

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE *Campylobacter* spp. EM
CARÇAÇAS DE FRANGO E OVOS COMERCIAIS**

Julierme José de Oliveira
Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Cíntia Silva Minafra e Rezende

GOIÂNIA
2014



**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **Dissertação** **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

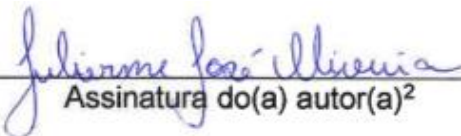
Nome completo do autor: Julierme José de Oliveira

Título do trabalho: ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE *Campylobacter* spp. EM CARCAÇAS DE FRANGO E OVOS COMERCIAIS

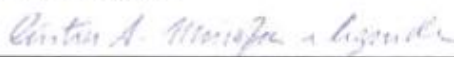
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


 Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:


 Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 09 / 10 / 17

- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

JULIERME JOSÉ DE OLIVEIRA

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE *Campylobacter* spp. EM CARCAÇAS
DE FRANGO E OVOS COMERCIAIS.

Dissertação apresentada para
obtenção do grau de Mestre em Ciência
Animal junto à Escola de Veterinária e
Zootecnia da Universidade Federal de
Goiás.

Área de Concentração:

Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de
Alimento.

Orientadora:

Prof^a. Dr^a Cíntia Silva Minafra e Rezende EVZ-UFG

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Cristiano Sales Prado – EVZ/UFG

Prof. Dr. Clayton Luiz Borges – ICB/UFG

GOIÂNIA

2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

José de Oliveira, Julierme
ISOLAMETO E CARACTERIZAÇÃO DE *Campylobacter* spp. EM
CARCAÇAS DE FRANGO E OVOS COMERCIAIS [manuscrito] /
Julierme José de Oliveira. - 2014.
lxxiii, 73 f.

Orientador: Profa. Dra. Cíntia Silva Minafra e Rezende; co orientador Dr. Cristiano Sales Prado; co-orientador Dr. Clayton Luiz Borges.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2014.

Anexos.

1. alimentos destinados ao consumo. 2. *Campylobacter* termotolerantes. 3. carcaças de frango. 4. multirresistência. 5. ovos comerciais. I. Silva Minafra e Rezende, Cíntia, orient. II. Título.

CDU 664

1 ATA NÚMERO 380 DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO
2 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ESCOLA DE
3 VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS. Às
4 09h00min do dia 26/02/2014, reuniu-se na sala de defesas do Programa de Pós-
5 Graduação em Ciência Animal, a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder
6 ao julgamento da Defesa de Dissertação de Mestrado apresentado (a) pelo (a) Pós-
7 Graduando (a) JULIERME JOSÉ DE OLIVEIRA, intitulada: "Exposição ao risco por
8 Campylobacter spp. em carcaças de frango e ovos comerciais. Isolamento e
9 identificação do perfil de suscetibilidade a antimicrobianos", apresentado para
10 obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, junto à Área de Concentração:
11 Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos, desta Universidade. O
12 Presidente da Comissão Julgadora, Profa. Dra. Cintia Silva Minafra e Rezende,
13 iniciando os trabalhos, concedeu a palavra ao (a) candidato (a) JULIERME JOSÉ DE
14 OLIVEIRA para exposição em quarenta minutos do seu trabalho. A seguir, o senhor
15 Presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os
16 quais passaram a arguir o (a) candidato (a), durante o prazo máximo de vinte
17 minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para responder aos Senhores
18 Examinadores. Ultimada a arguição, que se desenvolveu nos termos regimentais, a
19 Comissão, em sessão secreta, expressou seu julgamento, considerando o (a)
20 candidato (a) **Aprovado (a) ou Reprovado (a):**

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Cintia Silva Minafra e Rezende (Orientador (a))

Profa. Dra. Maria Raquel Hidaigo Campos - FANUT/UFG

Prof. Dr. Moacir Evandro Lage

APROVADO

(A)/REPROVADO(A)

Aprovado

Aprovado

APROVADO

17 Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou o(a) candidato(a)
18 JULIERME JOSÉ DE OLIVEIRA, HABILITADO (Habilitado (a) ou
19 não Habilitado (a)). Nada mais havendo a tratar, eu Profa. Dra. Cintia Silva Minafra
20 e Rezende lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme foi por todos
21 assinada.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Cintia Silva Minafra e Rezende

Profa. Dra. Maria Raquel Hidaigo Campos - FANUT/UFG

Prof. Dr. Moacir Evandro Lage

ASSINATURA

Cintia S. Minafra

Maria Raquel Hidaigo Campos

Moacir E. Lage

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da dissertação:

Isolamento e caracterização de Campylobacter
spp. em carcaças de frangos e ovos comerciais

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora do Perpétuo Socorro por estarem sempre ao meu lado guiando meus passos e por me darem a sabedoria necessária para as escolhas diárias da vida.

Aos meus pais Josué Rufino de Oliveira e Maria Aparecida Cardoso de Oliveira pelo amor, carinho e dedicação dados a mim por todos esses anos e em especial por serem uma fonte inspiradora, exemplo de vida e conduta a serem seguidos.

A minha irmã Katiusce Cardoso de Oliveira pelo companheirismo, confiança e incentivo na realização deste trabalho e de outros que estão por vir. Minha querida irmã, te amo!

A professora e orientadora Cíntia Silva Minafra e Rezende a quem agradeço de coração a compreensão, sabedoria, tempo dispensado e todos os ensinamentos compartilhados, ensinamentos esses que levarei por toda minha vida. Desculpe-me pelas possíveis falhas e saiba que tenho muito orgulho de ter trabalhado ao seu lado. Que venham os próximos desafios.

Agradeço imensamente a Janaina Feistel por ter me auxiliado em todas as etapas do trabalho. Pelos incentivos, por me tranquilizar nos momentos de desespero, pelos finais de semana perdidos e por sempre ser tão solícita e atenciosa. Essa caminhada teria sido bem mais complicada se não estivesse ao meu lado.

A Natalia Menezes minha companheira de projeto. Não é que conseguimos?! Muito obrigado por estar ao meu lado nos momentos de dificuldade, ansiedade, felicidade, coletas intermináveis e em cada etapa de realização deste trabalho. Você foi uma parceira e tanto...conte comigo sempre.

Estendo meus agradecimentos à Marília Cristina, pelo seu altruísmo, humildade e companheirismos. E as novas integrantes Fernanda e Francielle.

A todos os meus amigos e em especial Louise, Rafaela, Isabella, Elcione, Janaína, Ana Luísa meus sinceros agradecimentos, por estarem ao meu lado sempre. Mesmo parecendo clichê, acredito que uma pessoa sem amigos não é ninguém.

Agradecimentos aos funcionários do laboratório de Microbiologia do CPA, em especial a D.Neuzinha que sempre se disponibilizou em auxiliar sempre que necessário.

A todos os professores da Graduação e do Programa de Pós-Graduação da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás o meu sincero agradecimento e admiração.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo financiamento do projeto de pesquisa e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela bolsa de estudos, que oportunizaram o desenvolvimento e realização deste estudo.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1 Objetivo Geral.....	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1 Histórico, taxonomia e nomenclatura.....	4
3.2 Morfologia e motilidade.....	5
3.3 Propriedades bioquímicas e nutrição bacteriana.....	6
3.4 Mecanismo de resposta a ambientes adversos.....	8
3.5 Aspectos epidemiológicos de <i>Campylobacter</i> spp.....	11
3.5.1 Reservatórios e fontes de contaminação.....	13
3.5.2 Campilobacteriose no mundo.....	16
3.5.3 <i>Campylobacter</i> spp. e campilobacteriose no Brasil.....	19
3.6 Patogenia.....	21
3.7 Métodos de detecção de <i>Campylobacter</i> spp.....	22
3.7.1 Isolamento bacteriano convencional.....	24
3.7.2 Ensaio Imunoenzimático miniVIDAS®	26
3.7.3 Sistema API CAMPY.....	28
3.7.4 Teste de suscetibilidade antimicrobiana.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Delineamento experimental.....	30
4.2 Ensaio analíticos.....	30
4.3 Identificação bioquímica e enzimática das colônias sugestivas de <i>Campylobacter</i> spp. pelo sistema API Campy.....	33
4.4 Resistência a antimicrobianos.....	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
6. CONCLUSÕES.....	52
Referências.....	53

RESUMO

As espécies termotolerantes de *Campylobacter* spp. são frequentemente apontadas como o agente etiológico mais comum nos casos de doenças veiculadas por alimentos em diversos países. Ao ser ingerido mesmo em pequenas quantidades (de 400 a 500 células), esse microrganismo, por meio dos mecanismos de patogenicidade, desenvolve gastroenterite infecciosa no hospedeiro, conhecida como campilobacteriose. Esta doença está intimamente relacionada à ingestão e manipulação incorreta de alimentos contaminados, especialmente carne de frango, sendo as aves o principal reservatório. Pouco se sabe sobre o papel desempenhado pelos ovos na transmissão de campilobacteriose, tendo como base o consumo anual dessa matriz alimentar, pesquisas que esclareçam todas as variáveis envolvendo esse alimento são de fundamental importância. Pelo exposto, este estudo teve como objetivo verificar a ocorrência de *Campylobacter* spp., identificar as espécies termotolerantes circulantes na cidade de Goiânia, vinculadas aos estabelecimentos comercializadores de alimentos, relacionados à alta densidade populacional, localizados em distritos comerciais e avaliar o nível de suscetibilidade a antimicrobianos dos isolados de carcaças de frango e ovos provenientes destes estabelecimentos. Um total de 100 carcaças de frango e 100 dúzias de ovos foram avaliados utilizando como triagem o ensaio imunoenzimático miniVIDAS® com posterior isolamento bacteriano das amostras e identificação por meio da biotipificação. Por meio dos métodos empregados observou-se que *Campylobacter* termotolerantes foi identificada em 7% (7/100) das carcaças de frango e em 1% (1/100) das amostras de ovos. A espécie com maior número de isolados foi *Campylobacter jejuni* (50%), seguidos por *Campylobacter coli* (25%) e *Campylobacter lari* (25%). Para a resistência à antimicrobianos os resultados reportaram que 100% dos isolados são resistentes à eritromicina, assim como à ciprofloxacina e tetraciclina. Para ácido nalidixico e ceftriaxona, os valores de resistência foram da ordem de 91,7%. Cloranfenicol foi resistente em 50% dos isolados, apresentou sensibilidade a 33,3% e resistência intermediária a 16,7%. Observou-se ainda que 100% dos isolados apresentaram perfil de multirresistência. Pelos resultados obtidos conclui-se que *Campylobacter* termotolerantes estão presentes em carcaças de frango e ovos comercializados na cidade de Goiânia, cuja distribuição torna-se relevante do ponto de vista da exposição aos consumidores. *Campylobacter jejuni* foi a espécie mais frequente. Os seis distritos pesquisados apresentaram bactérias do gênero pelo menos em um estabelecimento. Os isolados quando pesquisados quanto a resposta a antimicrobianos mostraram-se multirresistentes, denotando a importância desta investigação como forma de respaldar a eleição de bases e princípios para a antibioticoterapia para tratamentos prescritos. Os alimentos avícolas pesquisados neste estudo e considerados positivos para o patógeno constituem risco ao consumidor.

Palavras chave: alimentos destinados ao consumo, *Campylobacter* termotolerantes, carcaças de frango, multirresistência, ovos comerciais.

ABSTRACT

Thermophilic species of *Campylobacter* spp. are often cited as the most common etiologic agent in cases of foodborne illnesses in several countries. When ingested even in small quantities (400 to 500 cells) this organism, through the mechanisms of pathogenicity, the host develops infectious gastroenteritis known as campylobacteriosis. This disease is closely related to the intake and improper handling of contaminated food, especially poultry, and birds the main reservoir of the microorganism. Poor knowledge climbs the role of eggs in the transmission of campylobacteriosis, based on the annual consumption of the food matrix, research clarifying all variables involving this food are essential. This study aimed to verify the occurrence of *Campylobacter* spp., identify thermophilic species involved and assess the level of antimicrobial susceptibility of isolates from chicken carcasses and eggs obtained from commercial establishments in the city of Goiânia. A total of 100 chicken carcasses and 100 dozens of eggs were evaluated using enzyme-linked immunosorbent assay for screening miniVIDAS® with subsequent bacterial isolation and identification of samples by biotyping. By means of the methods employed observed that *Campylobacter* spp. was identified in 7% (7 /100) of chicken carcasses in 1% (1/100) of samples of eggs, 100 % of these were confirmed as belonging to the bacterial genus. The species with the highest number of isolates were *Campylobacter jejuni* (50 %), followed by *Campylobacter coli* (25 %) and *Campylobacter lari* (25 %). For antimicrobial resistance results were that 100% of the isolates were resistant to erythromycin, as well as ciprofloxacin and tetracyclines. For ceftriaxone and nalidixic acid resistance values were 91.7 % resistant. Chloramphenicol was 50% of resistant isolates, showed 33.3% sensitivity and 16.7% intermediate resistance. It was also observed that 100% of the isolates showed multidrug profile. Through the results obtained it is concluded that thermophilic *Campylobacter* are present in chicken carcasses and marketed in Goiânia eggs, whose distribution becomes relevant from the point of view of exposure to consumers. *Campylobacter jejuni* was the most frequent species. The six districts surveyed had bacteria of the genus in at least one category. Isolates when screened for response to antimicrobial proved multiresistant, denoting the importance of research as a way to support the election of bases and principles for the antibiotic treatment prescribed treatments. Poultry foods surveyed in this study and considered positive for the pathogen constitute risk to the consumer.

Keywords: broiler, commercial eggs, food for consumption, multidrug resistance, thermophilic *Campylobacter*.

