *Campylobacter* em menor escala, como, leite cru, peixe, carne vermelha, mariscos e cogumelos, além daqueles que podem sofrer contaminação cruzada durante o preparo de refeições (SKIRROW, 1991).

#### 3.2.4.1 Fontes de Contaminação na Granja.

Levi e Ricciardi (1982) isolaram *C. jejuni* de 108 (64,2%) amostras fecais de galinhas comercializadas na cidade do Rio de Janeiro, sugerindo que as aves possam ser reservatórios potenciais para o homem.

Tressierra-Ayla *et al.* (1995) isolaram espécies termotolerantes clássicas de *Campylobacter* em 44,5% das amostras de “swab” cloacal de frangos confinados e não confinados em Iquitos - Peru. Na população de frangos não confinados a taxa de isolamento foi de 54%, sendo *C. jejuni* (21%), a espécie mais freqüente. Na população de frangos confinados, a taxa de isolamento foi menor (35%), sendo também *C. jejuni* a espécie mais isolada (16%), havendo uma diferença significativa entre as duas populações estudadas ( $p < 0,05$ ).

Carvalho *et al.* (2001) isolaram *Campylobacter* spp. em amostras de “swab” cloacal (16,7%), cama (1,8%), ração (0,6%) e fezes (17,7%). *Campylobacter* spp. foi isolado a partir do 28° dia de alojamento das aves; as amostras de fezes foram positivas para *Campylobacter* spp. a partir do 35° dia de vida das aves e a partir do 42° dia foi isolado *Campylobacter* spp. em amostras de cama, fezes e “swab” cloacal. A bactéria não foi isolada nas amostras de água, demonstrando que o mecanismo de cloração da água é eficaz na inativação do microorganismo.

Gomes *et al.* (2006) isolaram *C. jejuni* em 21 (5,2%) amostras de “swab” cloacal de frangos criados em 26 propriedades localizadas em pelotas-RS, observando que frangos criados em estabelecimentos não industriais e sem condições sanitárias podem albergar *C. jejuni* no trato intestinal, colaborando com a cadeia de transmissão.

O papel da cama na transmissão e no estabelecimento perpétuo da infecção por *C. jejuni* foi demonstrado por Montrose *et al.* (1985) em aves de capoeira, através da infecção artificial das aves e o agente foi detectado na cama pelo menos 63 dias após a infecção. Doyle e Roman (1982) justificaram a baixa taxa de isolamento de *Campylobacter* spp. na cama, devido a elevada sensibilidade da bactéria às condições adversas deste tipo de amostra.

#### 3.2.4.2 Pontos Críticos no Abate

Em pesquisa realizada na Califórnia, Wempe *et al.* (1983) isolaram *C. jejuni* em 18,3% das amostras de penas, 27,8% da amostra de água de escaldamento, 100% das amostras de água da evisceração, 100% da água de resfriamento e 80,6% da água final de lavagem das carcaças.

Dias *et al.* (1990), isolaram *C. jejuni* em 19 (38%) amostras de carcaças de frango de abatedouros não industriais em Belo Horizonte-MG. Em abatedouros industriais da mesma cidade, isolaram *C. jejuni* em uma (2%) amostra de carcaça de frango. Houve uma diferença significativa ( $p=0,000002$ ) entre os isolamentos de *C. jejuni* em abatedouros industriais e não industriais, provavelmente devido às baixas condições sanitárias presentes nos abatedouros não industriais.

Carvalho e Costa (1996) isolaram *Campylobacter jejuni* em cinco (8,3%) amostras de carcaça de frango colhidas em abatedouros com instalações adequadas e com controle higiênico sanitário permanente. No mesmo trabalho, foi isolado *C. Jejuni* em quatro (6,6%) amostras de peito de frango, duas (3,3%) amostras de coxa e uma (1,6%) amostra de asa, colhidas ao nível comercial, indicando que o frango pode sair da indústria já contaminado e no comércio pode ocorrer uma potencialização da contaminação, pondo em risco a saúde da população.

Zanetti *et al.* (1996) isolaram *Campylobacter* em 12 (37,5%) amostras de peito de frango sem pele, vendidas em estabelecimentos italianos, confirmando a hipótese de que as carcaças podem se contaminar facilmente com o conteúdo intestinal durante o processo de abate.

Ao investigar a presença de *C. jejuni* em linha de abate industrial, Carvalho *et al.* (2002) detectaram a presença da bactéria em amostras do tanque de escaldamento (26,6%), água de lavagem das carcaças após a evisceração (61,29%), carcaças após a evisceração (36%), fezes frescas obtidas na plataforma de recebimento dos frangos (42%), fígado (38%) e penas colhidas após a depenação (38%) e sugeriram as etapas de evisceração e depenação como pontos importantes de contaminação.

A depenação e a evisceração têm sido mencionadas como pontos críticos na contaminação cruzada das carcaças durante o abate e, eventualmente, a contaminação pode ser disseminada através do equipamento, mãos dos manipuladores, pelo ar, luvas e utensílios (MACHADO *et al.*, 1994).

### 3.2.4.3 Reservatórios e Campilobacteriose em Outras Espécies

A ecologia de *C. jejuni* envolve reservatórios silvestres, particularmente aves silvestres, e animais domésticos. Espécies silvestres que carregam *C. jejuni* incluem, principalmente, aves migratórias. Na maioria das vezes, o hospedeiro é um carreador que não exhibe sintomas, que pode ter adquirido imunidade através de uma infecção anterior por *Campylobacter* spp. O microorganismo é encontrado em roedores e insetos, que também podem carrear a bactéria no exoesqueleto (NACKAMKIN *et al.*, 1992; ALTEKRUSE *et al.*, 1999).

Rodrigues *et al.* (1998) pesquisaram *Campylobacter* nas fezes de ratos pretos com taxas de isolamento de 57,45% e demonstraram a importância destes como reservatórios do agente.

O habitat primário das espécies de *Campylobacter* spp. é o trato intestinal de animais de sangue quente. Colite causada por *Campylobacter* spp. já foi diagnosticada em cães, gatos, “ferrets” e “hamsters”, causando uma diarreia suave e colite branda (ALTEKRUSE *et al.*, 1994).

*C. jejuni* é um organismo comensal do trato intestinal de bovinos. Animais jovens são mais comumente colonizados em relação a animais adultos e bovinos confinados apresentam uma maior taxa de isolamento de *Campylobacter* spp. em

relação aos bovinos criados em sistemas extensivos. As vacas também podem apresentar mastite causada por *C. jejuni* (LANDER & GILL, 1980; GIACOBONI *et al.*, 1993).

Sala *et al.* (1986) observaram diarreia em suínos quando inoculados experimentalmente com *C. coli* por via oral, ocorrendo disseminação bacteriana nos pulmões, rins e fígado.

### 3.2.5 Ocorrência de Campilobacteriose em Aves

De acordo com Butzler (1984), muitos casos de infecção por *C. jejuni* em aves não são acompanhados por sinais óbvios da doença. Entretanto, vários estudos conduzidos nas décadas de 50 e 60 do século XX relatam hepatite aviária em matrizes adultas e galinhas poedeiras causadas por *C. jejuni* (GENIGEORGIS, 1987). Nos galpões, a taxa de mortalidade pode variar entre poucas mortes a até 100% de mortalidade do lote. A principal lesão ocorre no fígado, que pode se encontrar pálido e amarelado. Pode ocorrer petéquias e inflamação difusa no intestino. De acordo com Peckman (1975), a bile é a amostra mais apropriada para o isolamento de *Campylobacter*.

Bertchinger (1965) reportou o isolamento de *Campylobacter* spp. em 21% das amostras de bile em aves com hepatite necrótica, entretanto Acevedo (1987) isolou a bactéria em somente duas (1,24%) amostras de 161 amostras de bile estudadas.

Carvalho *et al.* (1997) pesquisaram *C. jejuni* em fígado, baço e bile de aves com diarreia e perda ponderal em fazendas da região de Ribeirão Preto – SP. Foi isolado *C. jejuni* em duas (6,89%) amostras de bile, em 12 (35,29%) amostras de baço e em 40 (54,79%) amostras de fígado. Foi observado também, no mesmo trabalho, amostras de fígado com coloração pálida e zonas amareladas. Todas as aves estudadas apresentavam petéquias hemorrágicas em pelo menos uma das três porções intestinais pesquisadas. Na maioria dos casos, as petéquias se encontravam na primeira porção do intestino.

### 3.2.6 Campilobacteriose Humana

A apresentação clínica mais comum é a enterocolite que pode afetar pessoas de todas as idades. A gastroenterite aguda causada por *Campylobacter* se caracteriza por uma rápida elevação da temperatura, acompanhada de mal-estar geral, cefaléia, dores musculares e abdominais, que precedem à diarreia. A enfermidade é acompanhada também de náuseas, vômitos, ruídos hidroáereos, anorexia e tenesmo. A diarreia, aquosa ou mucosangüinolenta tem início 24 horas após ter iniciado os sintomas. A enfermidade é auto-limitante, alcançando maior expressão entre o segundo e quarto dia, com cura após o sétimo dia. Porém, as manifestações clínicas variam, desde uma forma leve de curta duração, a um quadro mais severo e prolongado (FERNANDEZ & FARACE, 2003).

*C. jejuni* e *C. coli* têm sido associados com doenças extra-intestinais, que incluem meningites, endocardites, artrite séptica, osteomielite, pneumonia, abortos e septicemia neonatal. A mais importante seqüela da infecção por *C. jejuni* é a síndrome de Guillain-Barré (SGB), uma enfermidade caracterizada por uma desmielinização, que resulta em uma paralisia neuromuscular aguda. É estimado que ocorra um caso de SGB para cada 1.000 casos de campilobacteriose. Acima de 40% dos pacientes com SGB apresentaram infecção recente por *Campylobacter* spp. Cerca de 20% dos pacientes com SGB permanecem com seqüelas por toda a vida e cerca de 5% morrem devido a complicações respiratórias (ALLOS, 1997; ALLOS *et al.*, 1998; NACHAMKIM, *et al.*, 1998; ALTEKRUSE *et al.*, 1999; McCARTHY *et al.*, 1999).

A campilobacteriose também está associada com a síndrome de Reiter, caracterizada por uma artropatia reativa. Múltiplas articulações podem estar afetadas, particularmente a articulação fêmur-tibial. O paciente pode sentir dores e ficar incapacitado por meses ou, ainda, tornar-se crônica (ALTEKRUSE *et al.*, 1999).

### 3.2.7 Diagnóstico Laboratorial

Várias técnicas podem ser utilizadas para melhor caracterização das cepas de *Campylobacter* spp., como: identificação bioquímica (HUNT *et al.*, 2001), sorotipagem (FROST, *et al.*, 1998), fagotipagem (FROST *et al.*, 1999), eletroforese em gel com campo pulsátil (PFGE) (GILPING, *et al.*, 2006), genotipagem (WASSENAAR, 2000) e reação em cadeia mediada pela polimerase (PCR) (YANG *et al.*, 2003).

Entre as técnicas de sorotipagem incluem-se: hemaglutinação passiva (70 sorotipos) e aglutinação em lâmina (100 sorotipos). A técnica de fagotipagem apresenta 76 fagotipos. Emprega-se, também, a técnica de ribotipagem com a aplicação de eletroforese e PCR (FILGUEIRAS, 2003)

#### 3.2.7.1 Isolamento Bacteriano

Se as amostras forem imediatamente processadas, elas devem ser encaminhadas ao laboratório em recipientes estéreis. Caso ocorra uma demora no processamento das amostras, pode-se colocá-las sob refrigeração em meio de transporte, como: Cary-Blair e caldo tioglicolato (CARVALHO, 2001; BUTZLER, 2004).