1. INTRODUÇÃO

Internacionalmente o Brasil é conhecido pelo grande volume de produção de alimentos de origem animal e pela grande capacidade de industrialização dos mesmos. Dentre esses, os produtos de origem avícola estão entre os destaques de produção. No ano de 2012, a produção mundial de carne de carne de frango foi de 82.317 milhões toneladas, deste total o Brasil ocupou o terceiro lugar em produção gerando 12.645 milhões toneladas. O estado de Goiás, no mesmo ano, foi o quinto produtor do país, produzindo 205.288 mil toneladas de carne de frango, representando 5,24% da produção nacional destinada tanto para mercado interno, quanto para a exportação (UBABEF, 2013).

A produção de ovos, no ano de 2012, foi de 31.775.108.157 unidades, sendo que 99% foram destinados ao mercado interno. Da produção total, o estado de Goiás ocupou a posição de oitavo maior produtor nacional, sendo responsável por 4,35% da produção nacional (UBABEF, 2013).

Tendo como base o volume de produção anual e os mercados atendidos que cada vez exigem maior comprovação da seguridade dos alimentos, os sistemas de vigilância epidemiológica de diversos países buscam medidas de contenção que visam diminuir os casos de doenças veiculadas por alimentos.

Nos Estados Unidos, acredita-se que um em cada seis americanos sofra de doenças veiculadas por alimentos (DVA), anualmente. Estima-se que 48 milhões de pessoas adoecem, 128.000 são hospitalizadas e 3.000 morrem em decorrência de DVA's (CDC, 2011).

No Brasil, entre os anos de 2000 e 2011 foram notificados 8.663 surtos de doenças veiculadas por alimentos, com 163.425 pessoas doentes e 112 óbitos (BRASIL, 2012), no entanto acredita-se que os dados mencionados estão subestimados pelas deficiências identificadas nos sistemas de investigação.

Em diversos países, assim como no Brasil, os registros de prevalência e ocorrência de DVA causadas por *Campylobacter* spp. tem índices variáveis de acordo com a região. Quando se é avaliada a situação do estado de Goiás quanto a inexistência de casos registrados as autoridades responsáveis reconhecem que os dados oficiais não representam a atual situação, pois ações epidemiológicas efetivas foram implantadas apenas do ano de 2011 e o número de municípios

silenciosos e subnotificações é significativo (SINAN/GVEDT/SUVISA/SES-GO, 2012).

Dentre os patógenos causadores de DVA, *Campylobacter* termotolerantes ocupam lugar de destaque, sendo os produtos de origem avícola, dentre eles a carne de frango, a principal matriz alimentar veiculadora (CDC, 2011; EFSA, 2012). A transmissão de campilobacteriose pelo consumo de ovos é raramente estudada, mesmo assim mostra-se de grande importância uma vez que tem papel significativo dentre os produtos avícolas (SILVA et al., 2007).

As espécies termotolerantes de *Campylobacter*, principalmente *C. jejuni* e *C. coli* são reconhecidamente uma das causas mais comuns de gastroenterites de origem alimentar em humanos. De acordo com relatórios da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), em toda a União Europeia das doenças de origem alimentar mais comum é a campilobacteriose com 198.252 casos e taxa de notificação de 45,57 por 100.000 habitantes em 2009 (WIECZOREK et al., 2013).

Este estudo teve como objetivo identificar, caracterizar as espécies e determinar o perfil de suscetibilidade de isolados de *Campylobacter* termotolerantes oriundos de carcaças de frangos e ovos adquiridos em estabelecimentos do comércio varejista do município de Goiânia.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Caracterizar *Campylobacter* spp. em carcaças de frango e ovos comercializados no município de Goiânia.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar a frequência de isolamento de *Campylobacter* termotolerantes nas matrizes alimentares avaliadas.
- Realizar identificação das espécies termotolerantes.
- Identificar o perfil de suscetibilidade dos isolados frente aos agentes antimicrobianos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Histórico, taxonomia e nomenclatura

Desde os primeiros anos do século XX, *Campylobacter* spp. é associada à clínica médica veterinária, sendo denominada nessa época como *Vibrio fetus*, estando relacionado a enfermidades que causavam abortos em vacas e ovelhas. No ano de 1931, foi descrita a espécie *Vibrio jejuni*, causadora da diarreia de inverno em bezerros e, em 1946, foram isoladas bactérias semelhantes oriundas de pacientes com diarreia aguda transmitida pelo consumo de leite contaminado (ADAMS et al., 1997; JAY, 2005).

A primeira proposta para criação do gênero *Campylobacter* spp. ocorreu no ano de 1963, por Sebald e Véron e foi baseada no fato de que as bactérias isoladas anteriormente possuíam perfis bioquímicos e sorológicos próprios e que distinguiam dos microrganismos pertencentes ao gênero *Vibrio* spp. (ADAMS et al., 1997; BUTZLER, 2004).

Na década de 70, com a determinação de meios seletivos apropriados e aperfeiçoamento dos procedimentos para isolamento de microrganismos termotolerantes, foi possível isolar *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* oriundos de fezes humanas, associando esses microrganismos como um dos principais causadores de diarreia infecciosa em humanos (ADAMS et al., 1997; BUTZLER, 2004; MOORE et al., 2002).

As obras de BUTZLER et al. (1973) e SKIRROW et al. (1977) foram precursoras na demonstração da importância de *Campylobacter* spp. como causas de doença gastrointestinal aguda iniciando uma série de estudos de investigação que percorrem até os dias atuais.

Com os avanços das pesquisas que sugeriam isolamento de bactérias do gênero *Campylobacter*, percebeu-se que as inúmeras novas espécies que vinham sendo descobertas não poderiam ser classificadas em um único gênero bacteriano, por apresentarem grande heterogeneidade na comparação das sequências de rRNA 16S. Baseado em tal descoberta as espécies foram reclassificadas em gêneros *Campylobacter*, *Helicobacter* e *Arcobacter* (VANDAMME et al., 1991).

Baseada nas relações filogenéticas existentes, os gêneros *Campylobacter*, e *Helicobacter* são pertencentes à mesma superfamília de rRNA (RNA IV), constituída por bacilos Gram-negativos espiralados com baixa relação de bases guanina/citosina do DNA, incapacidade de fermentar ou oxidar carboidratos e necessidade de ambiente microaerófilo para crescimento (MURRAY et al., 2009).

Atualmente são descritas mais de 25 espécies pertencentes ao gênero *Campylobacter* (JANEZ et al., 2013), sendo as espécies termotolerantes as mais importantes relacionadas a alimentos, por serem as principais causadoras de gastroenterites em humanos, sendo elas *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter upsaliensis* (EFSA, 2012).

3.2 Morfologia e motilidade

As espécies do gênero *Campylobacter* (do grego: *Kampulos*, encurvado; *bacter*, bactéria) são de natureza zoonótica e constituídas de bacilos Gram-negativos curvos, em forma de S ou espiralados, medindo 0,2 a 0,9 μ m de largura e 0,5-5 μ m de comprimento. Não são bactérias formadoras de esporos, sendo móveis por flagelação monotríquea ou anfitríquea (FERNANDEZ, 2008).

As bactérias pertencentes ao gênero *Campylobacter* possuem estrutura típica de parede celular de microrganismo Gram-negativo. O tamanho pequeno dos microrganismos também tem sido utilizado para isolar as bactérias por meio de filtração de amostras de fezes, uma vez que as espécies desse gênero passam através de filtros de 0,45 μ m, enquanto outras bactérias ficam retidas (MURRAY et al., 2009).

Juntamente com a capacidade de adesão à células, invasão e sobrevivência em células hospedeiras, bem como a capacidade de produzir toxinas, a motilidade (mediada pelos genes *flaA* e *flhA*) ocupa lugar de destaque entre os fatores de virulência, justamente por permitir por meio dos movimentos flagelares, a colonização, adesão e invasão das células intestinais (FERNANDES et al., 2010).

Estudos que avaliam cepas de *Campylobacter* spp. mutantes revelam que quando um dos fatores de virulência é suprimido, normalmente essas bactérias perdem sua capacidade infecciosa, como mostra o estudo realizado por GUERRY (2007), que conclui que mutantes de *C. jejuni* com ausência ou com formação

incompleta de flagelo perdiam a capacidade de colonização do trato gastrointestinal. Conclusão semelhante obteve ZIPRIN et al. (2013) ao relatar que bactérias que não expressavam o gene associado à invasão CIAB não eram capazes de colonizar o ceco de aves.

Quando induzida por fatores estressantes como a escassez de nutrientes, dentre outros fatores desfavoráveis, *Campylobacter* spp. pode passar da forma de bacilo em espiral para forma cocóide. Esta forma é denominada viável não cultivável (VNC) que representa uma estratégia de sobrevivência por parte desses microrganismos (ROLLINS et al., 1986; JAY, 2005).

3.3 Propriedades bioquímicas e nutrição bacteriana

A determinação das características fenotípicas de *Campylobacter* spp. são de fundamental importância para identificação do patógeno, porém, sabe-se que para as bactérias desse gênero as propriedades bioquímicas utilizadas na caracterização de estirpes sofrem variações, tornando os resultados dos testes bioquímicos inconsistentes em alguns casos (ON et al., 1996).

Ainda segundo ON et al. (1996), o número reduzido de testes bioquímicos empregados para esse gênero bacteriano dificulta a correta identificação das espécies em amostras clínicas e alimentares, já que este microrganismo não consome carboidratos e não é reativo a muitas outras provas bioquímicas comumente aplicadas a outros microrganismos.

Todas as espécies desse gênero são oxidase-positivas e incapazes de fermentar ou oxidar os hidratos de carbono, obtendo sua energia de aminoácidos ou intermediários do ciclo dos ácidos tricarbóxicos que não sejam derivados de hidratos de carbono (FERNANDEZ, 2008), não possuem capacidade de metabolizar lipídeos e possuem uma série de limitações na realização de processos de biossíntese (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

Como consequência da incapacidade de metabolizar carboidratos *Campylobacter* necessita de aminoácidos livres específicos, alguns ácidos orgânicos e intermediários do ciclo dos ácidos tricarbóxicos para manter seus processos metabólicos (KELLY, 2005; LEE et al., 2006; HOFREUTER et al., 2008).

O principal e mais importante aminoácido livre utilizado por *Campylobacter* spp. é o L- serina, uma vez que o microrganismo faz uso da enzima desaminase presente para a conversão de serina em piruvato e amônia. O piruvato gerado será utilizado pelo microrganismo por meio do ciclo do ácido cítrico (VELAYUDHAN et al., 2004).

As espécies de *Campylobacter* termotolerantes são oxidase positivas, algumas são catalase negativas como *C. upsaliensis* e outras são catalase positivas como, por exemplo, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter lari* (JAY, 2005). Além dessas características, *C.coli*, *C.jejuni* e *C.lari* são capazes de reduzir nitrato a nitrito, fumarato e selenito e é indol negativa (DEBRUYNE et al., 2008).

Campylobacter lari é resistente ao ácido nalidíxico, divergindo de *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*. Uma prova bioquímica que torna possível a diferenciação entre *C.coli* e *C.jejuni* é a capacidade de hidrólise de hipurato onde apenas o primeiro é capaz de tal reação (ADAMS et al., 1997).

Dentre os testes bioquímicos empregados, o proposto pela ISO 10.272 (2006) é um dos frequentemente utilizados e se baseia na diferenciação das espécies *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter lari* por meio dos resultados obtidos nas reações de hidrólise do hipurato. A viabilidade do teste aplica-se uma vez que apenas *Campylobacter jejuni* é capaz de hidrolisar o hipurato.

Relatos comprovaram que existem algumas cepas de *Campylobacter jejuni* que não expressam essa característica ou reagem em menor grau a esse teste, o que levaria a uma incorreta identificação da espécie bacteriana (STEINHAUSEROVA et al., 2001; CANER et al., 2008).

Ainda segundo definição da ISO 10.272 (2006), o teste de resistência ao ácido nalidíxico deve ser empregado em conjunto com o teste de hidrólise do hipurato, pois dentre as três espécies bacterianas diferenciadas apenas *Campylobacter lari* deveria apresentar-se resistente a essa base quimioterápica, porém já existem relatos datados da década de 90 que provam a existência de cepas de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* também resistentes à essa base (GOMES et al., 2002).

Quanto ao teste de urease, os primeiros relatos afirmavam que as espécies pertencentes ao gênero *Campylobacter* apresentavam reação negativa a este teste, porém no ano de 1988 já havia sido relatado à presença de termotolerantes atípicos que resultavam positivos ao teste de urease e posteriormente foram identificados como variantes bioquímicos de *Campylobacter lari* (BOLTON et al., 1984; MÉGRAUD et al., 1988).

Alem do método descrito pela ISO 10.272 (2006), outros métodos de caracterização fenotípica são frequentemente utilizados em pesquisas, sendo os principais o método de LIOR (1984), sistema de Preston (Bolton et al., 1984) e sistema API-Campy (bioMérieux®, 2010).

3.4 Mecanismo de resposta a ambientes adversos

Patógenos entéricos são confrontados por uma série de fatores estressantes durante a permanência em seus hospedeiros naturais e principalmente quando expostos a condições ambientais. Portanto, um patógeno ter a capacidade de adaptação ao ambiente desfavorável a qual provavelmente será exposto é de fundamental importância para sua sobrevivência (MIHALJEVIC et al., 2007).

As bactérias do gênero *Campylobacter* durante toda a cadeia de transmissão enfrentam condições desfavoráveis para sua perpetuação. Quando comparada a outros patógenos entéricos, *Campylobacter* spp. é particularmente mais frágil e muito sensível a pressões ambientais, dificultando em grande escala sua reprodutibilidade fora do hospedeiro (MURPHY et al., 2006).

São características da fragilidade de *Campylobacter* spp. a incapacidade de sobrevivência à exposição a raios UVB, pressão hidrostática, condições inadequadas de pH, incapacidade de resposta ao estresse oxidativo pela ausência de expressão dos genes SoxRS e OxyR, não possuir resposta à pressão osmótica, ausência da principal proteína de defesa de choque frio (CspA), incapacidade de resposta ao choque quente pela ausência de RpoH, e incapacidade de permanecer em fase estacionária, uma vez que o gene responsável rpoS não é expresso (PARK, 2002; MIHALJEVIC et al., 2007).

Em contradição às características que tornam *Campylobacter* termotolerantes bactérias frágeis e de difícil sobrevivência em ambientes

adversos, esse microrganismo é reconhecidamente uma das principais causas de infecções de origem alimentar, sendo nítida a capacidade desse de sobreviver e persistir na cadeia alimentar, provavelmente pela capacidade de desenvolvimento de resposta adaptativa ao meio (MURPHY et al., 2003). A capacidade adquirida de adaptação a condições estressantes ou ambientes desfavoráveis é conhecida como resposta adaptativa que pode ser específica ou múltipla (XU et al., 2008).

Um dos fatores preponderantes que permitem que microrganismos como *Campylobacter* spp. desenvolva respostas adaptativas à condições fastidiosas é a multiplicidade genotípica, dessa maneira, podem variar sua capacidade de resistir a condições desfavoráveis impostas durante qualquer etapa da cadeia de transmissão, como pH inadequado, exposição ao oxigênio e temperaturas extremas (TAKAHASHI et al., 2006; KLEIN et al., 2007; HABIB et al., 2010).

Um mecanismo de evasão às condições adversas desenvolvido por *Campylobacter* termotolerante é a formação de biofilmes. O biofilme é formado quando bactérias desenvolvem forte adesão com determinada superfície por meio de filamentos, o que permite ao patógeno sobreviver por período prolongado de tempo mesmo exposto a condições desfavoráveis, já que as bactérias nessas condições são muito mais resistentes do que as que se encontram livres na superfície (BAPTISTA, 2003; KUDIRKIENE et al., 2011).

Comum a bactérias Gram-negativas, as chaperones que são proteínas auxiliares, desempenham importante papel na resposta a condições adversas, principalmente em bactérias do gênero *Campylobacter*. Essas chaperones fazem com que mesmo em condições estressantes as proteínas periplasmáticas mantenham seu estado original evitando assim a ocorrência de injúrias celulares (BAEK, 2011).

O fato dos relatos de possíveis causas para o número elevado de casos de campilobacteriose apresentarem grande variabilidade, são consequência da atual dificuldade em traçar as fontes de infecção desse patógeno. Dentre tais fatores, está a capacidade de mutação de *Campylobacter* termotolerante da sua forma original espiralada ou encurvada, para uma forma cocóide viável mas não cultivável (DYKES et al., 2003).

O estado viável não cultivável (VNC) de *Campylobacter* spp. foi descrito pela primeira vez no ano de 1986 pelos pesquisadores Rollins e Colwell, que

concluíram por meio de pesquisas que as bactérias que se encontravam no estado VNC não poderiam ser detectadas por métodos de cultura usando meios convencionais, porém apresentariam estado potencialmente patogênico em condições favoráveis (FEDERIGHI et al., 1998).

Em estudo CHAISOWWONG et al. (2012) concluíram que as bactérias mesmo em estado VNC são capazes de expressar genes de virulência, sendo assim, o patógeno mantém sua característica de patogenicidade tendo total condições de por exemplo invadir células epiteliais intestinais humanas.

No gênero *Campylobacter* as bactérias responsáveis por ocasionar doenças em humanos são as pertencentes ao grupo termotolerante, essas espécies bacterianas são capazes de crescer em temperaturas que vão dos 30°C aos 47°C, tendo como ótima temperatura de crescimento 42°C (ISOHANNI et al., 2013).

Mesmo a bactéria não podendo se multiplicar em temperaturas extremas, a doença decorrente, campilobacteriose, normalmente é associada ao consumo de alimentos que foram submetidos a baixas temperaturas no processo de estocagem e a elevadas temperaturas no processo de cozimento, sendo assim fica claro o potencial de *Campylobacter* termotolerante de sobreviver a condições não favoráveis de temperaturas (EIDEH & AL-QADIRI, 2011).

Uma das possíveis causas que desencadeiam a ocorrência de espécies de *Campylobacter* termotolerantes resistentes é a exposição dessas ao chamado estresse sub-letal de temperatura, onde após as bactérias serem submetidas a temperaturas fora do seu limiar ótimo de crescimento, porém, que não são capazes de inativar a atividade metabólica celular, o que resulta na expressão de genes que regulam a resposta a esse fator estressante (ISOHANNI et al., 2013).

A explicação para tal fenômeno esta no fato de que após serem expostas a temperaturas adversas e/ou exposição a choque térmico, as bactérias têm seu crescimento temporariamente interrompido, seguido por um processo de recuperação intracelular, permitindo assim que as bactérias reorganizem sua expressão gênica se adaptando a temperatura de um novo ambiente de crescimento (MIHALJEVIC et al., 2007)

BIRK et al. (2004) relataram que durante refrigeração a carne de frango, pele e o suco cárneo produzido criam condições favoráveis na manutenção de

principalmente *Campylobacter jejuni*, evidenciando que os componentes presentes nos meios citados influenciam a adaptação dessa espécie à baixas temperaturas.

Uma estratégia de contenção do patógeno frequentemente relatada é a de congelamento de carcaças, porém, se forem submetidas a congelamento rápido as células bacterianas podem permanecer viáveis por vários dias (FRANCO & LANDGRAF, 2008). A afirmação anterior pode ser comprovada por EL-SHIBINY et al. (2009) que isolaram *Campylobacter coli* e *Campylobacter jejuni* viáveis em quantidades consideráveis, da pele de carcaças de frango congeladas até oito dias.

Outro fator que contribui para o número crescente de casos de campilobacteriose é a resistência adquirida pelos patógenos aos biocidas empregados nos procedimentos de limpeza industriais. Áreas internas e externas de abatedouros, com condições ambientais adversas impõem a seleção de microorganismos que criam mecanismos de evasão aos procedimentos de higienização, permanecendo ativos e com capacidade de contaminação (PEYRAT et al., 2008; KUDIRKIENE et al., 2011).

Além da multiplicidade genotípica de *Campylobacter* termotolerante, outro fator que normalmente desencadeia a resistência a desinfetantes é a utilização de doses insuficientes desses biocidas diminuindo sua eficácia de ação e criando uma condição de stress sub-letal resultando na adaptação de bactérias inicialmente sensíveis (MAVRI et al., 2013).

3.5 Aspectos epidemiológicos de *Campylobacter* spp.

Campilobacteriose tem sido reportada, em países em desenvolvimento e desenvolvidos, como a de maior ocorrência e principal doença gastroentérica que acomete seres humanos, com índices crescentes e cada vez mais relevantes (SCALLAN et al., 2011; SAXENA et al., 2013; MACRITCHIE et al., 2014).

As espécies do gênero *Campylobacter* causadoras de gastroenterite, são as espécies termotolerantes. Dentre elas as espécies *Campylobacter jejuni* (80%-90%) e *Campylobacter coli*. são as que ocorrem com maior frequência e com

menor frequência *Campylobacter lari* e *Campylobacter upsaliensis* (CDC, 2010; SILVA et al., 2011; CDC, 2013; JANES et al., 2013).

Relatos da EFSA (2012), que avaliaram as espécies de *Campylobacter* termotolerantes isoladas em produtos avícolas, comprovam o fato de *Campylobacter jejuni* ser a principal causadora de gastroenterite em humanos, uma vez que 34,2% dos isolados correspondiam a essa espécie, em 27.3% dos isolados a espécie detectada foi de *Campylobacter coli* e 0,2% *Campylobacter lari*. Em 38,7% dos isolados apenas foi possível a determinação do gênero *Campylobacter* spp.

Os casos de campilobacteriose são de caráter esporádico e possuem índices de ocorrência variáveis de acordo com cada região, entretanto têm sido mais comum e frequente os registros oficiais de surtos dessa enfermidade (EFSA, 2011; CALCIATI et al., 2012).

São conhecidos como mais suscetíveis à campilobacteriose, mulheres grávidas, crianças, idosos e imunocomprometidos (LITTLE et al., 2012). Normalmente os picos de notificações de campilobacteriose ocorrem nos meses mais quentes do ano, deixando clara a influência da sazonalidade em países de clima definido, na ocorrência da enfermidade (EFSA, 2012; KOVALENKO et al., 2013).

Para HUE et al. (2011), a influência direta dos períodos quentes do ano no aumento de taxa de prevalência de *Campylobacter* termotolerantes deve-se ao fato desses períodos exigirem um aumento na taxa de ventilação dos galpões, o que aumentaria o contato das aves com a ar circulante, e ainda por nesses períodos ser característico o aumento de vetores mecânicos circulantes no ambiente de criação.

No Brasil, assim como em outros países em desenvolvimento, não existem modelos oficiais de avaliação de risco de *Campylobacter* termotolerantes que considerem as condições de armazenamento, distribuição e padrões de consumo de alimentos de origem animal envolvidos como veiculadores de campilobacteriose, o que dificulta implementação de medidas para controle do risco de se adquirir tal enfermidade.

3.5.1 Reservatórios e fontes de contaminação

Por existir a possibilidade de existência em diferentes ambientes, as bactérias do gênero *Campylobacter* são consideradas microrganismos ubiqüitários. *Campylobacter* coloniza o trato gastrointestinal de uma vasta gama de animais selvagens e domésticos, tais como faisão, frango, peru e suínos (NOBILE et al., 2013). Porém, segundo a literatura o principal reservatório são as aves, onde coloniza o trato gastrointestinal desses animais de modo a estabelecer uma relação comensal, já que não estimula a resposta imune nos hospedeiros (ADAMS et al., 1997; KURDIKIENE et al., 2011; GHARST et al., 2013).

Diversos estudos apontam que a prevalência de *Campylobacter* termotolerantes em diversos pontos da cadeia de produção avícola é significativa. Em diversos países da Europa, a prevalência desse microrganismo no ambiente de criação pode chegar a 100% (REICH et al., 2008). Em avaliação do conteúdo cecal de aves abatidas na França no ano de 2009, constatou-se que 94,4% das amostras foram positivas para *Campylobacter* spp. (MALHER et al., 2011).

Relatos divulgados pela EFSA (2012), mostram que a prevalência de *Campylobacter* spp. em carcaças de frango refrigeradas pode chegar a 75%, índice esse diretamente relacionado com medidas de biossegurança adotadas pelas granjas.

A infecção no ser humano pode ocorrer por via orofecal pela ingestão de água e alimentos contaminados, ou pelo contato direto com animais e portadores (FERNANDEZ, 2008).

Os alimentos que podem ser considerados como fontes de infecção para humanos são carnes mal cozidas ou crua de aves (FRIEDMAN et al., 2004), bovinos, suínos (MURRAY et al., 2009) e leite cru não pasteurizado (SILVA et al., 2011; TAYLOR et al., 2013).

Dentre as fontes alimentares, acredita-se que o consumo de carne de aves é a principal envolvida nos casos de campilobacteriose (EFSA, 2006; FAO/WHO, 2009(b); CALCIATI et al., 2012; MEREDITH et al., 2013). No entanto, a epidemiologia da campilobacteriose não foi totalmente esclarecida, com alguns fatores ainda desconhecidos, como por exemplo, se o consumo de ovos

comerciais representam risco de infecção para os seres humanos (PAULA et al., 2009).

Uma das mais importantes ferramentas para conhecimento da distribuição de *Campylobacter* spp. é a prevalência, onde por meio dessa destaca-se a importância da implementação de medidas de controle e análise de risco em toda a cadeia produtora avícola (HUE et al., 2011)

FREDIANI-WOLF & STEPHAN (2003) na Suíça, avaliaram 21 lotes de frangos e encontraram prevalência de 24,3% de *Campylobacter* spp. para o período compreendido entre janeiro a outubro de 2001. No mesmo ano, 35% dos frangos oriundos de abatedouros dinamarqueses estavam contaminados por bactérias do gênero, conforme descrições de ROSENQUIST et al. (2006).

No Japão, foram avaliadas excretas de aves em período de terminação, do total de amostras 56,6% mostraram-se positivas para alguma bactéria pertencente ao gênero *Campylobacter*, o que denota a presença de maneira comensal da bactéria no trato gastrointestinal das aves. Ainda em referência ao mesmo estudo, foi avaliada a presença de *Campylobacter* spp. nas carcaças após todas as etapas de abate, a incidência foi de 44,2% (TAKAHASHI et al., 2006).

Na Lituânia foi avaliado a prevalência de *Campylobacter* spp em frangos durante todo o período que permanecessem na granja. Durante os dias 1, 15 e 24 de criação não houveram resultados positivos, porém nas amostras coletadas no dia 35 a prevalência encontrada foi de 93,3% (KUDIRKIENE et al., 2011). Tal achado pode ser explicado pelo fato de que, no momento em que um lote é infectado, rapidamente a bactéria se espalha, resultando em uma taxa de contaminação final próxima de 100% (ELLERBROEK et al., 2010).

Outro estudo realizado na França, avaliou a prevalência de *Campylobacter* spp. em cecos e carcaças de frango abatidos em abatedouros distintos, por um período de 12 meses, onde para cecos a prevalência encontrada foi de 77,2% e em carcaças de 87,5% (HUE et al., 2011).

Estudo realizado por CHRISTENSEN et al. (2013), propôs avaliar o grau de seguridade de lotes de carcaças de frango consumidas no território dinamarquês entre os anos de 2007 a 2010. Dos lotes de carcaças oriundas da Dinamarca, 0,3% a 1,0% foram consideradas não seguras, por apresentarem níveis significativos de contaminação por *Campylobacter* spp., em contrapartida os lotes

de carcaças de frango oriundos de outros países alcançaram níveis de insegurança que variaram de 0,2% a 7,7%.

Em levantamento realizado pela EFSA (2012), o número de amostras de carne de frango positivos para *Campylobacter* spp. variou muito entre os estados membros da União Européia, com índices de prevalência que iam de 3,1% a 90%, evidenciando que as alterações climáticas, regionais e as práticas de manejo interferem diretamente nos registros de contaminação.

Ainda sobre a influência da sazonalidade, na França um estudo revelou que a prevalência de *Campylobacter* spp. atingiu pico nas estações de verão e primavera, estações caracteristicamente mais quentes do ano nesse país (MALHER et al., 2011).