A enterite por *Campylobacter* spp. pode ser diagnosticada através do exame direto das fezes frescas em microscópio de contraste de fase e com o auxílio da coloração de Gram. A bactéria pode ser distinguida de outros microorganismos através da motilidade em forma de saca-rolha e da morfologia em espiral ou curva (BUTZLER, 2004).

*C. jejuni* e *C. coli* podem ser isolados facilmente das fezes através de um plaqueamento direto em meio seletivo com ágar sangue por 48-72 horas à 42°C em atmosfera de microaerofilia (SKIRROW, 1977).

Tem-se utilizado com freqüência a técnica da membrana filtrante que aproveita duas propriedades do gênero *Campylobacter*, que o diferencia dos contaminantes: o tamanho pequeno e a grande mobilidade do *Campylobacter* spp. As bactérias deste gênero passam através dos poros de 0,45µm de diâmetro. Esta técnica

é utilizada há muito tempo para amostras de origem fecal e está recebendo inúmeras aplicações em amostras de origem alimentar. A membrana é colocada sobre a placa com ágar e algumas gotas da amostra (fezes líquidas ou amostras pré-incubadas em caldo) são depositadas sobre a membrana, que é retirada após um tempo variável e, posteriormente, a placa é incubada (SCOTTER *et al.*, 1993; PILET *et al.*, 1997).

Os padrões mínimos para identificação do gênero *Campylobacter* depois do isolamento primário, baseia-se na morfologia colonial, coloração de gram, motilidade e no teste de oxidase. O teste de hidrólise do hipurato diferencia as cepas de *C. jejuni* das outras bactérias do gênero (BOLTON, 2001). Para outras espécies, exceto *C. jejuni* e cepas atípicas de *C. jejuni*, são necessários testes bioquímicos adicionais (Tabela 4) (BUTZLER, 2004). Segundo Wallace (1997), cerca de 10% das cepas de *C. jejuni* não hidrolisa o hipurato.

O gênero *Campylobacter* é geralmente inativo em muitos testes bioquímicos convencionais e a identificação baseia-se em poucos fatores morfológicos e bioquímicos. Em algumas cepas, a identificação da espécie é baseada no resultado de apenas um teste bioquímico e, em alguns casos, a identificação definitiva não é possível com os testes laboratoriais utilizados pela metodologia convencional (DOWNES & ITO, 2001).

Tabela 4 – Características bioquímicas de *Campylobacter* spp. termotolerante.

Testes	<i>C. jejuni</i> subsp. <i>Jejuni</i>	<i>C. jejuni</i> subsp. <i>Doylei</i>	<i>C. coli.</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
H <sub>2</sub> S (TSI)	-	-	D	-	-
Oxidase	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	- ou fraca reação
Motilidade	+(81%)	+	+	+	+
Hidrólise do hipurato	+	+	-	-	-
Redução do nitrato	+	-	+	+	+
Ácido nalidíxico	S <sup>d</sup>	S	S	R	S
Cefalotina	R	R	R	R	S

+: reação positiva em 90% ou mais das cepas; -: reação negativa em 90% ou mais das cepas; D: 11-89% das cepas são positivas; R: resistente; S: sensível; <sup>d</sup> foram reportadas cepas de *C. jejuni* resistentes ao ácido nalidíxico.

Fonte: Hunt *et al.* (2001).

### 3.2.8 Prevenção e Controle

Após ter relacionado as diferentes fontes de infecção por *Campylobacter*, é necessário citar as medidas apropriadas de prevenção e controle. O tratamento da água é, obviamente, a medida mais eficaz e corriqueiramente utilizada. Apesar da importância em educar a população em boas práticas higiênicas e na manipulação da carne crua, a medida mais efetiva de controle seria a eliminação ou redução da contaminação da carne de frango por *Campylobacter* spp. nos estabelecimentos comerciais (SKIRROW, 1991).

Como não há evidências da transmissão vertical (FONSECA *et al.*, 2006), presume-se que a bactéria seja introduzida nas aves através de uma fonte externa em algum momento durante o curto período de 6-7 semanas de vida das aves. A introdução de *Campylobacter* na granja através das botas dos trabalhadores, pequenos pássaros, roedores e suprimentos de água têm sido descritos por Humphrey (1989). As

boas práticas agropecuárias reduziram significativamente a colonização das aves (SKIRROW, 1991)

A introdução de “sprays” de resfriamento no lugar de tanques de resfriamento e a introdução de maquinários de fácil higienização no abatedouro podem reduzir significativamente a contaminação cruzada (HUMPHREY, 1989). Porém, se aves abatidas apresentarem uma grande quantidade de bactérias, a contaminação cruzada é praticamente inevitável (SKIRROW, 1991).

A irradiação em baixas doses da carne de frango é efetiva na destruição de *Campylobacter* spp. e outros patógenos, porém esta técnica de desinfecção não é muito aceita pelos consumidores (SKIRROW, 1991; BUTZLER, 2004 ). Observa-se também uma queda brusca de células viáveis de *Campylobacter* spp. após o congelamento e descongelamento (STERN, *et al.*, 1985).

Vacinas contra a campilobacteriose têm-se mostradas promissoras em animais de laboratório (SCOTT, 1997; LEE, *et al.*, 1999). A determinação da seqüência do genoma do *C. jejuni* (PARKHILL, *et al.*, 2000) facilitará o desenvolvimento de uma vacina segura e eficaz para a possível aplicação na prevenção da diarreia causada por *Campylobacter* (BUTZLER, 2004).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

O estudo foi realizado em três granjas avícolas e um abatedouro de frangos, localizados na mesorregião metropolitana de Belém - PA. As granjas estudadas apresentavam a mesma assistência veterinária e recebiam as aves e os insumos de uma mesma fonte. As três granjas fornecem os frangos de corte para o abatedouro envolvido no estudo, que funciona sob Inspeção do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA.

As amostras provenientes das possíveis fontes de contaminação no criatório e aquelas oriundas de prováveis pontos críticos no abate constituíram o material objeto do estudo que foi desenvolvido no período de janeiro a maio de 2007.

#### 4.1.1 Amostras

##### 4.1.1.1 Fontes de Contaminação no Criatório

Para a identificação das fontes de contaminação por *Campylobacter* spp. no criatório, foram colhidas amostras na última semana de criação das aves (CARVALHO *et al.*, 2001). Em cada granja foram colhidas 10 amostras de água do bebedouro, 10 amostras de swab cloacal, 10 amostras de ração e 10 amostras de cama de frango. Com um total de 40 amostras por granja, perfazendo um total de 120 amostras nas três granjas estudadas. As amostras foram colhidas entre os meses de janeiro e março de 2007 (Tabela 5).

Tabela 5 – Número e tipo de amostras colhidas em cada granja avícola.

<b>Tipo de amostra</b>	<b>Granja 1</b>	<b>Granja 2</b>	<b>Granja 3</b>	<b>Total</b>
Água	10	10	10	30
Swab cloacal	10	10	10	30
Ração	10	10	10	30
Cama	10	10	10	30
<b>Total</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>120</b>

#### 4.1.1.2 Pontos Críticos no abate

Para a identificação de pontos críticos no abatedouro, foram colhidas 36 amostras de água em 12 pontos diferentes da linha de abate e mais 30 amostras de pele do conjunto peito/pescoço, 30 amostras de fígado e 30 amostras de moela, que indicariam a contaminação relacionada aos pontos críticos referidos, totalizando 126 amostras (CARVALHO *et al.*, 1998; CARVALHO *et al.*, 2002; ROSENQUIST, 2006) (Tabela 6). Todas as amostras do abatedouro foram colhidas entre os meses de abril e maio de 2007.

Tabela 6 – Número e tipo de amostras colhidas no abatedouro.

<b>Tipo de amostra</b>	<b>Número de amostras</b>
Água	36
Pele do conjunto peito/pescoço	30
Fígado	30
Moela	30
<b>Total</b>	<b>126</b>

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Obtenção e Processamento das Amostras

#### 4.2.1.1 Swab Cloacal

As amostras cloacais foram colhidas através de “swabs” estéreis diretamente das cloacas de frangos de corte (gênero: *Gallus*) (Figura 2) e imediatamente depositadas em tubos contendo 5 mL de caldo tioglicolato pH 7,2 e mantidas em temperatura de 5°C por 12 horas. (CARVALHO *et al.*, 2001). Foi realizada contenção manual da ave para coleta do “swab” cloacal. Esta contenção foi realizada de preferência pelo tratador das aves para minimizar o estresse durante o procedimento.



Figura 2 – Colheita de amostra de “swab” cloacal em frango de corte (gênero: *Gallus*).

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2006.

#### 4.2.1.2 Cama e Ração

As amostras de cama (Figura 3) e ração (Figura 4) foram colhidas em sacos plásticos estéreis, transportadas ao laboratório e, em seguida, pesadas. Para cada 5

gramas das amostras, adicionou-se 45 mL de caldo tioglicolato pH 7,2, mantendo-as por 12 horas a temperatura de 5 °C (CARVALHO *et al.*, 2001).



Figura 3 – Colheita de amostra de cama de frango em saco plástico estéril.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.



Figura 4 – Colheita de amostra de ração diretamente do comedouro em saco plástico estéril.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.

#### 4.2.1.3 Água

As amostras de água da granja e do abatedouro foram colhidas num volume de 500 mL e mantidas em caixas isotérmicas com gelo e processadas imediatamente após a chegada ao laboratório. Foi adicionado 2,5 mL de tiosulfato de sódio ao frasco coletor de água antes da coleta (CARVALHO *et al.*, 2001; HUNT *et al.*, 2001).

A granja 1 apresentava bebedouro por gotejamento (Figura 5) e as granjas 2 e 3 apresentavam bebedouros pendulares (Figura 6).

No abatedouro, as amostras de água foram coletadas nos seguintes pontos da linha de abate: escaldadeira (Figura 7), calha de evisceração das carcaças (dois pontos diferentes) (Figura 8), calha de evisceração do fígado, calha de evisceração da moela, calha de evisceração do coração, calha do conjunto cabeça – pescoço, mini-tanque de resfriamento do fígado, mini-tanque de resfriamento da moela, mini-tanque de resfriamento do conjunto cabeça – pescoço (Figura 9), tanque de pré-resfriamento da carcaça (Figura 10) e tanque de resfriamento da carcaça (Figura 11).



Figura 5 – Bebedouro por gotejamento presente na granja 1.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.



Figura 6 – As granjas 2 e 3 apresentavam bebedouros do tipo pendular.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.



Figura 7 – Escaldadeira – ponto de colheita de água no abatedouro.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.



Figura 8 – Calha de escoamento da água de evisceração das carcaças – ponto de colheita de água no abatedouro.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.



Figura 9 – Mini-tanques de resfriamento da moela, fígado e do conjunto cabeça/pescoço - pontos de colheitas de água no abatedouro.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.



Figura 10 – Tanque de pré-resfriamento das carcaças – ponto de colheita de água no abatedouro.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.



Figura 11 – Tanque de resfriamento das carcaças – ponto de colheita de água no abatedouro.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.

#### 4.2.1.4 Pele do Conjunto Peito/Pescoço, Fígado e Moela.

No abatedouro, foi colhido pele do conjunto peito/pescoço após o resfriamento das carcaças. O fígado e a moela foram colhidos dos mini-tanques de

resfriamento e acondicionados em sacos plásticos estéreis, sendo encaminhados ao laboratório sobre refrigeração (1-5°C). As amostras de pele do conjunto peito/pescoço, fígado e moela foram trituradas com auxílio de pinça e tesoura esterilizadas (Figura 12); em seguida, 25 gramas de cada amostra foram colocadas em 225 mL de caldo tioglicolato pH 7,2 e mantidas por 12 horas a temperatura de 5°C (CARVALHO *et al.*, 2001).



Figura 12 – Trituração de amostra de fígado com auxílio de pinça e tesoura esterilizadas.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.

#### **4.2.2 – Isolamento de *Campylobacter* spp.**

As amostras para o isolamento e identificação das espécies de *Campylobacter* foram processadas na Seção de Bacteriologia e Micologia do Instituto Evandro Chagas – IEC da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), Ministério da Saúde (MS).

4.2.2.1 Amostras cloacais, de cama, ração, pele do conjunto peito/pescoço, fígado e moela.

Para o isolamento, aplicaram-se membranas filtrantes de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade (SCOTTER *et al*, 1993; PILET *et al*, 1997) sobre placas com meio seletivo para *Campylobacter* composto por ágar brucella adicionado de suplemento FBP (0,025% de sulfato ferroso, 0,025% de piruvato de sódio e 0,025% de metabissulfito de sódio) e 7 mL de sangue desfibrinado e estéril de carneiro em 100 mL do meio básico (ágar brucella) com pH final 7,2 (Figura 13) (KONEMAN *et al.*, 2001).



Figura 13 – Meio seletivo para *Campylobacter* spp. com membrana filtrante de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.

Decorrido o período de 12 horas à temperatura de 5°C, cerca de 10 gotas do caldo das amostras cloacais, da cama, ração, pele do conjunto peito/pescoço, fígado e moela foram depositadas sobre a membrana filtrante (Figura 14). Após 30 minutos, as membranas foram retiradas e as placas incubadas a 42°C por 48-72 horas, em jarras para cultivo em anaerobiose com atmosfera de microaerofilia (HUNT, 2001; FERNÁNDEZ *et al.*, 2003).

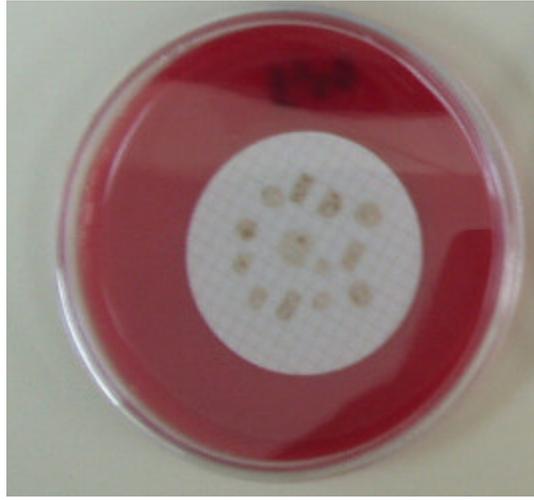


Figura 14 – Meio seletivo para *Campylobacter* spp. com amostra inoculada sobre membrana filtrante de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.

#### 4.2.2.2 Água

Um total de 100 mL de cada amostra de água foi centrifugado a 7.000 r.p.m. durante 15 minutos. O sedimento e mais 2 mL do sobrenadante foram homogeneizados e, em seguida, cerca de 10 gotas foram instiladas na membrana filtrante contida sobre o meio de isolamento seletivo. Após 30 minutos as membranas foram retiradas e as placas incubadas a 42°C por 48-72 horas, em jarras para cultivo em anaerobiose com atmosfera de microaerofilia (SCOTTER *et al*, 1993; PILET *et al*, 1997; CARVALHO *et al*. 2002).

#### 4.2.3 – Identificação de *Campylobacter* spp.

As colônias típicas ou suspeitas do gênero foram confirmadas e identificadas (Figura 15) através da morfologia microscópica, pela coloração de Gram, motilidade em microscópio de campo escuro, reações de catalase e de oxidase. Para identificação

bioquímica das espécies, além das provas citadas para identificação do gênero, foram realizados os testes de redução de nitrato, produção de H<sub>2</sub>S em TSI (*Tríplice Sugar Iron*), hidrólise de hipurato (Figura 16) e resistência ao ácido nalidíxico e à cefalotina. O protocolo de preparo de meios foi seguido de acordo com o anexo A. Os fluxogramas para isolamento e identificação de *Campylobacter* nas diferentes amostras podem ser observados nos anexos B, C e D (CARVALHO *et al.*, 2001; DOWNES & ITO, 2001; HUNT *et al.*, 2001;).



Figura 15 – Meio seletivo para *Campylobacter* spp. com colônias típicas do gênero.

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.



Figura 16 – Teste de hidrólise do hipurato. À esquerda, cepa de *Campylobacter jejuni* que hidrolisou o hipurato (líquido com coloração violeta). À direita, cepa de *Campylobacter* spp, que não hidrolisou o hipurato (anel superior do líquido com coloração amarela e coluna inferior do líquido incolor)

Fonte: Instituto Evandro Chagas, 2007.

#### 4.2.4 – Estudo Estatístico

Foi empregado o teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para comparação dos resultados entre as diferentes granjas, entre tipos diferentes de amostras nas granjas, entre as amostras do abatedouro e entre os isolados de *C. jejuni* e *Campylobacter* spp, adotando como nível de significância o valor de 0,05 (SAS, 1993).

#### 4.2.5 – Aspectos Éticos

O trabalho recebeu a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais – CEPAN do Instituto Evandro Chagas – IEC (Parecer n° 0004/2007/CEPAN/IEC/SVS/MS e Protocolo CEPAN - n° 0001/2007).

Os responsáveis pelas granjas e pelo abatedouro assinaram termo de anuência, permitindo a entrada dos pesquisadores no estabelecimento para realização

da pesquisa (APÊNDICE A e B). Para o levantamento epidemiológico, foi preenchida ficha epidemiológica contendo as informações do estabelecimento e dados sobre o manejo nas granjas (APÊNDICE C). Os dados dos estabelecimentos foram mantidos em sigilo e os resultados somente foram utilizados com finalidade de pesquisa.

Os resíduos das amostras foram acondicionados em sacos plásticos e enviados para o incinerador do Instituto Evandro Chagas (IEC), onde foram descartados.

#### **4.2.6 – Armazenamento e estocagem das cepas**

As cepas isoladas foram armazenadas em tubos de criopreservação com 0,7 mL de caldo brucella e 0,3 mL de glicerol à temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$  (LAURIA-FILGUEIRAS & HOFER, 1998).

## 5. RESULTADOS

### 5.1 FONTES DE CONTAMINAÇÃO NA GRANJA

As tabelas 7, 8, 9,10 e a figura 2 apresentam os resultados obtidos nas granjas avícolas. Conforme os dados da tabela 7, *Campylobacter* spp. foi isolado em 33,33% (40/120) das amostras coletadas nas três granjas, havendo diferença significativa entre isolamentos positivos e negativos ( $p < 0,05$ ).

Tabela 7 - Frequência de isolamentos de *Campylobacter* spp. em três granjas avícolas localizadas na mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.

Resultados	n	%
Positivo	40	33,33
Negativo	80	66,67
Total	120	100,00

$\chi^2 = 13,33$  ( $p < 0,05$ )

*Campylobacter* spp. foi isolado em 14 (11,67%) amostras provenientes da granja 1, 14 (11,67%) amostras da granja 2 e 12 (10,00%) amostras da granja 3, não havendo diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os isolamentos positivos nas granjas estudadas (tabela 8).

Tabela 8 – Frequência de isolamento de *Campylobacter* spp. nas granjas 1,2 e 3 localizadas na mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.

Granjas	Resultados					
	Negativo		Positivo		Total	
	n	%	n	%	n	%
1	26	21,67	14	11,67	40	33,33
2	26	21,67	14	11,67	40	33,33
3	28	28,33	12	10,00	40	33,33
Total	80	66,67	40	33,33	120	100,00

$\chi^2 = 0,30$  ( $p > 0,05$ )

Em relação aos tipos de amostras coletadas nas três granjas, *Campylobacter* spp. foi isolado em dez (8,33%) amostras de cama, 29 (24,17%) amostras de “swab” cloacal, uma (0,83%) amostra de água e em nenhuma das amostras de ração. Houve diferença significativa ( $p < 0,0001$ ) entre os isolamentos positivos, negativos e o tipo de amostra processada (tabela 9).

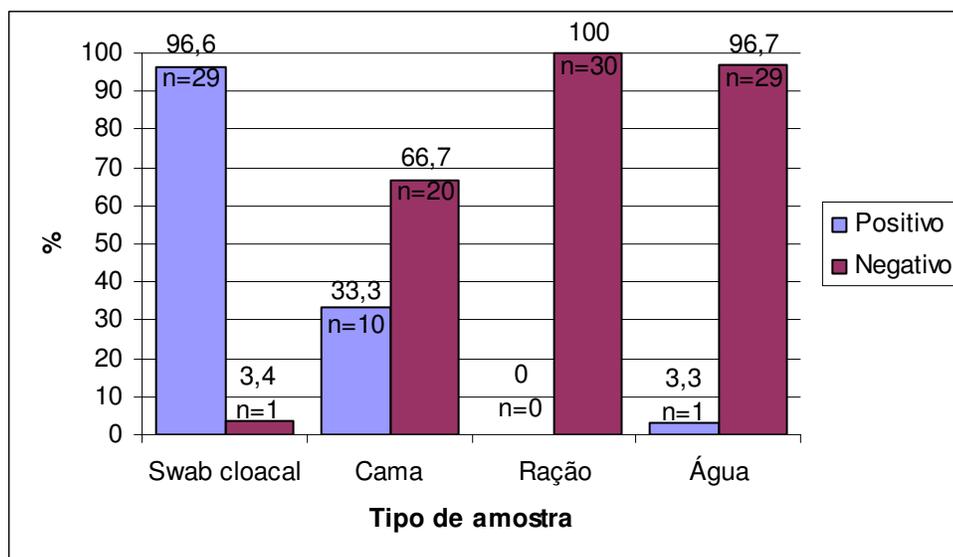
A amostra de água positiva para *Campylobacter* spp. era proveniente da granja 2, cujo bebedouro era do tipo pendular. Não foi isolado *Campylobacter* spp. das amostras de água da granja 1 (bebedouro por gotejamento) e da granja 3 (bebedouro pendular).

Tabela 9 - Freqüência de isolamentos de *Campylobacter* spp., segundo os tipos de amostras coletadas em três granjas da mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.

Amostras	Resultados					
	Negativo		Positivo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Cama	20	16,67	10	8,33	30	25,00
Ração	30	25,00	0	0,00	30	25,00
“Swab” Cloacal	1	0,83	29	24,17	30	25,00
Água	29	24,17	1	0,83	30	25,00
Total	80	66,67	40	33,33	120	10,00

$\chi^2 = 81,30$  ( $p < 0,0001$ )

Analisando cada tipo de amostra coletada nas três granjas pesquisadas, *Campylobacter* spp. foi isolado em 96,6% das amostras de “swab” cloacal, 33,3% das amostras de cama, 3,3% das amostras de água e em nenhuma das amostras de ração. Houve diferença significativa ( $p < 0,0001$ ) entre os isolamentos positivos, negativos e o tipo de amostra processada (Figura 17).



$\chi^2 = 81,30$  ( $p < 0,0001$ )

Figura 17 – Frequência de isolados de *Campylobacter* spp. em cada tipo de amostra coletada em três granjas avícolas na mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.

Quanto à identificação das espécies de *Campylobacter* spp. nas três granjas pesquisadas, 33 (82,50%) foram identificadas bioquimicamente como *C. jejuni* e em sete (17,50%) cepas isoladas, não foi possível definir a espécie. Observou-se uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os isolados de *C. jejuni* e àqueles isolamentos com os quais não foi possível definir a espécie (tabela 10).

Tabela 10 - Frequência de isolamento de *Campylobacter* spp. em amostras procedentes de três granjas avícolas da mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará, segundo a espécie identificada.