No ano de 2005, foi divulgado relatório sobre tendências e origem das zoonoses na União Européia, e um dos dados fornecidos foi a prevalência de *Campylobacter* spp. nas aves dos estados membros da UE. As menores prevalências foram encontradas na Finlândia (1,0%), Noruega (3,4%) e na Suécia (13,3%), enquanto as maiores prevalências foram observadas na França (85,2%), na Alemanha (50,4%) e na Itália (45,3%) (EFSA, 2006).

Espécies termotolerantes de *Campylobacter* têm como uma de suas principais características a capacidade de sobrevivência na pele do frango e nos folículos das penas, o que contribui para a elevada taxa de incidência nos produtos avícolas (DAVIS & CONNER, 2007).

Estudo realizado na Bélgica, que propôs avaliar o grau de contaminação na pele de carcaças de frango após as operações de abate, revelou que 92,9% das carcaças apresentavam considerável contaminação, principalmente na pele da região do peito e coxas (BARÉ et al., 2013).

O nível de contaminação das carcaças após o processamento está diretamente ligado à presença do agente no trato gastrointestinal dos animais, sendo assim fatores referentes à transporte das aves, depena, escalda, evisceração e outras etapas de processamento são fatores determinantes na contaminação (MIWA et al., 2003; GHAFIR et al., 2007; SON et al., 2007; PEYRAT et al., 2008; FAO/WHO, 2009 (b); HUE et al., 2011; KOVALENKO et al., 2013).

Cuidados no ambiente de criação são essenciais para diminuir os níveis de contaminação nas carcaças pós-processamento. Ações como seguir corretamente o período de vazio sanitário e desinfecção dos galpões de criação, existência de pedilúvios, telas de vedação de janelas e entradas de ar, tratamento de água fornecida para os animais, cuidado com estocagem da alimentação, período de permanência dos animais nas granjas e controle de vetores, são de suma importância na obtenção de lotes de aves com menor grau de contaminação do patógeno em seu trato gastrointestinal (SOMMER et al., 2013; MACRITCHIE et al., 2014).

3.5.2 Campilobacteriose no mundo

A campilobacteriose é uma infecção de caráter zoonótico, de distribuição mundial, isso faz com que na maior parte do mundo ocorram notáveis problemas de saúde pública, com consideráveis implicações sócio-econômicas. Mesmo em nações industrializadas e desenvolvidas, tem se mostrado uma doença altamente prevalente (GHARST et al., 2013).

Segundo relatório divulgado pelo Centro de Controle e Prevenções de Doenças (CDC), nos Estados Unidos no ano de 2012, *Campylobacter* spp. foi responsável por 35% das infecções bacterianas que ocorreram nesse país (CDC, 2013). O déficit econômico gerado pela campilobacteriose por ano nos Estados Unidos é de aproximadamente 1,2 bilhões de dólares (HOFFMANN et al., 2012).

Nos países membros da União Européia, a campilobacteriose está entre as principais doenças de origem alimentar relatadas pelos sistemas de vigilância epidemiológica, tendo o consumo de carne de frango contaminada como principal veiculador da enfermidade. Anualmente o total gasto com a enfermidade é de € 2,4 bilhões (EFSA, 2011; EFSA, 2012).

Contraditoriamente a realidade dos países do continente Europeu, a Polônia do ano de 2009 apresentou taxa de incidência 0,94 com 357 casos confirmados. Um dos fatores preponderantes para tais valores é o clima predominantemente frio no país (WIECZOREK et al., 2013).

Em muitos países, principalmente os em desenvolvimento, as informações sobre doenças transmitidas por alimentos são escassas devido aos dados

inadequados fornecidos pelos sistemas de vigilância, além disso as notificações de surtos são frequentemente inconsistentes pois as autoridades em saúde não possuem capacidade e recursos necessários para a detecção de doenças diarréicas (SIGNORINI et al., 2013). Outro fator que contribui para as subnotificações é o fato de que campilobacteriose é uma doença de natureza auto-limitante, que se apresenta como gastroenterite aguda com sintomas durando em média seis dias (MAN, 2011).

Em alguns países os surtos de campilobacteriose são notificados há algumas décadas. No Canadá, onde *Campylobacter* termotolerantes são reconhecidos como um dos principais agentes causadores de infecções bacterianas, entre os anos de 1974 e 2001 foram relatados 24 surtos de campilobacteriose. Nos Estados Unidos, entre os anos de 1971 e 1996 foram relatados 26 surtos (MAAL-BARED et al., 2012).

Nos países do continente europeu, os relatos oficiais de campilobacteriose tornaram-se mais constantes a partir da década de 90, como na Dinamarca, onde os registros de casos de campilobacteriose aumentaram significativamente em 1992, alcançando no ano de 1999 uma taxa de incidência de 78 casos para cada 100.000 habitantes (CHOWDHURY et al., 2012).

Na Argentina, os casos de campilobacteriose correspondem a uma taxa de incidência de 22,4% em crianças menores que três anos e 13,6 % em adultos, alcançando índices mais elevados do que a de outros agentes patogênicos comuns, tais como *Salmonella sp.*, *Shigella spp.* e *Escherichia coli*. No entanto, não há nenhum estudo epidemiológico conciso na Argentina, realizado com o objetivo de avaliar a prevalência de *Campylobacter spp.* em diferentes fases da cadeia de produção avícola. Tais informações são essenciais no estabelecimento de um programa de saúde pública para controle da doença (SIGNORINI et al., 2013).

CALCIATI et al. (2012) descreveram um surto de campilobacteriose ocorrido na cidade de Barcelona, Espanha no dia 27 de setembro de 2010. Na ocasião foram reconhecidas como afetadas 75 crianças. Das amostras de fezes coletadas das crianças doentes, 64,4% foram positivas para *Campylobacter jejuni*. Amostras de água e alimentos foram negativas para todos os microrganismos pesquisados. Autoridades de vigilância epidemiológica detectaram deficiências

na cozinha da escola e no processo de manipulação dos alimentos, como a utilização da mesma superfície para manipulação de alimentos crus e cozidos o que eleva o risco de ocorrência de contaminação cruzada.

No ano de 2009, foi registrado um surto envolvendo *Campylobacter jejuni* em Creta, onde 37 pessoas foram reconhecidas como afetadas. A fonte de infecção relacionada foi o consumo de água de torneira. Apesar da fonte ter sido mencionada, em nenhuma das amostras coletadas foi possível o isolamento do patógeno (KARAGIANNIS et al., 2010).

Outro surto relatado, ocorreu na cidade de Liverpool, Inglaterra em janeiro de 2011, onde todos os envolvidos ingeriram alimentos provenientes de um mesmo restaurante. Das 26 pessoas expostas, 11 pessoas apresentaram sintomas consistentes que presumissem infecção por *Campylobacter* spp. Das 11 pessoas com sintomas característicos de campilobacteriose, apenas quatro forneceram amostras de fezes e tiveram a confirmação laboratorial da doença. Agentes de vigilância epidemiológica detectaram problema no preparo de *parfait* de fígado de frango no que diz respeito à segregação do alimento cru e do já preparado e pela utilização de um misturado na preparação desse alimento, fatores que podem ter levado à contaminação cruzada (FARMER et al., 2012).

No ano de 2011 o CDC, divulgou um balanço geral sobre uma serie de dados relacionados às DVA, dentre esses, dados referentes a *Campylobacter* termotolerantes que ocuparam a quarta colocação nos patógenos causadores de DVA com um total de 845.024 pessoas afetadas. Ainda segundo o balanço realizado, este patógeno foi o quinto agente que mais causou mortes, com 76 óbitos registrados, e o terceiro que mais gerou hospitalizações com 8.463 internações. (CDC, 2011).

Um caso de campilobacteriose associado a *Campylobacter lari* despertou atenção da classe científica, já que essa espécie normalmente não está associada a essa enfermidade. O paciente afetado era um homem idoso de 81 anos de idade e imunocomprometido, que veio a óbito (WERNO et al., 2002).

Outro relato clínico trata de uma paciente de 74 anos de idade, que após apresentar uma semana de febre, diarreia aquosa, náuseas, dor abdominal, fraqueza e fadiga procurou ajuda medica por ter dificuldades na articulação de palavras. Durante hospitalização foi notado que a paciente apresentava

dormência perioral, fraqueza facial, pupila não reativa. Exames neurológicos revelaram fraqueza muscular bilateral nos braços e tórax que posteriormente também progrediu para as pernas. No terceiro dia de hospitalização apesar de apresentar estado mental normalizado a paciente conseguia apenas mover um dos polegares com bastante dificuldade. Durante investigação clínica, *Campylobacter jejuni* foi isolado a partir de amostras fecais da paciente concluindo que tratava-se da síndrome de *Guillian-Barré*. Apesar do tratamento a paciente teve perda neurológica significativa três meses após receber alta médica (MURRAY et al., 2009).

Os registros de casos e surtos de campilobacteriose no mundo têm assumido caráter crescente. Uma das razões pode ser a vigilância epidemiológica de caráter mais focado e a crescente preocupação com relação à campilobacteriose amparada pelos recentes descobertas da área científica e ainda pela diminuição dos casos de salmonelose em relação à incidência de campilobacteriose (EFSA, 2012).

Outra razão para esta tendência crescente de notificação é o grau de segurança alimentar exigido pelos principais mercados consumidores do mundo, como na União Européia, onde está previsto no artigo 14 da sua legislação alimentar que prevê que os alimentos não devem ser colocados à venda se não se enquadrarem em todos os aspectos de alimento seguro, dentre eles, níveis aceitáveis de contaminação microbiana. Esta disposição permite que cada estado membro da UE possa fazer uma avaliação de risco específico de um lote de alimentos, e decidir se este lote representa um risco inaceitável para a consumidores (CHRISTENSEN et al., 2013).

3.5.3 *Campylobacter* spp. e campilobacteriose no Brasil

Os relatos sobre a campilobacteriose e prevalência do patógeno ainda são escassos no Brasil. No ano de 2007, QUETZ et al. (2010) propuseram avaliar a prevalência de *Campylobacter* spp. em crianças da região nordeste do país. *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* foram detectadas respectivamente em 9,6% e 6,0% de 83 crianças que apresentavam quadro diarréico característico. Ainda no mesmo estudo *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* foram

isoladas das fezes de 7,2% e 1,2% de 83 crianças que não apresentavam quadro de gastroenterite.

KUANA et al. (2008) verificaram a correlação entre a contaminação dos animais no ambiente de criação e das carcaças correspondentes após as operações de abate. Foram analisados 110 conteúdos cecais e 96 carcaças em pontos diferentes do abate, sendo 38 após a depenadeira e 58 após o último *chiller*. Das amostras cecais 81,8% estavam contaminadas. Das carcaças após a operação de depena o nível de contaminação foi de 97,4% e após o *chiller* 98,3%, deixando clara a problemática de contaminação cruzada entre lotes contaminados e não contaminados.

Para realização de estudo que objetivava comparar isolados de *Campylobacter* termotolerantes de humanos e de origem animal, pesquisadores isolaram essa bactéria de 20 pacientes que apresentaram sintoma de gastroenterite clinicamente confirmada durante o período de 12 meses na cidade do Rio de Janeiro. *Campylobacter jejuni* foi isolada em 60% dos pacientes e *Campylobacter coli* em 40% (AQUINO et al., 2010).

MORENO et al. (2010), pesquisaram os principais agentes etiológicos de gastroenterite em crianças atendidas na cidade de João Pessoa, Paraíba. Segundo os resultados, *Campylobacter* termotolerante foi isolada nas fezes de 2,4% de crianças com gastroenterite clinicamente confirmada.

No Brasil *Campylobacter* spp. não é oficialmente monitorada pelas agências de vigilância em saúde. No ano de 2004 foi desenvolvido pela Agência Nacional de Vigilância Epidemiológica (ANVISA), o PREBAF (Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango) que foi inicialmente definido como programa de monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em *Enterococcus* sp. e *Salmonella* spp. isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil. Em uma segunda fase de desenvolvimento do programa o PREBAF pretende incluir mais dois gêneros bacterianos ao seu escopo de avaliação, que são *Campylobacter* spp. e *Escherichia coli* (BRASIL, 2003).

Na última análise epidemiológica para DVA realizada no Brasil, avaliando os períodos entre os anos de 2000 e 2011 foram registrados 8.663 surtos de doença de origem alimentar, com 163.425 pessoas doentes e 112 óbitos. Dos

agentes etiológicos responsáveis *Campylobacter* termotolerantes foram um dos microrganismos menos relacionados, sendo identificado em três casos no período de 11 anos (BRASIL, 2012).

Entre os anos de 2007-2011 no estado de Goiás, foram registrados 75 casos de surtos de DVA, sendo que 69 deles foram notificados apenas no ano de 2011. Baseado em tais dados, fica claro o problema de subnotificação de casos, uma vez que as autoridades responsáveis pela vigilância em saúde no estado assumem que ações epidemiológicas mais efetivas foram implementadas apenas no ano de 2011. Mesmo assim as autoridades concordam que o número de 69 casos ainda não reflete a real situação do estado, uma vez que o número de municípios “silenciosos” ainda é significativo (SINAN/GVEDT/SUVISA/SES-GO, 2012).

O Brasil é um dos países o qual não possuem legislação e/ou critérios de incidência e prevalência definidos para *Campylobacter* spp., o que torna difícil o reconhecimento da real situação desse patógeno no país. Aliado a esses fatores, está a dificuldade de isolamento das bactérias pertencentes a esse gênero, ausência de metodologias para a detecção nos laboratórios de análise e a sensibilidade ao ambiente (BRASIL, 2003).

3.6 Patogenia

Apesar de ser uma forma grave de diarreia, a campilobacteriose é de caráter auto-limitante, onde na maioria dos casos as pessoas afetadas por essa enfermidade se recuperam com um prazo médio de 10 dias. Na minoria dos casos *Campylobacter* termotolerantes resultam em consequências que permanecem por longo prazo (JAY et al., 2005; WHO, 2011).