Espécie	Resultados	
	n	%
<i>Campylobacter jejuni</i>	33	82,50
<i>Campylobacter</i> spp*.	7	17,50
Total	40	100,00

$\chi^2 = 13,33$  ( $p < 0,05$ )

\*Espécie não identificada.

## 5.2 PONTOS CRÍTICOS NO ABATE

A tabela 11 e a figura 18 apresentam os resultados obtidos no abatedouro. Todas as cepas isoladas no abatedouro foram identificadas bioquimicamente como *C. jejuni*. A bactéria foi isolada em 11 (8,73%) amostras provenientes do abatedouro, das quais uma (0,79%) amostra de moela, dez (7,94%) amostras de diferentes pontos de coleta de água e em nenhuma amostra de fígado e de pele do conjunto peito/ pescoço. Observou-se diferença significativa ( $p < 0,0001$ ) entre o tipo de amostra processada e os resultados obtidos.

Os pontos de coletas de água positivos para *Campylobacter* spp. foram três amostras da água da calha de evisceração da moela, quatro amostras da calha de evisceração das carcaças, duas amostras da calha de evisceração do fígado e uma amostra da calha do conjunto cabeça/pescoço.

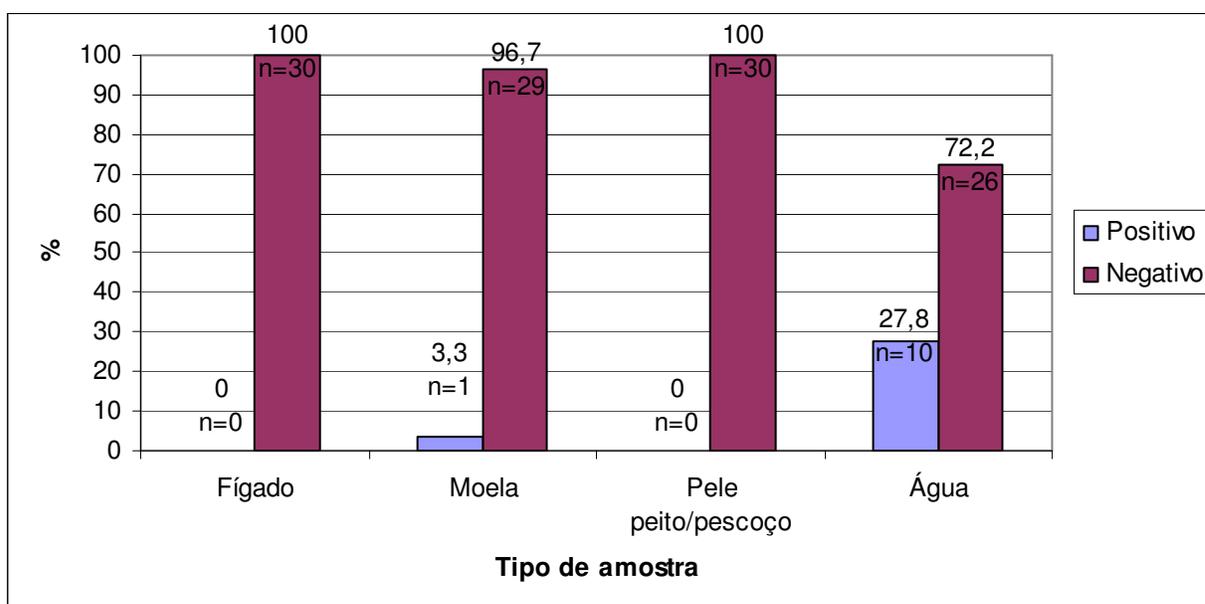
Não foi isolado *C. jejuni* das amostras de água dos mini-tanques de resfriamento: da moela, do fígado e do conjunto cabeça/ pescoço. Também não foi isolado *C. jejuni* das amostras de água da escaldadeira, da calha de evisceração do coração e dos tanques de pré-resfriamento e de resfriamento das carcaças.

Tabela 11 - Frequência de isolamentos de *C. jejuni.*, segundo os tipos de amostras coletadas em um abatedouro avícola da mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.

Amostras	Resultados					
	Negativo		Positivo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Fígado	30	23,81	0	0,00	30	23,81
Moela	29	23,02	1	0,79	30	23,81
Pele (peito/ pescoço)	30	23,81	0	0,00	30	23,81
Água	26	20,63	10	7,94	36	28,57
Total	115	91,27	11	8,73	126	100,00

$\chi^2 = 85,84$  ( $p < 0,0001$ )

Ao analisar as freqüências dos isolados de *Campylobacter* spp., para cada tipo de amostra do abatedouro, observou-se que 27,8% (n=10) das amostras de água foram positivas para *Campylobacter* spp., seguido pela moela com 3,3% (n=1) das amostras positivas. As amostras de fígado e de pele do conjunto peito/ pescoço foram negativas. Houve diferença significativa ( $p<0,0001$ ) entre os isolamentos positivos, negativos e o tipo de amostra processada (Figura 18).



$\chi^2 = 85,84$  ( $p < 0,0001$ )

Figura 18 – Freqüência dos isolados de *C. jejuni* em cada tipo de amostra colhida em abatedouro avícola na mesorregião metropolitana de Belém, estado do Pará.

## 6. DISCUSSÃO

O isolamento de *Campylobacter* spp. em 40 (33,33%) amostras procedentes de granjas (Tabela 7) foi superior aos resultados encontrados por Carvalho *et al.* (2001), que isolaram a bactéria em apenas 5,60% das amostras de duas granjas avícolas na região de Ribeirão Preto – SP, mesmo considerando-se os resultados obtidos por granja (Tabela 8).

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre o número de isolados positivos das três diferentes granjas (Tabela 8), provavelmente devido ao fato dos três estabelecimentos apresentarem semelhantes sistemas de manejos, aves e insumos provenientes da mesma fonte.

Entre as 30 amostras de “swab” cloacal, 29 (96,66%) (Figura 17) foram positivas para *Campylobacter* spp. Elevadas taxas de isolamento de *Campylobacter* spp. em amostras de fezes de frango foram também demonstradas por outros autores. Assim, Evans & Sayers (2000) isolaram o microorganismo em 91% das amostras de “swab” cloacal de frangos da Grã-Bretanha e Rodrigo *et al.* (2005) isolaram *Campylobacter* spp em 78,80% e 81,50% das amostras de “swab” cloacal de frangos comercializados em açougues de médio e pequeno porte, respectivamente, em Trindade e Tobago. Segundo Doyle (1988), 30,0 a 100,0% das aves albergam este agente no intestino.

Resultados de isolamento de *Campylobacter* spp em amostras de “swab” cloacal inferiores àqueles obtidos no presente trabalho, 96,6% (Figura 17) foram demonstrados por Tresierra-Ayla *et al.* (1995) que isolaram *C. jejuni* em 27,00% de amostras de “swab” cloacal” de frangos criados por famílias de baixa condição econômica na cidade de Iquitos–Peru. Carvalho *et al.* (2001) que isolaram, do mesmo modo, *Campylobacter* spp. em 16,70% das amostras de “swab” cloacal coletadas em duas granjas avícolas na região de Ribeirão Preto-SP e Gomes *et al.* (2006) que isolaram também *C. jejuni* em 19,80% de amostras de “swab” cloacal coletadas em pequenas propriedades no Município de Pelotas–RS.

A taxa de isolamento de *Campylobacter* spp. nas amostras da cama, 33,33% (Figura 17) foi superior aos resultados encontrados por Carvalho *et al.* (2001), 1,8%.

Os resultados obtidos para amostras de cama no presente trabalho, não estão de acordo com o que afirmaram Doyle & Roman (1982) e Smitherman *et al.* (1984), ao justificarem a baixa taxa de isolamento como uma consequência da elevada sensibilidade desta bactéria às condições adversas desse material.

A elevada taxa de isolamento da cama de frango (33,33%) (Figura 17) quando comparada com os resultados obtidos por Carvalho *et al.* (2001) (1,8%) pode ser um reflexo do alto percentual de isolamento das amostras de “swab” cloacal. De acordo com Jacob-Reitsma *et al.* (1995), as aves contaminadas podem liberar de  $10^6$  a  $10^9$  UFC/g de fezes, disseminando a bactéria para a cama.

*Campylobacter* spp. não foi isolado em amostras de ração procedentes das granjas pesquisadas (Tabela 9, Figura 17). Carvalho *et al.* (2001), no entanto, isolaram a bactéria em 0,60% de amostras de ração analisadas. Segundo Altekruise *et al.* (1999), a ração é uma fonte improvável de *Campylobacter* spp., devido a baixa disponibilidade de água para o crescimento da bactéria neste tipo de amostra. Aliado a este fator, as granjas pesquisadas introduziam antibióticos na ração (enramicina, colistina e avilamicina), podendo tal procedimento ter contribuído para o não isolamento de *Campylobacter* spp. nas amostras de ração .

*Campylobacter* spp. foi isolado em apenas uma (3,3%) amostra de água das granjas pesquisadas (Figura 17). A amostra de água positiva era proveniente da granja 2, cujo bebedouro era pendular. Este tipo de bebedouro acumula com facilidade restos de ração, cama, fezes e penas, o que pode ter contribuído para o isolamento de *Campylobacter* spp. neste tipo de bebedouro. Contrariamente a esse resultado, Carvalho *et al.* (2001) não isolaram a bactéria em nenhuma das amostras de água em granjas avícolas na região de Ribeirão Preto – SP. As três granjas envolvidas neste trabalho realizavam procedimento de cloração da água. Segundo Blaser *et al.* (1986), há fortes evidências de que os procedimentos de cloração da água sejam eficazes na inativação do *Campylobacter* spp.

*C. jejuni* foi identificado em 82,50% das cepas isoladas nas granjas estudadas (Tabela 10). Segundo Allos & Taylor (1998), *C. jejuni* e *C. coli* são as espécies termofílicas mais isoladas em amostras de fezes e *C. jejuni* é responsável por 80 a 90% das infecções.

*C. jejuni* foi também isolado em 8,73% das amostras procedentes do abatedouro (Tabela 11), percentual que é cerca de duas vezes maior em relação à taxa determinada por Cortez *et al.* (2006), 4,90% em amostras coletadas de diferentes pontos em abatedouros localizados no estado de São Paulo. De modo contrário, Carvalho *et al.* (2002) isolaram *C. jejuni* em elevada taxa, 35,70%, em amostras coletadas em diferentes pontos da linha de abate em um abatedouro na região nordeste do estado de São Paulo. Essas diferenças de resultados obtidas em diferentes estudos podem estar relacionadas aos níveis de controle de qualidade adotados nos estabelecimentos industriais de abate.

No presente trabalho não foi isolado *Campylobacter* spp em amostras de fígado coletadas em mini-tanque de resfriamento do abatedouro (Tabela 11, Figura 18), entretanto, Carvalho *et al.* (1997) isolaram *C. jejuni* em 54,79% das amostras de fígado coletadas logo após o sacrifício de aves com diarreia em granjas avícolas localizadas na Região de Ribeirão Preto - SP e Carvalho *et al.* (2002) isolaram também *C. jejuni* em 38,00% das amostras de fígado coletadas logo após a evisceração manual em abatedouro localizado na região Nordeste do estado de São Paulo. Segundo Carvalho (1998), a coleta de amostras de produtos refrigerados, que foi executada também neste trabalho, provavelmente, dificulta o isolamento de *Campylobacter* spp.

No entanto, *C. jejuni* foi isolado em uma amostra de moela refrigerada coletada no abatedouro (tabela 11, figura18), muito embora Carvalho (1998) não tenha isolado a bactéria em amostras de moela refrigeradas comercializadas no município de Jaboticabal – SP. Yang *et al.* (2003) isolaram também *C. jejuni* em 26.70% das amostras de moela congeladas comercializadas em supermercados no leste da China.