A campilobacteriose pode variar na apresentação dos sintomas, podendo esses serem leves ou até graves. Entre os sintomas característicos estão incluídos febre, dor abdominal e diarreia que pode apresentar-se como moderada até como diarreia sanguinolenta (BUTZLER et al., 2004). A sintomatologia descrita é comum a diversos outros patógenos entéricos, porém *Campylobacter* termotolerante difere pela baixa dose infectante necessária para desencadear a doença, de 500-800 células o que é comparável com a dose infecciosa de

patógenos como *Shigella* sp., *Salmonella Typhi* e *Escherichia coli* O157:H7 (MAAL-BARED et al., 2012).

Em alguns casos infecções por *Campylobacter* termotolerantes podem desencadear enfermidades secundárias como a Síndrome de *Guillian-Barré*. A síndrome de *Guillian-Barré* é uma doença de caráter auto-imune que ocorre após casos de gastroenterite aguda causada por *Campylobacter* spp. Após picos de infecção são produzidos auto-anticorpos que atacam a bainha de mielina dos nervos periféricos, tendo como conseqüência o surgimento de uma polineuropatia desmielinizante aguda, que resulta na paralisia de membros, pescoço e músculos respiratórios (JACOBS et al., 2008).

Ao invadir o organismo de uma pessoa, *Campylobacter jejuni* ativa uma série de mecanismos componentes da resposta imune, sendo um deles a produção de anticorpos específicos para a estrutura dos microrganismos que contém lipo-oligossacarídeos. Porém, a membrana celular das células nervosas humanas possui em sua estrutura os mesmos lipo-oligossacarídeos presentes no microrganismos, assim os anticorpos produzidos em reação à membrana da célula de *C. jejuni* também reagem contra a membrana das células nervosas, originando uma doença auto-imune conhecida como Síndrome de *Guillian-Barré* (REES, 1995).

Outras complicações ou enfermidades secundárias que podem vir a ocorrer após quadros clássicos de campilobacteriose são, artrites reativas (Síndrome de *Reiter*), problemas pulmonares, síndrome urêmica hemolítica, meningite, septicemia e infecções generalizadas (BROIDES et al., 2010; FDA, 2012).

3.7 Métodos de detecção de *Campylobacter* termotolerantes

Ao longo dos anos, com os avanços de técnicas e conceitos de microbiologia aliada a preocupação crescente de obtenção de alimentos seguros, foram desenvolvidas e aprimoradas diversas metodologias para isolamento, identificação e detecção de microrganismos oriundos de matrizes alimentares. As técnicas empregadas variam de acordo com o princípio da detecção e são divididas em isolamento convencional e métodos rápidos.

Pela falta de legislação específica para a pesquisa e controle de *Campylobacter* spp., os laboratórios oficiais nacionais não possuem rotinas de análises que contemplem esse patógeno (KUANA et al., 2008).

Campylobacter spp. são considerados por inúmeros pesquisadores como bactérias de difícil cultivo, seja por suas necessidades nutritivas que são especialmente complexas ou pela sua sensibilidade às concentrações de oxigênio em atmosfera normal o que exige condições ambientais e laboratoriais específicas, como condição de microaerofilia e temperatura de armazenamento (ADAMS et al., 1997; STERN et al., 2001; SILVA et al., 2007).

Outro fator que dificulta o isolamento de *Campylobacter* spp. é que quando submetido às condições adversas, como exposição às concentrações inadequadas de oxigênio, falta de nutrientes, exposição às temperaturas inapropriadas, as bactérias desse gênero adotam um mecanismo de evasão para manutenção de sua viabilidade, modificando sua morfologia de bacilos para formas cocóides, entrando em um estado viável, porém não cultivável, conhecido como estado VNC (LEE et al., 2006; GANGAIAH et al., 2009).

O principal método convencional para pesquisa e isolamento de *Campylobacter* spp. adotado é o descrito na ISO 10272-1 (2006). Outros métodos são descritos pelo *Bacteriological Analytical Manual Online de Food and Drug Administration (BAM/FDA)* e o *Food Safety and Inspection Service, United States Department of Agriculture*, não apresentando diferenças significativas quando comparados com a metodologia descrita pela ISO 10272-1 (SILVA et al., 2007).

Aliados ao método convencional, os métodos bioquímicos de detecção são importantes ferramentas empregadas pelos laboratórios de análises e pesquisa. Esses métodos interferem positivamente no tempo empregado em análises convencionais, otimização de equipamentos e mão de obra aplicada e diminuição de erro de procedimentos e interpretação de resultados. Os métodos bioquímicos são subdivididos em imunológicos, bioquímicos e moleculares (STERN et al., 2001; BONJOCH, et al., 2010).

Os métodos imunológicos têm como princípio reações entre os antígenos e anticorpos específicos do microrganismo. Um exemplo é o método analítico miniVIDAS® *Campylobacter* (bioMérieux®, França) que se caracteriza por ser um teste imunoenzimático automático, acoplado a um equipamento específico que

realiza os procedimentos analíticos, interpretação dos resultados e emissão dos mesmos (LANDGRAF, 2008; LIU et al., 2009). O método miniVIDAS[®] é validado como oficial pela AOAC (*Association Française de Normalisation*) e pelo instituto AFNOR (*Association of Official Analytical Chemists*) para análise em alimento como técnica de triagem.

Os métodos bioquímicos são baseados na capacidade do microrganismo de produzir metabólitos previamente determinados e/ou utilização de substratos. Estão disponíveis no mercado “*Kits*” que oferecem um rápido perfil bioquímico, economizando espaço, trabalho e tempo. Como exemplos deste grupo o API campy (bioMerieux[®], França) e Vitek (bioMerieux[®], França) (ON, 1996).

Baseando-se nas características genóticas dos microrganismos pertencentes ao gênero *Campylobacter*, os métodos moleculares aplicam-se à identificação e tipificação das estirpes bacterianas, possibilitando estabelecer ligações taxonômicas entre os isolados fornecendo relevantes dados às investigações epidemiológicas. O principal representante desse método é a técnica da reação de polimerase em cadeia (PCR) (WASSENAAR & NEWELL, 2000).

3.7.1 Isolamento Bacteriológico Convencional

O método convencional para identificação de bactérias do gênero *Campylobacter* seguem alguns critérios específicos, como composição dos meios de cultura seletivos a serem utilizados, condições de desenvolvimento que obedeçam aos padrões de microaerofilia (5 % O₂, 10 % de CO₂, e 85 % de N₂) e pH do meio que deve ser maior do que 4,9 (HUMPHREY, 2007; GHARST et al., 2013).

As espécies termotolerantes são conhecidas por se desenvolverem melhor a temperatura de 41±1°C, essa temperatura inibe o crescimento de alguns microrganismos concorrentes presentes em amostras de alimentos e permite o isolamento seletivo de *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis*. No entanto, não são organismos termorresistentes e são facilmente destruídos pela pasteurização ou pelas temperaturas de cozimento a qual os alimentos são submetidos (STERN et al., 2001).

Vários tipos de caldo de enriquecimento foram desenvolvidos para isolamento de *Campylobacter* spp de alimentos, sendo que o caldo Bolton continua a ser uma das melhores alternativas para o enriquecimento (BAYLIS et al., 2000). Originalmente além da suplementação de antibióticos, esse caldo de enriquecimento era adicionado com sangue desfibrinado de eqüinos ou ovinos, porem tal utilização não se mostra mais necessária (LIU et al., 2009).

Concluída a etapa de enriquecimento, o passo seguinte no isolamento bacteriano convencional é o plaqueamento, que segundo as recomendações da ISO 10272-1, deve ser realizado em dois meios seletivos diferenciais incubados a $41,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 44 ± 4 horas. Os meios comumente usados são o CCDA (*Charcoal cefoperazone deoxycholate*) e um ágar adicionado de sangue desfibrinado (ágar Brucella ou ágar Columbia) (GHARST et al., 2013). Posterior ao período de incubação das placas realiza-se seleção inicial das culturas puras para confirmação do gênero, sendo opcional a diferenciação entre as espécies (SILVA et al., 2007).

A composição natural dos meios seletivos utilizados no isolamento de *Campylobacter* spp. por si reduzem o desenvolvimento de microbiota acompanhante presente nas amostras, porém a suplementação desses com diversos antibióticos se faz necessária uma vez que facilitam a multiplicação de *Campylobacter*, por impedir o desenvolvimento de bactérias competidoras (KUANA et al., 2008).

Nas placas de CCDA incubadas a 42°C durante 36-48 h, as colônias de *Campylobacter* spp. geralmente aparecem com coloração cinza, sendo essas planas. Pesquisadores consideram este ágar como uma das melhores escolhas baseadas na sua simplicidade de preparo, praticidade e baixo custo (POTTURI - VENKATA et al., 2007).

Pela fragilidade e particularidades do agente em questão, é importante obedecer as condições de transporte, armazenamento e processamento das amostras com intuito de obtenção de um maior número de isolados viáveis. É recomendado o não congelamento de amostras, já que essa é mencionada por muitos como uma medida de contenção ao patógeno, porém se necessário, o congelamento deve ocorrer aliado ao uso de crioprotetores. As condições ideais de estocagem compreendem temperaturas de $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$, por um período de duas a

quatro semanas. Apesar da redução populacional com o congelamento, as bactérias sobreviventes podem ser recuperadas após mais de cinco meses (SILVA et al., 2007).

De acordo com a ISO 10272 (2006), para a confirmação de gênero são necessários cinco testes, sendo estes, morfologia, arranjo e motilidade típicos; teste de oxidase positivo; crescimento negativo a 25°C em condições de microaerofilia e a 41,5°C em condições de aerobiose.

3.7.2 Ensaio Imunoenzimático miniVIDAS®

O VIDAS® *Campylobacter* é um teste imunoenzimático, qualitativo automatizado que permite a detecção de antígenos de *Campylobacter* pelo método ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*) com o aparelho miniVIDAS®. Trata-se de um dispositivo desenvolvido com o intuito de realizar a triagem, de forma rápida, das bactérias do gênero *Campylobacter*. O método é capaz de detectar em aproximadamente 50 horas as espécies *C.coli*, *C.jejuni* e *C.lari*. Este período contempla a fase de enriquecimento em caldo seletivo incubado em condição de microaerofilia, e o ensaio que dura cerca de 70 minutos (bioMérieux®, VIDAS® *Campylobacter*, REF 30111-07999 H - pt – 2010/10).

O teste VIDAS® é um método analítico que vem sendo utilizado por muitos países por um período considerável de tempo, além de ser um método que passou por inúmeras validações (REITER et al., 2010). São exemplos de associações quem validaram esse método a AFNOR e AOAC, com a codificação AFNOR/ISO 16140 BIO 12/29-05/10 (bioMérieux®, 2011).

A reação imunoenzimática ELFA na qual se baseia o VIDAS® é constituída de duas etapas com uma detecção final por fluorescência. A reação antígeno-anticorpo é marcada com um anticorpo associado à enzima fosfatase alcalina, que reage com determinado substrato, desta reação obtêm-se um composto fluorescente. A emissão de fluorescência é proporcional à quantidade de antígeno ou (anticorpo) presente na amostra (bioMérieux®, VIDAS® *Campylobacter*, REF 30111-07999 H - pt - 2010/10).

O ensaio imunoenzimático enquadra-se entre as técnicas de triagem, sendo que para as amostras em que a análise apresenta resultado negativo, não

é necessário que se continue com as análises por meio do método convencional (bioMérieux®, VIDAS® *Campylobacter*, REF 30111-07999 H -pt - 2010/10).

Por outro lado esse teste por si só não é suficiente para resultados de confirmação de gênero bacteriano, sendo assim os resultados positivos devem passar por análises de isolamento por métodos de cultura convencionais (GHARST, et al., 2013).

O *kit* VIDAS® é composto por cones, cobertos em seu interior com anticorpos anti-*Campylobacter* adsorvidos na sua superfície e por barretes, compostos por 10 poços que contêm reagentes para reação imunológica. Uma alíquota do caldo de enriquecimento previamente aquecido é dispensada no poço do barrete, o patógeno de interesse, quando presente, é fixado aos anticorpos específicos presentes no cone. As etapas de lavagem eliminam os elementos não fixados. Todas as fases do ensaio são executadas automaticamente inclusive a leitura e interpretação dos resultados, sendo que cada resultado é interpretado como positivo ou negativo. Este teste é, portanto, bastante sensível uma vez que a mínima formação do hidrolisado produz sinais de fluorescência detectáveis (bioMérieux®, VIDAS® *Campylobacter*, REF 30111-07999 H - pt - 2010/10).

Pesquisadores que buscaram avaliar a eficiência do miniVIDAS® para detectar *Campylobacter* spp. em carne de frango, após o enriquecimento em caldo Bolton, em dois tempos diferentes (24 horas e em 48 horas), concluíram que o período ideal de incubação pré-teste é o de 48 horas uma vez que com esse período de tempo o número de resultados positivos foi maior, evitando resultados falso negativos. Outra conclusão foi de que o sistema obteve resultados semelhantes aos meios seletivos convencionais em um menor período de tempo (LIU et al., 2009).

Conclusão semelhante encontraram NESBAKKEN et al. (2003), que assim como LIU et al. (2009), não detectaram diferenças significativas de eficácia entre o método de isolamento convencional e o imunoenzimático VIDAS® para detecção de *Campylobacter* spp..

3.7.3 Sistema API CAMPY

O API CAMPY é um sistema padronizado que se baseia na identificação bioquímica e enzimática, utilizando mini-testes e uma base de dados específica. Esse sistema é constituído por uma galeria que permite obter para cada microrganismo testado um conjunto de resultados, ou seja, o perfil bioquímico próprio o qual sua interpretação é referente a uma base de dados a qual é constituída pelo conjunto de táxons (que pode ser espécie, biotipo ou grupo de espécie) e das porcentagens de positividade de cada teste (bioMérieux®, 2010).