Não foi isolado *Campylobacter* spp. nas amostras do conjunto de pele do peito e do pescoço (Tabela 11, Figura 18) coletadas logo após a passagem pelo tanque de resfriamento de carcaças. Este resultado não está de acordo com os achados de Jorgensen *et al.* (2002) que isolaram a bactéria em 83,00% das amostras de pele de pescoço em carcaças refrigeradas ou congeladas comercializadas na Inglaterra. Segundo Rosenquist *et al.* (2006), os níveis de contaminação na pele de pescoço aumentam durante o processo de evisceração e declinam após a passagem da carcaça pelo tanque de resfriamento.

Conforme a figura 18, *C. jejuni* foi isolado em 27,8% das amostras de água coletadas em diferentes pontos do abatedouro. Carvalho *et al.* (2002) obtiveram resultados semelhantes ao isolarem a bactéria em 29,70% das amostras de água coletadas em diferentes pontos da linha de abate em um abatedouro na região nordeste do estado de São Paulo.

*C. jejuni* não foi, entretanto, isolado nas amostras de água de escaudadeira e isto está de acordo com Cortez *et al.* (2006) que consideraram que a água de escaudamento à temperatura de 58°C diminui a contaminação das carcaças por *Campylobacter* spp., ainda que não elimine completamente a bactéria. Carvalho *et al.* (2002) e Cortez *et al.* (2006) isolaram *C. jejuni*, respectivamente, em 26,60% e em 2,8% das amostras de água de escaudamento.

Das dez (7,94%) amostras de água do abatedouro nas quais foi isolado *C. jejuni* (tabela 11), quatro amostras eram procedentes da calha de evisceração de carcaças, três da calha de evisceração de moela, duas amostras da calha de evisceração do fígado e uma amostra da calha do conjunto cabeça-pescoço. Carvalho *et al.* (2002) isolaram também *C. jejuni* em 61,30% das amostras de água de evisceração e evidenciaram que esta operação é o principal ponto crítico na disseminação de *Campylobacter* spp. no abatedouro; mas esta bactéria não foi isolada na água da calha de evisceração de coração. Cortez *et al.* (2006) isolaram *C. jejuni* em apenas 2,80% das amostras de água de evisceração.

Nas amostras de água dos mini-tanques de resfriamento de moela, fígado e conjunto cabeça/ pescoço não foi isolado *C. jejuni* e, do mesmo modo, nas amostras de água dos tanques de resfriamento e pré-resfriamento de carcaças. Carvalho *et al.* (2002) e Cortez *et al.* (2006) também não isolaram esta bactéria na água de resfriamento. No abatedouro pesquisado era mantido um nível de cloro da água entre 3-5 ppm, com monitoramento a cada duas horas do nível de cloração da água pela equipe de qualidade da empresa.

Todas as cepas isoladas no abatedouro foram identificadas bioquimicamente como *C. jejuni*. Segundo Pilet *et al.* (1997), *C. jejuni* é mais frequentemente isolado em relação ao *C. coli* em produtos alimentícios. Em 2000, cerca de 92% dos isolamentos

efetuados pela Unidade de Referência em *Campylobacter* da Inglaterra foram de *C. jejuni* (CDSC, 2001).

## **7. RECOMENDAÇÕES**

Sugere-se a realização de estudos moleculares tais como a reação em cadeia mediada pela polimerase (PCR) e eletroforese em gel com campo pulsátil (PFGE) para melhor caracterização e correlação molecular entre as cepas isoladas das diferentes amostras das granjas e do abatedouro.

Sugere-se ainda a realização de estudos de sensibilidade das cepas aos antibióticos com a finalidade de verificar se os microorganismos provenientes do criatório e do abatedouro apresentam perfil de resistência aos antimicrobianos mais comumente empregados em medicina humana e animal.

## 8. CONCLUSÃO

1. *Campylobacter* spp estava presente em elevado percentual nas amostras de “swab” cloacal e em baixo percentual nas amostras de água procedentes das granjas avícolas.

2. Na caracterização das cepas isoladas, *C. jejuni* foi identificado em elevado percentual em amostras procedentes das granjas avícolas e em todos os isolamentos do abatedouro.

3. Nas granjas avícolas, a cama, a água e as fezes foram caracterizadas como as principais fontes de contaminação. No abatedouro, a água de diferentes pontos da calha de evisceração e a moela obtida no mini-tanque de resfriamento foram os pontos críticos identificados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**Associação dos Produtores e Exportadores de Frangos - ABEF** - [on line]. Disponível na Internet via WWW: URL: <http://abef.com.br>. [24 junho 2007].

ACEVEDO, E. S., PÉREZ, G. B., SOTO, J. N. F. *et al.* Aislamento de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* em pollos. **Vet. Méx.** v.18. p. 109-113. 1987.

ALLOS, B. M., Association between *Campylobacter* infeccion and Guillain- Barre síndrome. **J. Infect. Dis.** 176, p. 125- 128. 1997.

ALLOS, B. M., LIPPY, F. T., CARLSEN, A. *et al.* *Campylobacter jejuni* strains from patients with Guillain – Barre syndrome. **Emerg. Infect. Dis.** 4, p. 263-268. 1998.

ALLOS, B., TAYLOR, D. N. ***Campylobacter* infections.** 1998. In AS Evans, PS Brachhman (eds). *Bacterial Infections of Human: Epidemiology and Control*, 3<sup>rd</sup> ed., Phenum Medical Book, New York. p. 169-170.

ALMEIDA, P. F., SERRANO, A. M. Ocorrência de *Cmpylobacter fetus* subespécie *jejuni* em carcaças de frangos e suínos. **Rev. Microbiol.**, v. 18, p. 279-83. 1987.

ALTEKRUSE, S. F., HUNTJ. M., TOLLRFSSON L. K. *et al.* Food and animal sources of human *Campylobacter jejuni* infection. Review 87 refes. **J. Amer Vet Med Assoc**; 204 p. 57-61, 1994.

ALTEKRUSE, S. F. STERN, N. J., FIELDS, P.I. *et al.* *Campylobacter jejuni* – an emerging foodborne pathogen. **Emerging Infect. Dis.** v.5 p.28-35. 1999.

ANONYMOUS. **Meldungen Infektionskrankheiten**, Bulletin 20/01. Bundesamt für Gesundheit, Bern. 2001.

BAILEY, J. S. Control of *Salmonella* and *Campylobacter* in Poultry production. A summary of work at Russel Research Center. **Poult. Sci.**, v. 72, p. 1169-1173. 1993.

BERNDSTON, E., EMANUELSON, U., ENGVALL, A. *et al.* 1 – year epidemiological study of campylobacters in 18 Swdish chickens farm. Prev. **Vet. Med.**, v. 26, p. 167-185. 1996.

BERTCHINGER, H. U. Machweis von vibrionen bei huhnerm mit hepatitis. **Zentralbl. Veterinaarmed.** v. 12. p. 33-40. 1965.

BLACK, R.E., LEVINE, M.M., CLEMENTS, M.L. *et al.* Experimental *Campylobacter jejuni* in humans. **J. Infect. Dis.** v.157. p. 472-9. 1988.

BLASER, M. J., LAFORCE, F. M., WILSON, N. A. *et al.* Reservoirs for human campylobacteriosis. **J. Infect. Dis.** v. 141. p. 665-669. 1980.

BLASER, M. J., TAYLOR, D. N., FELDMAN, R. A. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. **Epidemiol. Rev.** 5. p.157-176. 1983.

BLASER, M. J., SMITH, P. F., WANG, W. L. L. *et al.* Inactivation of *C. jejuni* by chlorine and monochloramine. **Appl. Environ. Microbiol.** v.51. p. 307-311. 1986.

BOLTON, F. J. **Methods for isolation of *Campylobacter* from humans, animals, food and water.** In: The increasing incidence of campylobacteriosis in humans. Report and proceedings of a WHO consultation of experts. Geneva: World Health Organisation. 2001. p. 87-94.

BRYAN, F. L., DOYLE, M. P. Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* on raw poultry. **J. Food Prot.** v.58, p. 326-344. 1995.

BUTZLER, J. P. *Campylobacter* infection in man and animals. **Boca raton: CRC Press.** p. 144-157. 1984

BUTZLER, J. P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. **Europ. Soc. Of Clin. Microbiol. and Infect. Dis.** v.10. p. 868-876. 2004.

CARVALHO, A. C. F. B., COSTA, F. N. Ocorrência de *Campylobacter sp.* Em carcaças e cortes de frango ao nível industrial e comercial. **Hig. Alim.**, v.10, n.46, p.41-47. 1996.

CARVALHO, A. C. F. B., SCHOCKEN-ITURRINO, R. P., CAMA, L. F. S. A. M., Isolation of *Campylobacter jejuni* from víscera and bile secretion of broiler chickens with diarrhea. **Rev. de Microbiol.** v. 28. p. 125-128. 1997.

CARVALHO, A. C. F. B. Determinação do NMP de *Campylobacter* em vísceras comestíveis de frangos refrigerados. **Hig. Alim.**, v.12, n.55, p.63-65. 1998.

CARVALHO, A. C. F. B., LIMA, V. H. C., PEREIRA, G. T. *et al.* *Campylobacter* em granja avícola. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias.** p.191-195. 2001.

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.

CORTEZ, A. L. L., CARVALHO, A. C. F. B., SCARCELLI, E. *et al.* Survey of chicken abattoir for the presence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**. v. 48(6). p. 307-310. 2006.

**Communicable Disease Surveillance Centre – CDSC.** *Campylobacter* sentinel surveillancescheme. Commun Dis. Report CDR. Weekly. v.11. 2001.

DIAS, T. C., QUEIROZ, D. M. M., MENDES, E. N. *et al.* Chicken carcasses as a source of *Campylobacter jejuni* in Belo Horizonte, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** 32 (6), p. 414-418. 1990.

DOWNES, F. P., ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001. Bibliografia: p.301-310.

DOYLE, M. P., ROMAN, D. J. Sensitivity of *Campylobacter jejuni* to drying. **J. Food Prot.** v.45. p.507-510.1982.

DOYLE, M. P. *Campylobacter jejuni*. In: Oblinger, J. L. ed. **Bacteria associated with foodborne disease – A scientific stratus summary**. Chicago: IFT,1988. p. 1-18.

EVANS, S. J., SAYERS, A. R. A longitudinal study of *Campylobacter* infection of broiler flocks in Great Britain. **Prev. Vet. Med.** 46. p. 209-223. 2000.

FERNANDEZ, H., FARACE, M. I. **Diagnóstico de *Campylobacter* en muestras clínicas y de alimentos. Manual de procedimientos**. Universidad Austral de Chile. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas – Argentina. 22p. 2003.

FERNÁNDEZ, H., RODRÍGUEZ, R., BARUDI, C. *et al.* A case of acute diarrhea due to the emerging pathogen *Campylobacter jejuni* subsp. *doylei* in Southern Chile. **Braz. J. of Microbiol.** v. 34. p. 52-54. 2003.

FILGUEIRAS, A. L. L. **Campylobacter – Diagnóstico laboratorial**. FIOCRUZ Setembro, 2003 [on line]. Disponível na Internet via WWW: URL: <http://medivax.com.br/bulas/campylobacter.htm>. [03 janeiro de 2006].

FONSECA, B. B., SONCINI, R. A., GIMARÃES, A. R. *et al.* *Campylobacter spp.* in eggs from cloacal swab positive breeders hens. **Braz. J. of Microbio.** v. 37, p. 573-575. 2006.

FREDIANE- WOLF, V., STEPHAN, R. Resistance patterns of *Campylobacter spp.* Strains isolated from poultry carcasses in a big Swiss poultry slaughterhouse. **Int. J. of Food Microbiol.**, p. 1- 8. 2002.

FRIEDMAN, C. R., NEIMANN, J. WEGENER, H. C. *et al.* V. **Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialised nations.** Nachamkin, Blaser, *Campylobacter.* Washington D. C: American Society for Microbiology. 2000.

FROST, J. A., OZA, A. N., THWAITES, R. T. *et al.* Serotyping scheme for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on direct agglutination of heat stable antigens. **J. Clin. Microbiol.** v.36. p. 335-339. 1998.

FROST, J. A., KRAMER, J. M., GILLANDERS, S. A. Phage typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* and its use as an adjunct to serotyping. **Epidemiol. Infect.** v. 123. p. 47-55, 1999.

FROST, J. A., GILLESPIE, I. A., O'BRIEN, S. J. Public health implications of campylobacter outbreaks in England and Wales, 1995-1999: epidemiological and microbiological investigations. **Epidemiol. Infect.** v. 128. p. 111-119. 2002.

GENIGEORGIS, C. A importância do *Campylobacter* na avicultura. **Avicultura industrial.** v.8. p. 6-12. 1987.

GIACOBONI, G. I., ITOH, K.,HIRAYAMA, K. *et al.* Comparison of fecal *Campylobacter* in calves and cattle of different ages and areas in Japan. **J. Vet. Med. Sci.** v.55. p. 555-9.1993.

GILPING, B., CORNELIUS, A., ROBSON, B. *et al.* Application of pulse-field gel electrophoresis to identify potential outbreaks of campylobacteriosis in New Zealand. **J. of Clin. Microbiol.** v. 44. n. 2. p. 406-412. 2006

GOMES, F. R., CURCIO, B. R., LADEIRA, S. R. L. *et al.* *Campylobacter jejuni* occurrence in chicken fecal samples from small properties in Pelotas, Southern of Brazil. **Braz. J. of Microb.** v. 37. p.375-378. 2006.

HARRIS, N. V., WEISS, N. S., NOLAN, C. M. The role of pultry and meats in the etiology of *Campylobacter jejuni/ coli* enteritis. **Am. J. Publ. Hlt.**, v. 76, p. 407-411. 1986.

HARTNETT, E., KELLY, L. A., GETTINBY, G. *et al.* A quantitative risk assessment for *Campylobacter* in broilers: work in progress. **Int. Biodet. & Biodeg.** v. 50. p. 161-165. 2002.

HUMPHREY, T. J. *Salmonella, Campylobacter* and poultry: possible control measures. **Hyg. Commun. Dis.** 64. R1-R-8. 1989

HUNT, J. M., ABEYTA, C., TRAN, T. **BAM (Bacteriological Analytical Manual)**. U.S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. *Campylobacter*. Chapter 7. March, 2001.

**Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE** - [on line]. Disponível na Internet via WWW: URL: <http://ibge.gov.br>. [24 junho 2007].

JACOB-REITSMA, W. F., GIESSEN, A. W., BOLDER, N. M. *et al.* Epidemiology of *Campylobacter spp.* at two dutch broiler farms. **Epidemiol. Infect.** v. 114. p. 413-421. 1995.

JORGENSEN, F., BAILEY, R., WILLIAMS, S. *et al.* Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter spp.* on raw, whole chickens in relation to sampling methods. **Int. J. of Food Microbiol.** v. 76. p. 151-164. 2002.

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

KONEMAN, E. W., ALLEN, S. D., JANDA, W. M. *et al.* **Bacilos gram negativos curvos e fermentadores oxidase positivos: *Campylobacteriaceae* e *Vibrionaceae***. Capítulo 6. Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido. 2001. 5ªed. Ed. Medsi.

LACEY, R. W. Food-borne bacterial infections. **Parasitology.** v.107. p. 75-93. 1993.

LANDER, K. P., GILL, K. P. W. Experimental infection of the bovine udder with *Campylobacter coli/ Campylobacter jejuni*. **J. Hyg.** V. 84. p. 421-428. 1990.

LAURIAS-FILGUEIRAS, A. L., HOFER, E. Diversity of *Campylobacter* isolates from three activated sludge systems. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. v. 93 (3). p. 295-298. 1998.

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

LEVI, A., RICCIARDI, I, D. *Campylobacter fetus subsp. Jejuni (C. jejuni)*: isolamento e caracterização de amostras obtidas em galinhas, na cidade do Rio de Janeiro. **Rev. Microbiol.** 13 (4). p. 332-334. 1982.

MACHADO, R. A., TOSIN, I., LEITÃO, M. F. F. Occurrence of *Salmonella spp* and *Campylobacter sp.* In chickens during industrial processing. **Rev. Microbiol.**, v. 25, n. 4, p. 239-244. 1994.

McCARTHY, N., ANDERSSON, Y., JORMANAINEN, V. *et al.* The Risk of Guillain – Barre syndrome following infection with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in subjects Finland. **Epidemiol. Infect.** 122, p. 15-17. 1999.

MEAD, G. C. Microbiological quality of poultry meat – a review. **Rev. Bras. Cienc. Avic.**, v. 6, n° 3, p. 135-142. ISSN 1516-635X. jul/set. 2004.

MONTROSE, M. S., SHANE, S. M. HARRINGTON, K. S. Role of litter in the transmission of *Campylobacter jejuni*. **Avian Diseases.** v. 13. p. 124-125. 1985.

NACHAMKIN, I., BLASER, M.J., TOMPKINS, L.S. *Campylobacter jejuni*: Current status and future trends. **American Society for Microbiology.** Washington, D.C.1992.

NACHAMKIN, I., ALLOS, B. M., HO, T. *Campylobacter* species and Guillain- Barre syndrome. **Clin. Microbiol. Rev.** 11, p. 555-567. 1998.

NYLEN, G., PALMER, S. R., BAGER, F. *et al.* *Campylobacter* seasonality in Europe. **Proceedings of the 4<sup>th</sup> World Congress on Foodborne Infections and Intoxications.** Berlin, p. 293-297. 1998.

PARKHILL, J., WREN, B. W., MUNGALL, K. *et al.* The genome sequence of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences. **Nature.** v. 403. p. 66-68. 2000.

PECKMAN, M. C. Vibrionic hepatitis. 1975. In: HITCHNER, S. B. *et al.* Isolation and identification of avian pathogens. **Texas American association of avian pathologist.** p. 60-65.

PILET, M. F., MAGRAS, C., CAPPELIER, J. M. *et al.* La recherche des *Campylobacter* thermotolerants dans les aliments: méthode de reference et méthode alternatives. **Révue Méd. Vét.** v.148.2. p. 99-106. 1997.

RAMPLING, A., UPSON, R., WARD, L. R. *et al.* *Salmonella enteritis* phage type 4 infection of broiler chickens: Hazard to public health. **Lancet**, v. 19, p. 436-438, 1989.

RODRIGO, S., ADESIYUN, A. ASGARALI, Z. *et al.* Prevalence of *Campylobacter* spp. on chickens from selected retail processors in Trinidad. **Food Microbiol.** v. 22. p. 125-131. 2005.

RODRIGUES, J., SOUSA, D., PENHA-GONÇALVES, A. Ocorrência e caracterização de *Campylobacter* spp. em pardal, rato e pombo. **Rev. Port. Ciênc. Vet.**, v. 93, n.526, p. 74-78. 1998.

ROSENQUIST, H., SOMMER, H. M., NIELSEN, N. L. *et al.* The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. **Intern. J. of Food Microbiol.** v. 108. p. 226-232. 2006.

SAS Institute Inc. **SAS/ STA software: syntax.** Cary NC: SAS Institute Inc., 1993. 151 p.

SAKUMA, H., FRANCO, D. G. M., FERNANDEZ, H. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in retail chicken meat and giblets in São Paulo, Brazil. **Rev. Microbiol.**, v.23, p. 13-16. 1992.

SALA, V., PICCININI, R., SOCCI, A. Localization and characteristics of pig thermophilic *Campylobacter* in carriers of experimentally conditioned animals. **Clin. Vet.** v.109. p. 236-242. 1986

SALEHA, A. A., MEAD, G. C., IBRAHIM, A. L. *Campylobacter jejuni* in poultry production and processing in relation to public health. **J. World Poult. Sci.**, v. 54, p. 49-58. 1998.

SCOTT, D. A. Vaccines against *Campylobacter jejuni*. **J. Infect. Dis.** v. 176. n. 2. p. 183-188. 1997.

SCOTTER, S. L., HUMPHREY, T. J., HENLEY, A. Methods for the detection of thermotolerant campylobacters in foods: results of an inter-laboratory study. **J. of Applied Bacteriol.** v. 74. p. 155-163. 1993.

SKIRROW, M. B. *Campylobacter* enteritis: a 'new' disease. **BMJ.** v. 2. p.9-11. 1977.

SKIRROW, M. B. Food borne illness: *Campylobacter*. **Lancet**, v. 336. p. 921-923. 1990.

SKIRROW, M. B. Epidemiology of *Campylobacter* enteritis. **Int. Journal of Food Mic.** v. 12. p. 9-16. 1991.

SKIRROW, M. B., BLASER, M. J., NACHAMKIM et al. *Campylobacter jejuni*: Current status and future trends. Washington, DC: **American Society for Microbiology**. 1992.

SMITHERMAN, R. E., GENIGEORGIS, C. A., FARVER, T. B. Preliminary observations on the occurrence of *Campylobacter jejuni* at four California chicken ranches. **J. Food Prot.** v. 47. p. 293-298. 1984.

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

STERNE, N. J., BAILEY, J. S., BLANKENSHIP, L. C., COX, N. A., M'CHAN, F. Colonization characteristics of *Campylobacter jejuni* in chick ceca. **Avian Diseases**. v. 32. p. 330-334. 1988.

TAUXE, R. V., DEMING, M. S., BLAKE, P. A. *Campylobacter jejuni* infections on college campuses: a national survey. **Am. J. Publ. Health**. v. 75. p. 659-660. 1985.

TRESSIERRA-AYLA, A., FERNADEZ, H., BENDAYÁN, M. E. *et al.* Aislamiento de especies termotolerantes de *Campylobacter* em dos poblaciones de pollos criados con y sin confinamiento. **Rev. Saúde Pública**. v. 29. n. 5. p. 389-392. out. 1995.

WALLACE, R. B. **Campylobacter**. 1997. In: Foodborne microorganisms of public health significance, 5th edn. (Hocking, A.D., Arnold, G., Jenson, I., Newton, K. and Sutherland, P., Eds.). p. 265-284. AIFST (Weteroo, NSW, Australia). Food Microbiology Group.

WASSENAAR, T. M., NEWELL, D. G. Genotyping of *Campylobacter* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 66. p. 1-9. 2000.

WEMPE, J. M. GENIGEORGIS, C. A., FARVER, T. B. *et al.* Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chicken processing plants. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 45. n. 2. p. 355-359. 1983.

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

ZANETTI, F., VAROLI, O. STAMPI, S. *et al.* Prevalence of thermophilic *Campylobacter* and *Arcobacter butzleri* in food of animal origin. **Intern. J. of. Food Microbiol.** v. 33. p. 315-321. 1996.