A galeria API Campy comporta 20 microtubos que contêm substratos desidratados, divididos em duas galerias diferentes. A primeira parte da galeria que possui os testes enzimáticos e convencionais: urease (URE), redução dos nitratos (NIT), esterase (EST), redução de hipurato (HIP), gama glutamil transferase (GGT), redução do cloreto de trifetil-tetrazolium (TTC), pirrolidonil arilamilase (PyrA), L-arginina arilamidase (ArgA), L-aspartato arilamidase (AspA), fosfatase alcalina (PAL) é inoculada com suspensão do microrganismo densa que reidrata os substratos. As reações produzidas durante o período de incubação (em aerobiose) traduzem-se pelas mudanças de cor espontâneas ou reveladas através da adição de reagentes (bioMérieux®, 2010).

A segunda parte da galeria com testes de assimilação ou inibição: produção de H₂S (H₂S), assimilação de D-glucose (GLU), de succinato de sódio (SUT), de acetato de sódio (ACE), de propionato (PROP), de malato (MLT) e de citrato trissódico (CIT); sensibilidade à eritromicina (ERO), resistência ao ácido nalidíxico (NAL) e à cefazolina de sódio (CFZ) é inoculada com meio menos denso, pois o primeiro foi repassado para outro tubo para diluição, exceto o teste de H₂S que é realizado com o mesmo meio anterior, a segunda galeria então é incubada em atmosfera de microaerofilia. As bactérias multiplicam-se se forem capazes de utilizar o substrato correspondente ou se forem resistentes ao antibiótico testado. O 21º teste constitui o teste de catalase (bioMérieux®, 2010).

3.7.4 Teste de suscetibilidade antimicrobiana

Apesar dos primeiros estudos de *Campylobacter* spp. datarem de 1986, sendo reconhecido como um importante patógeno humano em 1972, apenas no

ano de 2004 surgiram padrões específicos de suscetibilidade antimicrobiana dessa bactéria (McDERMOTT et al., 2004).

Os testes de suscetibilidade antimicrobiana desempenham papel fundamental na orientação terapêutica de casos de campilobacteriose e vigilância epidemiológica. O surgimento de resistência aos antimicrobianos por *Campylobacter* termotolerantes são de grande preocupação para as autoridades em saúde, principalmente no caso das fluorquinolonas, que vêm apresentando índices crescentes de resistência frente a esse patógeno (GE et al., 2013).

As fluorquinolonas são frequentemente utilizadas para tratamento de doenças diarréicas onde o agente etiológico não foi diagnosticado, a conhecida “diarréia dos viajantes” (ARESTRUP et al., 2008). Por outro lado quando *Campylobacter* termotolerantes são diagnosticadas como sendo o agente etiológico de gastroenterites e existe a indicação da terapia com antimicrobianos, os macrolídeos, principalmente eritromicina, normalmente são as bases de primeira escolha para o tratamento (BLASER & ENGBERG, 2008).

As tetraciclina e ciprofloxacina são normalmente sugeridos como medicamentos alternativos no tratamento de campilobacteriose clínica. Cloranfenicol é uma base que pode ser usada, mesmo que de maneira ilícita, na promoção do crescimento em animais de produção, que resulta no surgimento e disseminação de bactérias resistentes (ZENDEHBAD et al., 2013). Cefalosporinas de terceira geração, como a ceftriaxona, são amplamente utilizados como alternativa às fluoroquinolonas para o tratamento empírico de diarréia infecciosa de origem bacteriana (GE et al., 2013).

Ainda segundo GE et al. (2013), a técnica de difusão em disco é frequentemente empregada em estudos que objetivam dentre outras variáveis, a determinação da suscetibilidade frente a agentes antimicrobianos, por se tratar de uma técnica simples, de grande flexibilidade, agilidade e de baixo custo.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento experimental

Foram analisadas 100 carcaças de frangos e 100 dúzias ovos, provenientes de 20 unidades de comércio varejista, localizados no município de Goiânia, subdivididos em sete distritos sanitários, sendo eles, Centro-campinas, Noroeste, Oeste, Sudoeste, Norte, Leste e Sul, conforme Figura 1. Vale ressaltar que todos os estabelecimentos continham alvará de funcionamento expedido pelo Departamento de Vigilância Sanitária Municipal (VISA).

Figura 1- Distritos sanitários da cidade de Goiânia/Goiás



Fonte: VISA – Goiânia.

As amostras foram obtidas nas gôndolas de exposição de produtos por profissionais do Departamento de Vigilância Sanitária Municipal, em seguida foram dispostas em sacos plásticos individuais, identificadas, lacradas e encaminhadas em ambiente refrigerado, entre 2 e 8°C, ao Laboratório Multiusuário de Pesquisa em Microbiologia de Alimentos do Centro de Pesquisa em Alimentos. As coletas compreenderam o período entre os meses de agosto a novembro de 2013.

Todas as amostras foram submetidas ao ensaio imunoenzimático miniVIDAS® como método de triagem, sendo que para amostras positivas, foi realizado procedimentos de isolamento bacteriano convencional e posterior

caracterização fenotípica, com a utilização de testes bioquímicos, enzimáticos e antimicrobianos, para identificação de espécies e subespécies.

4.2 Ensaio analítico

Para as 100 carcaças de frango, após sua chegada em laboratório, tiveram sua condição de apresentação avaliada (avaria na embalagem, data de fabricação e validade, presença de matéria orgânica e aspecto geral). Posteriormente foram retiradas das embalagens e submetidas a esfregaço por suabes em toda a superfície da carcaça, interna e externamente, com atenção às regiões do pescoço, asas, peito, dorso e cloaca. Atendendo às especificações do protocolo analítico para ensaios imunoenzimáticos VIDAS (bioMérieux[®], 2010), os suabes foram obtidos de forma asséptica e individualmente dispostos em tubos contendo 9,0 mL de caldo Bolton sem sangue, suplementado com antibióticos.

Para as 100 dúzias de ovos analisadas, após sua chegada no laboratório, assim como as carcaças amostradas, foram avaliados aspectos como avarias na embalagem, data de fabricação e validade, presença de matéria orgânica, trincas, rachaduras dentre outros aspectos. Em sequência cada dúzia de ovos foi retirada da cartela, higienizada e submetida à quebra em embalagem asséptica, formando um *pool* de uma dúzia de ovos. De cada *pool* foi retirada uma alíquota de 1,0 mL de amostra e disposta em tubo contendo 9,0 mL de caldo seletivo Bolton sem sangue, suplementado com antibióticos, conforme determinações do protocolo analítico para ensaios imunoenzimáticos VIDAS (bioMérieux[®], 2010).

Todos os tubos foram incubados em atmosfera de microaerofilia com a utilização de jarras de anaerobiose e geradores de microaerofilia Genbox[®], onde inicialmente ficaram sob uma temperatura de 37°C por um período de 4 horas para fase de pré-enriquecimento e posteriormente sob temperatura de 41,5 ± 1°C por 44 ± 4 horas para fase de enriquecimento.

Após o período de incubação, seguindo o protocolo VIDAS[®], foram retirados alíquotas de 2 mL do caldo de enriquecimento de cada tubo e submetidos a temperaturas de 100°C por um período de 15 minutos, o que possibilita e facilita a exposição do antígeno ao anticorpo presente nos barretes do teste. Após essa etapa os tubos eram dispostos de maneira apropriada em bancada para a diminuição de temperatura.

Em sequência à queda gradual da temperatura dos tubos, eram extraídos desses 0,5 mL do caldo de enriquecimento e transferidos para o barrete do *kit VIDAS® Campylobacter* onde a partir desse, se procedeu a avaliação da amostra por meio da técnica ELFA no aparelho miniVIDAS®.

Tendo como base um limiar de detecção ou valor do teste (VT) $\geq 0,1$ para positivos e $< 0,1$ para negativos, os resultados eram obtidos após aproximadamente 70 minutos de análise automatizada (bioMérieux®, 2010).

As alíquotas restantes dos caldos de enriquecimento que não foram submetidas à aquecimento, foram estocadas a 4°C, pelo período de no máximo 24 horas, vedadas por filme plástico para a confirmação dos positivos pelo método de isolamento bacteriológico convencional. A metodologia adotada para confirmação dos positivos foi a descrita na ISO 10272-1 (2006), que tem como objetivo obtenção de isolados e colônias puras.

Após atingirem temperatura ambiente, alíquotas de cada caldo das amostras positivas na triagem foram semeadas, por esgotamento, utilizando alças descartáveis, na superfície de ágar CCDA (OXOID®) suplementado com antibióticos e em ágar Columbia sangue (DIFCO®). Todas as placas foram incubadas em microaerofilia a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ / 44 ± 4 horas.

Ao fim do período de incubação das placas, as colônias que apresentavam características compatíveis com as características de *Campylobacter* spp. eram selecionadas. No ágar mCCDA as colônias apresentavam-se acinzentadas, geralmente com brilho metálico, planas e úmidas, com tendência ao espalhamento. No ágar Columbia sangue as colônias típicas são de aparência mucóides de pequena a média dimensão, normalmente com uma coloração acinzentada, planas com extremidades irregulares e não hemolíticas. Uma outra morfologia das colônias que parece estar relacionada com as estirpes é composta por colônias redondas, com 1 a 2 mm de diâmetro, convexas, completas e brilhantes.

Na ausência de obtenção de colônias isoladas o processo de plaqueamento era repetido, seguindo os mesmos padrões metodológicos, com o intuito de crescimento de colônias isoladas e puras.

De cada amostra, dos dois ágares utilizados, foram selecionadas de uma a cinco unidades formadoras de colônias características de *Campylobacter* spp.

para a realização do teste de catalase, a mesma colônia foi semeada em ágar sangue e as placas incubadas em microaerofilia a $41,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ / 44 ± 4 horas.

As análises bioquímicas não foram realizadas imediatamente, sendo assim as colônias selecionadas foram estocadas em *ependorfes* contendo 1,5 mL de leite desnatado esterilizado e submetidas à congelamento, por um período que variou de duas semanas a três meses.

O armazenamento em leite foi embasado nas informações de CODY et al., (2008), por terem afirmado que esse é um meio avaliado como apropriado para a manutenção da viabilidade bacteriana, com o intuito de aumentar a viabilidade da célula a longo prazo e proteger contra a morte celular durante posteriores períodos de elevada temperatura.

Para descongelamento os *ependorfes* foram submetidos a temperatura de refrigeração por um período de oito horas em microaerofilia, em seguida, uma alíquota de 1mL foi adicionada a tubo contendo 9,0 mL de caldo Bolton sem sangue, suplementado com antibióticos. Os tubos foram incubados em atmosfera de microaerofilia com a utilização de jarras de anaerobiose e geradores de microaerofilia Genbox[®], onde inicialmente ficaram sob uma temperatura de 37°C por um período de 4 horas para fase de pré-enriquecimento e posteriormente sob temperatura de $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ por 44 ± 4 horas para fase de enriquecimento. Em seguida cada amostra, foi semeada em ágar sangue. As placas foram incubadas a $41,5 \pm 1^\circ\text{C}$ / por 24 a 48 horas em ambiente microaerófilo.

As colônias isoladas foram submetidas ao teste de KOH, prova de motilidade em caldo Brucella, sendo possível a verificação da morfologia em espiral e motilidade do tipo saca rolha típicos de *Campylobacter* spp.

4.3 Identificação bioquímica e enzimática das colônias sugestivas de *Campylobacter* spp. pelo sistema API Campy

A estratificação do perfil enzimático e bioquímico foi realizada por meio do sistema API Campy (bioMérieux[®]), onde após a interpretação de seus resultados era possível a identificação das cepas sugestivas de *Campylobacter* spp. Para a preparação do inócuo, com auxílio de suabe esterilizado, as colônias isoladas no agar sangue foram transferidas para diluente próprio do sistema API Campy (bioMérieux[®]) a base de cloreto de sódio e água desmineralizada, com intuito de

criar uma suspensão com densidade similar ao número seis da escala de McFarland (BaSO_4).

Logo após a preparação da suspensão do inócuo, a primeira parte da galeria foi preenchida juntamente com o teste H_2S da segunda parte da galeria. Atendendo a necessidade particular de anaerobiose do teste URE, o mesmo será coberto com óleo de parafina criando um ligeiro menisco convexo. Após tais procedimentos a primeira parte da galeria foi incubada por 24 horas a $36^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ em atmosfera aeróbia.

Para realização dos testes de inibição ou assimilação, a segunda parte da galeria foi inoculada utilizando-se meio diluído. A preparação do segundo meio diluído foi feita com a adição volume restante de solução bacteriana preparada anteriormente na solução fornecida no tubo API AUX Medium. Após homogeneização, a nova suspensão formada foi distribuída nas cúpulas da segunda parte da galeria que foi incubada por 24 horas (± 2 horas) a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ em atmosfera microaerófila.

Para a leitura da primeira parte, adicionou-se reagentes específicos, descritos pelo fabricante. As reações produzidas durante o período de incubação, traduzem-se pelas mudanças de cor espontâneas ou reveladas quando feita a adição de reagentes. Segundo orientações do fabricante, aguardou-se cinco minutos após adição dos reagentes para realização da leitura dos resultados. Foram consideradas positivas, qualquer reação, mesmo que essa fosse em menor intensidade.

A leitura da segunda parte da galeria apenas foi realizada se constatada a positividade do teste SUT, caso contrário, incubação foi feita por mais 24 horas. As bactérias que utilizavam o substrato correspondente ou que eram resistentes ao antibiótico testado cresceram visivelmente. Assim como o critério adotado para avaliação da primeira parte, foram consideradas positivas, qualquer reação, mesmo que fossem fracas.

Os resultados das reações foram anotados em ficha própria de resultados e foram interpretadas com auxílio do programa Apiweb que expressava os resultados identificando a cepa avaliada por meio da avaliação em conjunto das reações.

4.4 Resistência a antimicrobianos

Para este estudo, o ensaio destinado à avaliação da suscetibilidade dos isolados de *Campylobacter* spp., frente à agentes antimicrobianos foi a de difusão em disco. A seleção das bases a serem submetidas ao teste levou em consideração os recentes estudos e ainda a importância das mesmas nas áreas médicas e da ciência animal. As bases foram eritromicina, ciprofloxacina, ácido nalidíxico, tetraciclina, ceftriaxona e cloranfenicol.