APENDICE A

**TERMO DE ANUÊNCIA (GRANJA)**

Eu, \_\_\_\_\_,  
responsável pela granja:

\_\_\_\_\_, convidado a permitir que seja realizado o estudo: **“Pesquisa de *Campylobacter spp.* em granjas avícolas e abatedouro na mesorregião metropolitana de Belém - PA”**, no estabelecimento avícola supracitado, fui informado que:

- O estudo tem o objetivo de avaliar a ocorrência de *Campylobacter spp.* em granjas avícolas e abatedouro da região metropolitana de Belém;
- Para cada granja, será preenchida uma ficha epidemiológica com dados de manejo de produção do estabelecimento;
- Serão coletadas 10 amostras de cada um dos seguintes itens: “swab” cloacal, 50g de cama, 50g de ração e 500ml de água, por profissional capacitado;
- É pouco provável que ocorra óbito durante o procedimento de coleta do “swab” cloacal, pois essas aves passam por estresses superiores durante a captura e transporte para o abatedouro, mas caso ocorra morte da ave durante o procedimento de coleta, a carcaça receberá o destino designado pelo médico veterinário responsável pela granja.
- Estas amostras serão acondicionadas sob refrigeração e encaminhadas ao Instituto Evandro Chagas (IEC) em Ananindeua – PA, onde serão realizados os exames para isolamento de *Campylobacter spp.* As sobras das amostras serão acondicionadas em embalagens isotérmicas e enviadas para o incinerador do IEC, onde serão descartadas. As cepas isoladas serão armazenadas em freezer -70°C e ficarão sob responsabilidade do IEC;
- O projeto beneficiará as granjas participantes, uma vez que os resultados dos exames serão disponibilizados para o responsável pelo estabelecimento avícola, permitindo a adoção de medidas preventivas;
- Os dados do estabelecimento serão mantidos em sigilo e os resultados somente serão utilizados com finalidade de pesquisa;
- A qualquer momento, o responsável pela granja terá liberdade de perguntar ou questionar os pesquisadores sobre a conduta que estiver sendo realizada;
- Caso qualquer responsável pela granja queira abandonar o estudo, nenhuma penalidade lhe será aplicada, pois sua participação é voluntária.

\_\_\_\_\_  
Cintya de Oliveira Souza

Endereço: Rod. BR 316 – KM 07. S/Nº, Bairro: Levilândia. CEP: 67030-000. Ananindeua - PA  
Telefone: 3214-2116/ 81453921

Ciente das informações acima, aceito por minha livre e espontânea vontade, incluir minha granja nesta pesquisa.

\_\_\_\_\_, PA \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pela granja

**TERMO DE ANUÊNCIA (ABATEDOURO)**

Eu, \_\_\_\_\_,  
responsável pelo abatedouro de aves:

Convidado a permitir que seja realizado o estudo: **“Pesquisa de *Campylobacter spp.* em granjas avícolas e abatedouro na mesorregião metropolitana de Belém - PA”**, fui informado que:

- O estudo tem o objetivo de estudar a ocorrência de *Campylobacter spp.* em granjas avícolas e abatedouro da região metropolitana de Belém;
- Serão coletadas 30 amostras de cada uma das seguintes peças: pele de pescoço, fígado e moela, além de 10 amostras de cada um dos seguintes itens: 500ml de água do tanque de escaldamento e 500ml de água do tanque de resfriamento, por profissional capacitado;
- Estas amostras serão acondicionadas sob refrigeração e encaminhadas ao Instituto Evandro Chagas (IEC) em Ananindeua – PA, onde serão realizados os exames para isolamento de *Campylobacter spp.* As sobras das amostras serão acondicionadas em embalagens isotérmicas e enviadas para o incinerador do IEC, onde serão descartadas. As cepas isoladas serão armazenadas em freezer - 70°C e ficarão sob responsabilidade do IEC;
- O projeto beneficiará o abatedouro participante, uma vez que os resultados dos exames serão disponibilizados para o responsável pelo estabelecimento, permitindo a adoção de medidas preventivas;
- Os dados do estabelecimento serão mantidos em sigilo e os resultados somente serão utilizados com finalidade de pesquisa;
- A qualquer momento, o responsável pelo abatedouro terá liberdade de perguntar ou questionar os pesquisadores sobre a conduta que estiver sendo realizada;
- Caso o responsável pelo abatedouro queira abandonar o estudo, nenhuma penalidade lhe será aplicada, pois sua participação é voluntária.

\_\_\_\_\_  
Pesquisador responsável pela pesquisa

Endereço: Telefone:

Ciente das informações acima, aceito por minha livre e espontânea vontade, incluir o abatedouro sob minha responsabilidade, nesta pesquisa.

\_\_\_\_\_, PA \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pelo abatedouro

**PESQUISA DE *Campylobacter spp.* EM GRANJAS AVÍCOLAS NA MESORREGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM - PA**

**FICHA PARA LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO**

01 – Ficha nº \_\_\_\_\_ 02 – Data: \_\_\_\_\_

03 – Proprietário: \_\_\_\_\_

04 – Propriedade: \_\_\_\_\_

Próxima a rodovia: ( ) Sim ( ) Não Distância: \_\_\_\_\_

05 – Município: \_\_\_\_\_ 06 – U.F: \_\_\_\_\_

07 - Endereço \_\_\_\_\_

08 – Médico Veterinário Responsável: \_\_\_\_\_

09 – Telefone/Contato: \_\_\_\_\_

10 – Características da Propriedade e Manejo

10.1 – Área da Propriedade: \_\_\_\_\_ Área do Galpão: \_\_\_\_\_

Nº de galpões: \_\_\_\_\_ Nº de animais/galpão: \_\_\_\_\_

Nº médio de aves/m<sup>2</sup>: \_\_\_\_\_

10.2 – Há outros animais na propriedade? ( ) Sim ( ) Não

Quais espécies: \_\_\_\_\_

10.3 – Há animais silvestres na propriedade? ( ) Sim ( ) Não

Quais: \_\_\_\_\_

10.4 – Linhagem das aves: \_\_\_\_\_

10.5 – Realiza vazio sanitário? ( ) Sim ( ) Não

10.6 – Utiliza vacinação? ( ) Sim ( ) Não

( ) Newcastle ( ) Gumboro ( ) Marek ( ) Boubá Aviária  
Outra \_\_\_\_\_

10.7 – Tipo de cama utilizada  
( ) Palha de arroz ( ) Maravalha ( ) Outra \_\_\_\_\_

10.8 – Tipo de Piso  
( ) Chão de terra ( ) Cimento ( ) Outro \_\_\_\_\_

10.9 – A cama utilizada no lote é reutilizada?  
( ) Sim Quantas Vezes? \_\_\_\_\_ ( ) Não

Caso a cama seja reutilizada, é feito algum tratamento? ( ) Sim ( ) Não Qual: \_\_\_\_\_

10.10 – Tipo de Comedouro: \_\_\_\_\_

Qual a frequência de limpeza do comedouro? \_\_\_\_\_

10.11 – Tipo de Bebedouro  
( ) Gotejamento ( ) Pendular

Outro: \_\_\_\_\_

Qual a frequência de limpeza do bebedouro? \_\_\_\_\_

Há vazamento de água dos bebedouros para as camas? ( ) Sim ( ) Não

As camas estão úmidas? ( ) Sim ( ) Não

10.12 – Origem da água utilizada

( ) Poço Artesiano ( ) Companhia de Abastecimento ( ) Outro \_\_\_\_\_

A água é tratada? ( ) Sim ( ) Não

Tipo de tratamento: \_\_\_\_\_

10.13 - Qual a temperatura da água que chega no bebedouro? \_\_\_\_\_ °C

10.14 – Qual o tipo de limpeza e desinfecção utilizado nos galpões? \_\_\_\_\_

Qual o produto e concentração utilizados? \_\_\_\_\_

10.15 Qual o tipo de limpeza e desinfecção utilizado nos equipamentos (bebedouro, comedouro, círculos, etc.)? \_\_\_\_\_

Qual o produto e concentração utilizados? \_\_\_\_\_

Há rodízio de princípio ativo? ( ) Sim ( ) Não

Com qual frequência? \_\_\_\_\_

10.16– Há vazio sanitário entre um lote e outro?

( ) Sim Quantos dias? \_\_\_\_\_ ( ) Não

10.17 – Há ventiladores? ( ) Sim ( ) Não

10.18 – Há lanternim no telhado ? ( ) Sim ( ) Não

10.19 - Tipo de telha

( ) Barro ( ) Cimento ( ) Brasilit ( ) Outra \_\_\_\_\_

10.20 – Altura do pé direito: \_\_\_\_\_ m

10.21 – Há histórico de diarreia ?

( ) Sim Há Quanto tempo ? \_\_\_\_\_ ( ) Não

Obs: \_\_\_\_\_

Qual a faixa etária mais afetada (semanas)? \_\_\_\_\_

Em alguma época do ano os problemas de diarreia aparecem com maior frequência?

( ) Sim Qual? \_\_\_\_\_ ( ) Não

Obs: \_\_\_\_\_

Utiliza algum esquema de tratamento (antibióticos, quimioterápicos, etc.) para o controle da diarreia?

( ) Sim Qual? \_\_\_\_\_ ( ) Não

Obs: \_\_\_\_\_

10.22 – Quais os outros problemas enfrentados?

( ) Perda de peso ( ) Perda de uniformidade do lote ( ) Mortalidade alta

( ) Outro \_\_\_\_\_ ( ) Nenhum

10.23 São adicionados antibióticos na ração? Sim ( ) Não ( )

Quais: \_\_\_\_\_

10.24 São adicionados antibióticos na água de bebida? Sim ( ) Não ( )

Quais: \_\_\_\_\_

10.25 – Há moradores ? ( ) Sim Quantos? \_\_\_\_\_ ( ) Não

Quantos têm contato com as aves? \_\_\_\_\_

10.26 – Há controle de roedores ou pássaros?

( ) Sim Qual? \_\_\_\_\_ ( ) Não

## PROTOCOLO DE PREPARO DE MEIOS

### CALDO TIOGLICOLATO

Dissolver 29,8g em 1L de água destilada. Aquecer, agitando freqüentemente e ferver por 1min. Esterilizar a 121 °C por 15min. Estocar o meio preparado entre 15-30 °C.

Se mais de 30% do meio estiver rosado antes de usa-lo, aquece-lo a 100 °C, uma única vez, para eliminar o oxigênio absorvido.

pH final:  $7,1 \pm 0,2$  a 25 °C.

Distribuir 5ml em tubos 18x100.

Distribuir 45ml em erlenmeyer de 125ml.

### MEIO SELETIVO PARA *Campylobacter* spp. COM SUPLEMENTO FBP, ANTIBIOTICOS E 7% DE SANGUE DE CARNEIRO

- AGAR BRUCELLA

Dissolver 43,0g em 1L de água destilada Aquecer, agitando freqüentemente e ferver por 1min. Esterilizar a 121 °C por 15min.

pH final:  $7,0 \pm 0,2$  a 25 °C.

- SUPLEMENTO FBP

Dissolver 625mg de piruvato de sódio em 5ml de água destilada.

Adicionar 625mg de sulfato ferroso e 625mg de metabissulfito de sódio.

Completar o volume ate 10ml de água destilada.

Adicionar 4ml de suplemento FBP para cada 1L de Agar.

OBS: o suplemento FBP e sensível a luz e absorve rapidamente oxigênio.

Somente preparar a quantidade necessária. Frações de 10-25ml podem ser filtradas em membrana 0,22µm. Estocar porções de 5ml a -70 °C. Validade: 3 meses.

- **MISTURA DE ANTIBIOTICOS**

Dissolver 100mg de trimetoprim em 20ml de etanol 100%. Adicionar 200mg de vancomicina, 300mg de cefalotina, 7mg de polimixina B. Completar ate o volume de 100ml com água destilada. Aquecimento suave pode ser necessário para uma completa dissolução. Dispensar em tubos de criopreservacao e congelar a -80 °C.

Adicionar 5ml da mistura de antibiótico para cada 1L de Agar

- **ANTIFUNGICO**

Dissolver 125mg de anfotericina B em 50ml de água. Agitar bem. Completar ate o volume de 100ml. Estocar a -20 °C por ate 1 ano.