Com auxílio de suabe esterilizado, as colônias características foram transferidas do agar sangue para tubo contendo 1mL de solução salina a 1,0%, onde permaneceram por um período médio de cinco minutos. Após esse período utilizando o mesmo suabe, agora úmido, foi realizado estriamento das placas contendo agar *Muller Hilton* adicionado de 5% de sangue desfibrinado de carneiro. O estriamento das placas foi realizado em quatro sentidos diferentes com o intuito de cobrir toda a superfície do ágar com a alíquota amostral. As placas permaneciam tempo médio de cinco minutos para fixação da amostra na superfície do ágar.

Após fixação, com o auxílio de pinça esterilizada, cada disco era afixado na superfície do ágar, com espaços satisfatórios entre si. Ao final cada placa, de cada amostra foi afixada com seis discos com base de antimicrobianos distintas. Terminada essa etapa as placas foram incubadas a $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas em ambiente microaerófilo.

Terminado o período de incubação a leitura dos resultados poderia ser realizada. Nesse estudo os padrões utilizados para interpretação dos resultados obtidos tiveram como fonte os valores fornecidos pela Comissão Europeia de Suscetibilidade a Antimicrobianos (EUCAST), (Quadro 1).

Quadro 1- Padrões EUCAST de susceptibilidade de antimicrobianos por base.

Antimicrobiano	Sensível	Intermediário	Resistente
Eritromicina	$\geq 20\text{mm}$	-	$< 20\text{mm}$
Ciprofloxacina	$\geq 26\text{mm}$	-	$< 26\text{mm}$
Ácido Nalidíxico	$\geq 20\text{mm}$	-	$\leq 19\text{mm}$
Tetraciclina	$\geq 30\text{mm}$	-	$< 30\text{mm}$
Ceftriaxona	$\geq 28\text{mm}$	24-27mm	$\leq 23\text{mm}$
Clorofenicol	$\geq 17\text{mm}$	15-16mm	$< 14\text{mm}$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 100 amostras de carcaças de frango avaliadas, 14 foram positivas segundo o método de triagem miniVIDAS® para *Campylobacter*, o que representou 14% de positividade. Deste total, 11% foram confirmadas como pertencentes ao gênero por meio do isolamento bacteriano convencional. Referente aos ovos comerciais, em 1% foi possível o isolamento do patógeno. (Tabela 1).

Tabela 1 - *Campylobacter* termotolerantes em carcaças de frango e ovos comerciais comercializados na cidade de Goiânia.

Carcaças de frango			
Resultado*	miniVIDAS®	MiniVIDAS + IBC**	
		Positivo	Negativo
Carcaças positivas	14/100 (14%)	11/14 (78,6%)	3/14 (21,4%)
Carcaças negativas	86/100 (86%)	Não avaliadas	
Total carcaças	100 (100%)	11/100 (11%)	
Ovos comerciais			
Resultado*	miniVIDAS®	MiniVIDAS + IBC**	
		Positivo	Negativo
Ovos positivos	0/100 (0%)	1 (1%)	-
Ovos negativos	100/100 (99%)	99 não avaliadas	
Total ovos	1 (1%)	1/100 (1%)	

* Resultado considerando o gênero

** IBC - isolamento bacteriano convencional

Estes resultados reportam que a bactéria está presente em alimentos de origem avícola destinados à comercialização na cidade de Goiânia. Este dado contrasta com os critérios para inocuidade de alimentos, uma vez que *Campylobacter* compõe a lista de microrganismos potencialmente patogênicos à humanos, causadores de doenças e até mesmo casos de óbito.

Não se pode afirmar imperativamente que a contaminação deriva dos lotes, pelo fato de que não houve verificação de plantéis em granjas de corte ou postura. No entanto, pode-se considerar provável contaminação em granjas, em abatedouros (lotes de mesma origem e de origens diferentes) e até mesmo em

gôndolas de supermercados. Diversos fatores podem subsidiar esta suposição, como os apresentados a seguir.

Acredita-se que o jejum pré-abate inadequado, as operações de abate e o processamento das carcaças em abatedouros pode favorecer a disseminação da bactéria durante o abate, conforme constatação de SON et al. (2007), SOMMER et al. (2012), conferindo às carcaças a possibilidade de contaminação (EFSA, 2012), situação que perpetua após o resfriamento e/ou congelamento, em estabelecimentos comerciais.

CHRISTENSEN et al. (2013), na Dinamarca, observaram variabilidade de sete a 17%, quanto a presença de *Campylobacter* em carcaças resfriadas de origem nacional e de 17 a 39% para carcaças de frango de origem estrangeira.

NOBILE et al. (2013) propuseram avaliar a prevalência desse patógeno em carcaças de frango e de perus, ambos resfriados e disponibilizados para consumo no comércio varejista constatando 20,7% e 23,1% respectivamente.

Este dado denota grande importância quando acrescido da informação de que a viabilidade do patógeno é variável, porém alta em carne avícola. Esta viabilidade pode estar relacionada a adaptações das diferentes espécies termotolerantes.

No presente estudo, em relação aos ovos, pode-se afirmar que houve menor frequência de observação (1%) o que não exclui o risco à população. Cabe salientar que uma das amostras teve reação sugestiva para a presença de *Campylobacter*, porém classificada como negativa ao limiar de detecção do teste imunoenzimático. Assim sendo, deu-se sequência ao protocolo analítico, havendo portanto o isolamento da bactéria.

Este resultado permite inferir sobre o risco da intenção do uso de ovos crus em preparações domésticas. Existem relatos sobre a menor incidência de *Campylobacter* em gemas e claras, como os citados por FONSECA et al. (2006) e PAULA et al. (2009).

Ainda assim, em outro estudo FONSECA et al. (2011) observaram a capacidade da bactéria permanecer viável no conteúdo interno de ovos, mesmo estudos anteriores apontando que o isolamento desse gênero bacteriano era restrito ao exterior.

Segundo PAULA et al. (2009), fatores que poderiam explicar o baixo índice de isolados em conteúdo interno de ovos, são os fatores intrínsecos característicos dessa matriz alimentar como enzimas presentes na clara dos ovos, tais como lisozima, avidina, proteína inibidora de ovo, ovotransferrina flavoproteína que possui ação antimicrobiana direta ou indireta contra diferentes microorganismos. Somado a isto, o albúmen apresenta um teor de ferro reduzido (aproximadamente 0.4mg/100g), que desfavorece o metabolismo bacteriano. Além disso, o pH do albúmen, que é de aproximadamente 9,0, não representa um ambiente favorável ao *Campylobacter jejuni*.

Após o emprego do isolamento bacteriano convencional (IBC), 11 das 14 amostras positivas (78,6%) evidenciaram colônias características, sugestivas do gênero, nos dois ágaros eleitos. No entanto, após o emprego das provas referência para assimilação e bioquímicas pelo sistema API, observou-se que sete amostras (7%), dentre carcaças e ovos, foram reportadas como bactérias do gênero, com isolados selecionados dos dois ágaros. As demais foram classificadas como perfil inaceitável, como pode ser identificado na Tabela 2.

No presente estudo, a frequência de 7% de identificação da bactéria, atesta que carne de frango distribuída nos distritos do município de Goiânia, com exceção do distrito oeste onde não houve detecção, ao ser consumida poderá expor a população a risco evidente, caso a preparação do alimento não obedeça as condições ideais de higiene, eliminando-a pelos processos de preparação.

GUNTHER IV & CHEN (2009) revelaram a alta probabilidade da bactéria formar biofilme em utensílios, perpetuando e disseminando-se ao longo do tempo. Não cabe nesta situação, ponderar a minimização de contaminação de carne de frango ou ovos, pois isso não exclui a bactéria das matrizes alimentares. Como mencionado por WASSENAAR (2011) a simples presença do patógeno é suficiente para modelagem de risco à exposição.

Neste estudo optou-se pela realização do isolamento bacteriano convencional de amostras resultantes como negativas, somente com valor do teste (VT) próximo ao limiar mínimo de detecção. Isto para que fosse investigada a presença do patógeno na amostra que poderia induzir a um resultado falso negativo.

Uma das possíveis justificativas para amostras positivas no ensaio imunoenzimático não gerarem isolados pelo método convencional é que esse teste de triagem tem a capacidade de detecção de bactérias do gênero *Campylobacter* que podem ter alterado seu estado de cultivo, em virtude do estresse fisiológico dos isolados, dependente da espécie frente aos fatores ambientais adversos como temperatura, pH, atividade de água, fonte insuficiente de nutrientes, estando assim em estado não cultivável em culturas convencionais (ON, 2013).

O fato da não adição de sangue ao caldo de enriquecimento, não pode ser considerado como hipótese para a diferença entre os percentuais de positivos no ensaio imunoenzimático e método convencional. Em estudo realizado por LIU et al. (2009) que avaliaram a eficácia do ensaio imunoenzimático VIDAS® na detecção de *Campylobacter* em carne de frango inoculada em caldo Bolton suplementado com sangue ou não, concluíram diante dos valores encontrados que a adição ou não de sangue no caldo de enriquecimento não interfere significativamente na diferença do percentual de positivos entre o método de triagem e o método convencional.

Outro fator que explica a diferença encontrada entre positivos no método de triagem e de real isolados, são as características naturais do patógeno, que são reconhecidamente fastidiosos, a capacidade limitada de crescimento em temperaturas menores que 30°C e a grande tensão causada pelo oxigênio ambiental (SILVA et al., 2007).

Ressalta-se que para as seis amostras não caracterizadas, identificou-se isolados não reconhecidos pelo sistema API, porém provenientes de colônias características ao isolamento bacteriano convencional.

Tabela 2 – Caracterização de *Campylobacter* termotolerantes ou perfil inaceitável de isolados, pelo sistema API, de 11 amostras positivas ao ensaio MiniVIDAS

Amostra	Distrito sanitário	Espécie/Subespécie
Carçaça 1		<i>Campylobacter jejuni</i> sub. <i>jejuni</i> I
Carçaça 2		<i>Campylobacter coli</i> <i>Campylobacter lari</i>
Carçaça 3		<i>Campylobacter coli</i>
Carçaça 4		<i>Campylobacter lari</i>
Carçaça 5		<i>Campylobacter jejuni</i> sub. <i>jejuni</i> II (2 isolados) <i>Campylobacter lari</i>
Carçaça 6		<i>Campylobacter jejuni</i> sub. <i>jejuni</i> II
Pool ovos*		<i>Campylobacter jejuni</i> sub. <i>jejuni</i> II
Colônias características ao IBC sem classificação para <i>Campylobacter</i> termotolerante pelo sistema API		
Carçaça 1		Colônias características - perfil inaceitável
Carçaça 7		Colônias características - perfil inaceitável
Carçaça 8		Colônias sugestivas - perfil inaceitável
Carçaça 9		Colônias sugestivas - perfil inaceitável
Carçaça 10		Colônias sugestivas - perfil inaceitável
Pool ovos		Colônias características - perfil inaceitável

*Amostra negativa ao VIDAS, mas com alto valor de detecção, investigada pelo IBC e com colônias características, posteriormente classificada como positiva para *Campylobacter jejuni*.

Pelos resultados, observa-se que as espécies circulantes são aquelas denominadas como as de maior potencial patogênico para humanos, concordando com as afirmações de GHARST et al. (2013).

Nos países em desenvolvimento, os relatos que associam casos de gastroenterite infecciosa às bactérias *Campylobacter upsaliensis* e *Campylobacter lari* são cada vez mais frequentes (JANEZ et al., 2013).

Buscando identificar espécies de 24 isolados de *Campylobacter* por meio do teste API Campy, FERRO (2012) caracterizou 37,5% como pertencentes à espécie *Campylobacter jejuni* subespécie *jejuni* 2, 29,2% *Campylobacter jejuni* subespécie *jejuni* 1, 25% *Campylobacter jejuni* subespécie *doylei*, 4,2% *Campylobacter coli* e 4,2% a *Campylobacter lari*, afirmando que as alterações geográficas e climáticas também podem definir o perfil de espécies circulantes. Observou-se certa similaridade aos achados do presente estudo.

ZENDEHBAD et al. (2013) propuseram avaliar a prevalência de *Campylobacter* em carcaças de aves, dentre elas as de frango, disponibilizadas para o comércio em Mashhad, Irã. Dentre as carcaças positivas, as espécies identificadas foram *Campylobacter jejuni* (80,8%) e *Campylobacter coli* (19,3%), explicitando coerência às demais observações feitas em outros países, variando-se a frequência de observação, dependente de fatores que envolvem desde o ciclo de produção até a exposição para o comércio.

Acrescenta-se que estas espécies apresentam grande poder de adaptação fisiológica às situações hostis do ambiente (BHADURI & COTTRELL, 2004; CHAN et al., 2011), contrariando as declarações de que *Campylobacter* termotolerantes são altamente suscetíveis ao estresse pelas alterações que podem ocorrer quando do seu resfriamento culminando em declínio das populações bacterianas (GEORGSSON et al., 2006; GARÉNAUX et al., 2009), principalmente quando efetuado nas primeiras cinco horas de armazenamento. Esta afirmação é contrária aos achados deste estudo, uma vez que as amostras estavam estocadas em refrigeradores e congeladores dos estabelecimentos comerciais por períodos maiores que 24 horas.

Estudo sobre exposição ao risco pela presença de *Campylobacter* termotolerantes em alimentos, preconizavam o congelamento para eliminação do patógeno, bem como caracterizam a etapa de refrigeração como um ponto de

controle (FAO/WHO, 2009[a]) a ser mensurado em função do tempo e temperatura, associados ao tipo de embalagem. Atualmente, apesar de transcorridos apenas cinco anos, identificou-se que estas bactérias se adaptam facilmente às duas situações e mantêm a viabilidade (WASSENAAR, 2011), porém não podem ser cultivadas em laboratório, mas expressam reações de cunho enzimático e/ou imunológico, o que reforça os achados deste estudo para amostras positivas ao método de triagem e negativas ao isolamento convencional.