Adicionar 4ml da solução antifúngica para cada 1L de Agar.

- **SANGUE DESFIBRINADO DE CARNEIRO**

Acrescentar 70ml de sangue de carneiro desfibrinado e estéril para cada 1L do meio básico com p.H final  $7,2 \pm 0,2$  a 25 °C.

Distribuir 20ml do meio pronto em placas de petri 100x15mm.

## **CALDO BRUCELLA**

Dissolver 28g em 1L de água destilada. Misturar bem. Se necessário, aquecer levemente para dissolver todo o pó. Esterilizar a 121 °C por 15min.

p.H final  $7,0 \pm 0,2$  a 25 °C.

Distribuir 0,7ml em tubos de criopreservacao.

Distribuir 1,0ml em tubos 12x75.

## **AGAR COLUMBIA COM 5% DE SANGUE DE COELHO DESFIBRINADO**

Dissolver 42g em 1L de água desmineralizada. Aquecer, agitando freqüentemente. Esterilizar a 121 °C por 15min. p.H final  $7,3 \pm 0,2$  a 25 °C.

Acrescentar 50ml de sangue de coelho desfibrinado e estéril para cada 1L de meio básico.

Distribuir 20ml do meio pronto em placas de petri 100x15mm.

### **CALDO NITRATO**

Dissolver 9g em 1L de água destilada. Aquecer, agitando freqüentemente. Esterilizar a 121 °C por 15min. p.H final 7,0±0,2.

Distribuir 2ml em tubos 12x75.

### **SOLUCAO DE HIPURATO DE SODIO 1%**

Dissolver 0,1g de hipurato de sódio em 5ml de água destilada. Dissolver bem. Adicionar água destilada até completar o volume de 10ml.

Distribuir 0,4mL em tubos 13x100mm

Prazo de validade -20 °C: 1 mês.

### **SOLUCAO DE NINHIDRINA 3,5%**

Dissolver 350mg de ninhidrina em 5ml de solução 1:1 de acetona e butanol. Dissolver bem. Adicionar a solução 1:1 de acetona e butanol até completar o volume de 10ml.

Distribuir em tubo 18x100.

Armazenar a solução em temperatura ambiente sob proteção da luz.

### **AGAR TSI**

Dissolver 59,4g em 1L de água destilada. Hidratar por 10-15min. Aquecer, agitando freqüentemente e ferver por 1min. Distribuir 3ml por tubo 13x100mm. Esterilizar a 121 °C por 15min. Esfriar em posição inclinada, de modo que o meio no

fundo do tubo alcance uma profundidade de 1,5-2,0cm. Se não for usado no mesmo dia, armazenar de 2-8°C. O meio preparado é válido por 6-8 semanas.

### **AGAR MUELLER HINTON (5% DE SANGUE DE COELHO DESFIBRINADO)**

Dissolver 38g em 1L de água destilada. Hidratar por 10-15min. Aquecer agitando freqüentemente e ferver por 1min. Esterilizar a 121°C por 15min. Esfriar até 45-50°C. Para preparar o agar sangue, adicionar asepticamente 50ml de sangue de coelho desfibrinado estéril para cada 1L do meio.

Distribuir 25ml por placa de petri 15x100mm estéril.

Prazo de validade: 1 semana.

### **CALDO BHI**

Dissolver 37g em 1L de água destilada. Agitar bem. Aquecer agitando freqüentemente. Ferver durante 1min. para dissolver completamente a mistura. Esterilizar a 121°C por 15min.

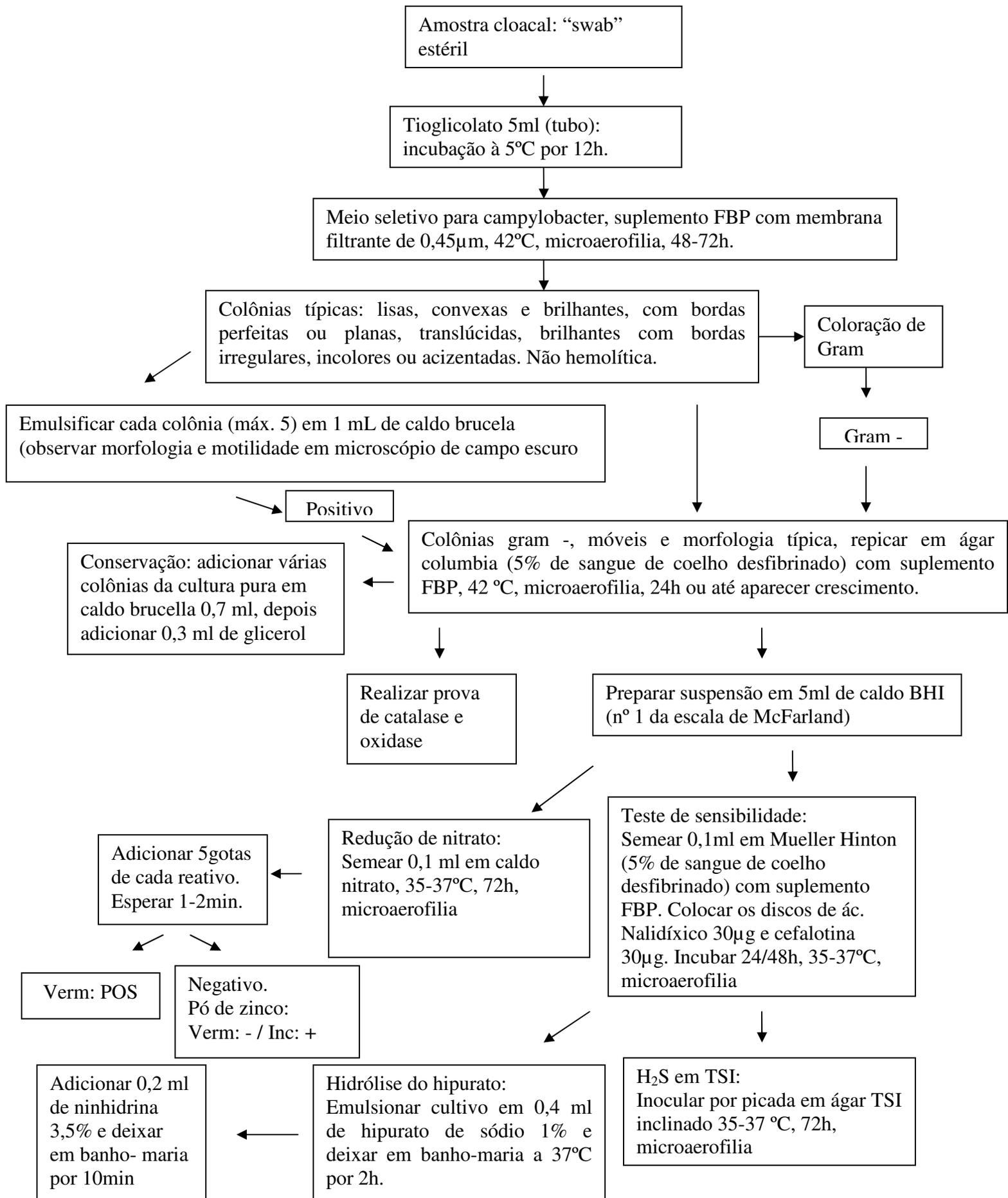
Distribuir 5,0ml em tubos 13x100.

pH final 7,4±0,2.

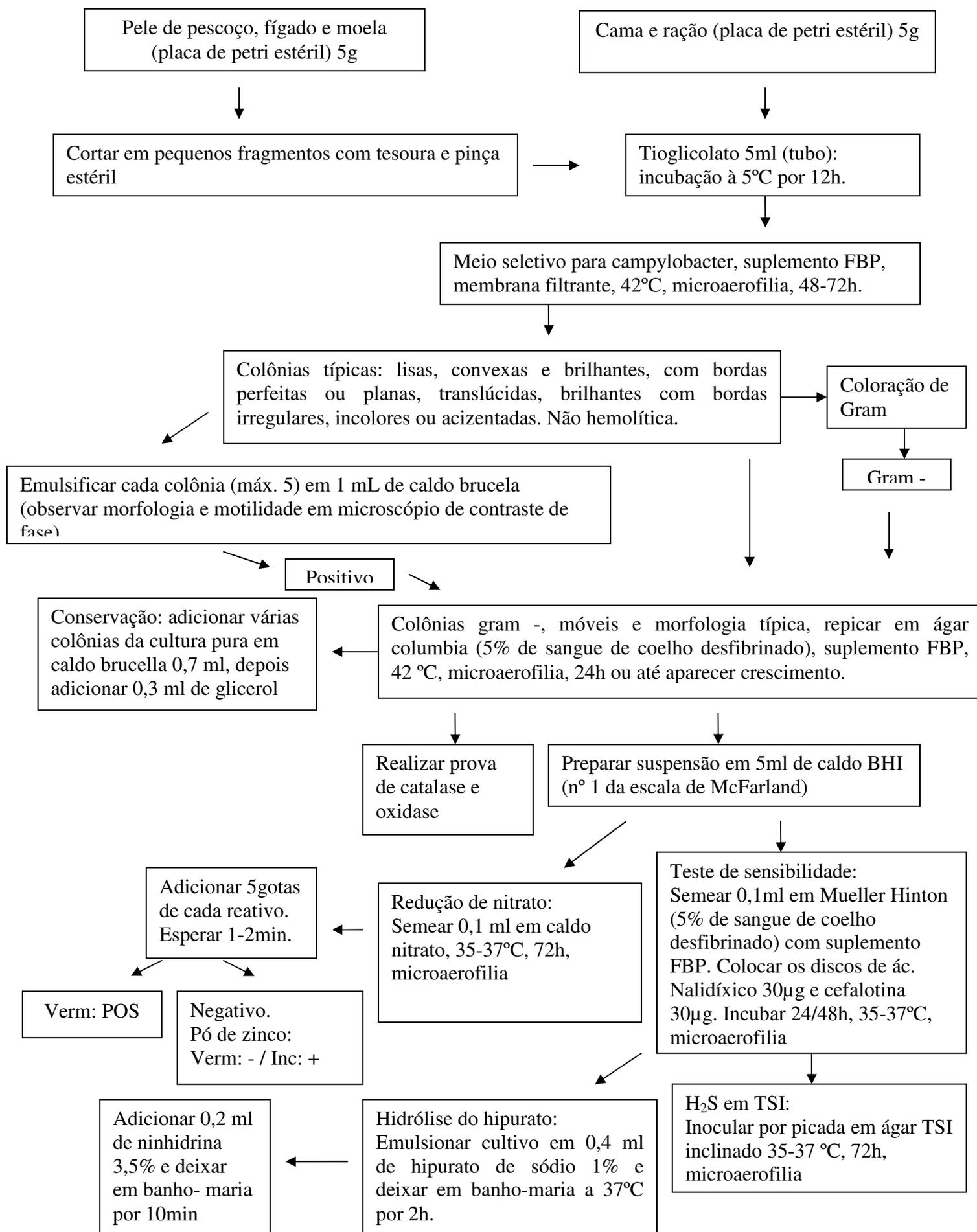
### **AGAR BHI**

Dissolver 47g em 1L de água destilada. Ferver para dissolver completamente o meio. Distribuir 3ml em tubos 13x100. Esterilizar por autoclavagem a 121°C por 15min. Esfriar em posição inclinada.

pH final 7,4±0,2.



ANEXO C - Fluxograma para isolamento e identificação de *Campylobacter spp.* em amostras de pe  
pesçoço, fígado, moela, cama e ração.



ANEXO D – Fluxograma para isolamento e identificação de *Campylobacter spp.* em amostras de água.