Analisando a Tabela 2, pode-se verificar que dos isolados identificados, 50% referiu-se à *Campylobacter jejuni*, 30% à *Campylobacter lari* e 20% à *Campylobacter coli*. MOORE et al. (2002), em seu artigo de revisão, declararam que *Campylobacter jejuni* foi a espécie de maior frequência de isolamento, seguida de *Campylobacter coli*, na Europa e Estados Unidos a partir da década de 90, o que pode ser evidenciado, parcialmente, neste estudo. No entanto, os mesmos autores mencionaram que *Campylobacter lari* é classificada como de ocorrência rara, o que não se observou.

Considerando a ocorrência de *Campylobacter jejuni*, sabe-se que a subespécie II é a de maior frequência (FERNÁNDEZ & TORRES, 2000), em vários países do mundo, fato similar ao das regiões pesquisadas na cidade de Goiânia.

A partir da frequência de *Campylobacter* encontrados em carcaças de frango e ovos comerciais, observa-se que dos 20 mercados visitados, 12 (60%) apresentaram pelo menos uma amostra contaminada. Desses 12 mercados, 83,3% apresentavam não conformidade, dentre as quais mais comuns podem ser citadas, amostras com temperatura fora do limiar característico de produtos resfriados (0°C - 5°C), gôndola sem indicação de temperatura, sangue residual nas gôndolas, produtos dispostos de maneira desorganizada, gôndolas mal higienizadas, carcaças de frango em contato direto com outras matrizes alimentares e gôndola de exposição de ovos em áreas com temperatura imprópria para este tipo de alimento.

Estratificando os resultados por distritos sanitários, no quais se localizavam as unidades comerciais no município de Goiânia (Tabela 3), percebe-se que a maior ocorrência do patógeno relaciona-se ao distrito Centro-Campinas (41,6%), região caracterizada pela grande concentração populacional, pela presença de

grandes unidades de comércio varejista de alimentos e pelo alto grau de atividade comercial.

Tabela 3 - Frequência de incidência de *Campylobacter* spp. por distrito sanitário do município de Goiânia, Goiás

Distritos sanitários	Incidência <i>Campylobacter</i> spp.	Espécies identificadas
Centro-campinas	41,6%	<i>C.jejuni</i> ; <i>C.coli</i> ; <i>C.lari</i>
Oeste	-	-
Leste	25%	<i>C.jejuni</i> ; <i>C.lari</i>
Norte	8,3%	<i>C.lari</i>
Noroeste	8,3%	-
Sudoeste	8,3%	<i>C.coli</i>
Sul	8,3%	<i>C.jejuni</i>
Total	100%	

Outro dado relevante, refere-se ao fato de que de sete carcaças positivas para *Campylobacter* spp., todas (100%) apresentaram não conformidades por embalagem rompida e/ou estriada. Ainda para carcaças, seis delas (85,7%) apresentavam quantidade excessiva de exsudado que pode ser avaliado com um indicativo de que a carcaça foi submetida a oscilações de temperatura prejudiciais para a qualidade e estocagem correta do produto.

Pela avaliação dos dados da Tabela 3, é possível inferir que a distribuição das espécies teve maior variabilidade nos distritos onde a ocorrência do patógeno ocorreu em maiores proporções, como no distrito Centro-campinas onde observou-se a distinção de três espécies de *Campylobacter* e distrito Leste com duas espécies identificadas.

Para a dúzia de ovos considerada positiva, durante a inspeção da amostra, notou-se que a mesma apresentava resquícios de matéria orgânica em sua casca (sangue, fezes ou penas) e grande quantidade de trincas, o que corrobora com as descrições de FONSECA (2011).

Um fator interessante refere-se à variabilidade às provas bioquímicas observadas para a subespécie, como pode ser visualizado na Tabela 4. Estas variações relacionam-se à hidrólise do hipurato e à assimilação da arginina, conferindo diferenciação para invasividade, em uma mesma subespécie.

Por sua vez, *Campylobacter lari* era mais frequentemente associada a gaivotas, água e a mariscos, na Europa e no Japão. No entanto, MATSUDA &

MOORE (2011) reportaram que nas três últimas décadas esta espécie tem demonstrado distribuição mundial e vinculada às mais diferentes espécies e animais domésticos e de produção, o que aumentou sua associação a surtos alimentares.

Outro dado importante é seu perfil bioquímico, classificado como divergente da maioria das espécies termotolerantes, uma vez que são denominadas urease positiva (UPTC – urease positivo *Campylobacter* termotolerantes). No presente estudo, os três isolados classificados como *Campylobacter lari* apresentaram resposta negativa à prova da urease.

Observando a Tabela 4, pode-se afirmar que espécies identificadas e não identificadas apresentam respostas variáveis para o gênero, aos testes do sistema API. Isso permite afirmar o grau de variabilidade fenotípica dos isolados caracterizados, situação comum para o gênero e por tal motivo, tão representativa para o mapeamento e rastreabilidade dos isolados identificados em granjas e nos alimentos, por consequência.

Pelos dados expostos, pode-se reafirmar a concordância aos achados de KUANA et al. (2009), quando mencionaram a possível variabilidade numa mesma espécie e a ocorrência de mutantes para o gênero, como mencionado por ON, em 1996; ocasião em que iniciaram-se as observações de reemergência do patógeno.

As descrições de VAN PUTTEN et al. (2009), fazem ressurgir a discussão pertinente ao estudo, por haver detalhamento do alto grau de diversidade fenotípica própria de *Campylobacter jejuni*. Observando a Tabela 4, pode-se verificar a variabilidade de resposta à prova referente à glutamina, derivada da variação alélica para gene que codifica a gamaglutamiltranspeptidase (GGT), em síntese esta variação influencia a colonização intestinal bacteriana e a resposta imunológica do hospedeiro.

Tabela 4 - Perfil bioquímico e suscetibilidade a antimicrobianos dos isolados, caracterizados ou não, pelo sistema API

<i>Campylobacter jejuni</i>																					
Amostra	URE	NIT	EST	HIP	GGT	TTC	PryA	ArgA	AspA	PAL	H ₂ S	GLU	SUT	NAL	CFZ	ACE	PROP	MLT	CIT	ERO	CAT
Carcaça 1	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+
Carcaça 5	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
Carcaça 5	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+
Carcaça 6	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
Pool ovos	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+
	SV*	SV	SV	CV**	CV	SV	SV	CV	SV	SV	SV	SV	CV	SV	SV	CV	SV	CV	CV	SV	SV
<i>Campylobacter coli</i>																					
Amostra	URE	NIT	EST	HIP	GGT	TTC	PryA	ArgA	AspA	PAL	H ₂ S	GLU	SUT	NAL	CFZ	ACE	PROP	MLT	CIT	ERO	CAT
Carcaça 2	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Carcaça 3	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	CV	SV	CV	SV	SV	SV	SV	SV	SV
<i>Campylobacter lari</i>																					
Amostra	URE	NIT	EST	HIP	GGT	TTC	PryA	ArgA	AspA	PAL	H ₂ S	GLU	SUT	NAL	CFZ	ACE	PROP	MLT	CIT	ERO	CAT
Carcaça 2	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Carcaça 4	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Carcaça 5	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	CV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV	SV
Perfil inaceitável																					
Amostra	URE	NIT	EST	HIP	GGT	TTC	PryA	ArgA	AspA	PAL	H ₂ S	GLU	SUT	NAL	CFZ	ACE	PROP	MLT	CIT	ERO	CAT
Carcaça 1	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+
Carcaça 6	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Carcaça 7	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Carcaça 8	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Carcaça 9	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+
Carcaça 10	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Carcaça 8	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Carcaça 11	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
Pool ovos	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+

* SV = sem variação; ** CV = com variação; URE = Ureia; NIT = Nitrito de potássio; EST = 5-bromo-4-cloro-3-indoxil-acetato; HIP = Hipurato de sódio; GGT = ácido γ -L-glutâmico- β -naftilamina; TTC = Cloreto de trifeniltetrazolium; PryA = ácido piroglutâmico- β naftilamido; ArgA = L-arginina-4-metoxi- β naftilamido; AspA = ácido aspartato- β naftilamido; PAL = 2-naftil fosfato; H₂S = Sulfeto de hidrogênio; GLU = D-glucose; SUT = Succinato de sódio; NAL = ácido nalidíxico; CFZ = Cefazolina de sódio; ACE = acetato de sódio; PROP = ácido propionico; MLT = ácido málico; CIT = citrato de trisódio; ERRO = eritromicina

Estudo realizado com o objetivo de comparar o sistema API Campy com o método bioquímico tradicional, mostrou que entre os métodos não há diferença significativa de eficácia uma vez que a concordância obtida entre as técnicas para determinação do gênero *Campylobacter* foi de 100% e para *Campylobacter jejuni* de 96% e 97% para *Campylobacter coli* (SHIH, 2000).

Quando comparadas aos métodos genotípicos de identificação, como a reação em cadeia pela polimerase, o método API Campy é menos eficaz, principalmente no que diz respeito aos perfis indeterminados comuns no método bioquímico. MARINOU et al. (2012), submeteram 16 isolados ao teste API Campy e à reação em cadeia pela polimerase, identificando-se sete dos 16 isolados e todos os isolados, respectivamente.

KUANA et al. (2009), detectaram a presença do patógeno por métodos convencionais e o mesmo não ocorreu quando as amostras foram testadas no API Campy, isso comprova que existe a presença do microrganismos na amostra, porem a mesma não pode ser confirmada.

Ainda assim, avaliando o perfil inaceitável que pode ser denominado também por indefinido, não se pode afirmar que os isolados não sejam pertencentes ao gênero, isto partindo-se do pressuposto que pode ter ocorrido o isolamento de bactéria do gênero, mas que suas características bioquímicas denotem variabilidade não prevista no rol de microrganismos catalogados. Ainda, permite-se avaliar que para a elaboração das provas, as colônias devem ser ressuspendidas e podem ter assumido o caráter de bactérias viáveis e não cultiváveis, alterando a resposta ao isolamento e ao perfil bioquímico (ON, 2013).

Também, cabe ressaltar, que a definição para espécie e subespécie, deriva do banco de dados registrado para o sistema API, de grande utilidade clínica, mas que pode não acompanhar as possíveis variações em sequências proteicas e de genes, observadas em *Campylobacter* termotolerantes em função da alta variabilidade descrita por pesquisadores, como a hipervariabilidade de proteínas de membrana e por variação genética, em resposta à adaptação, descrita por Van Putten et al. (2009).

Outro fator avaliado referiu-se à suscetibilidade a antimicrobianos, que pode ser verificado na Tabela 5. Foram avaliados 10 isolados classificados, provenientes das sete amostras positivas, validadas pelo sistema API

Campy. Os resultados encontrados, sustentam que 100% dos isolados apresentaram perfil de resistência à eritromicina, assim como para ciprofloxacina e tetraciclina.

Para ácido nalidíxico, um isolado de *Campylobacter lari* foi considerado sensível, havendo 91,7% de isolados resistentes para as três espécies identificadas. Em relação a ceftriaxona, identificou-se que 91,7% dos isolados foram resistentes e apenas um isolado mostrou-se com sensibilidade intermediária, relacionando-se a *Campylobacter coli*.

Cloranfenicol, com uso proibido na terapêutica veterinária, apresentou ser mais eficaz para tratamento humano, sendo sensível em 33,3%, com sensibilidade intermediária para 16,7% e 50% de resistência para os isolados. Estes dados reforçam a preocupação dos órgãos de saúde, pela baixa expectativa de êxito para o tratamento da campilobacteriose, quando da necessidade de eleição de antimicrobianos. Vale ressaltar que as bases avaliadas neste estudo, são aquelas preconizadas para o tratamento e intervenção, inclusive dos quadros de campilobacteriose que decorrem em Síndrome de Guillian Barré.

Outro dado preocupante obtido por meio deste estudo foi que 100% dos isolados apresentaram perfil de multiresistência a antibióticos, que é quando o mesmo isolado apresenta resistência simultânea a duas ou mais bases de antibióticos. Dos dez isolados testados, quatro (40%) apresentaram resistência às seis bases testadas, 5 (50%) apresentaram resistência à cinco bases de antibióticos e uma (10%) apresentou resistência à quatro antibióticos testados (Tabela 5).

Estudo que buscou avaliar a resistência a antimicrobianos de isolados originados de carcaças avícolas disponibilizadas para comércio no Irã, constatou que apenas 0,7% dos isolados eram resistentes à eritromicina, 81,9% resistentes à ciprofloxacina, 73,3% ao ácido nalidíxico, 67,8% resistentes à tetraciclina e 4,7% resistentes ao cloranfenicol. Ainda sobre este trabalho, obteve-se que em 59,1% dos isolados a multiresistência foi percebida (ZENDEHBAD et al., 2013). Observa-se que as mesmas bases empregadas no presente estudo subsidiaram a pesquisa iraniana, uma vez que esta tem sido a recomendação recente, pelos organismos de saúde,

como forma de informar quais as que devem ser eleitas quando da necessidade de tratamento para humanos.

Situação e estudo similar foi desenvolvido por DYKES et al. (2013), na Itália, quando avaliaram a resistência de *Campylobacter* isolados de carcaças de frangos e perus comercializadas no sul do país, região considerada como de alta ocorrência de surtos. Os autores observaram que 72,1% dos isolados eram resistentes à eritromicina, 48,8% para ciprofloxacina, ácido nalidíxico foi resistente a 79,1% dos isolados testados, 90,7% resistentes a tetraciclina e 32,3% resistentes ao cloranfenicol, havendo parcial concordância com o presente estudo.

Pesquisa realizada por WIECZOREK et al. (2013), elucidou que os valores de resistência são característicos e particulares de cada região geográfica avaliada. Ao avaliarem a suscetibilidade a antimicrobianos na Austrália, Polônia e Malásia concluíram que os perfis genéticos de cada país influenciavam diretamente no perfil de suscetibilidade encontrados. Na Austrália, os isolados foram suscetíveis a quase todas as bases testadas onde uma única estirpe foi resistente ao ácido nalidíxico e outra à tetraciclina. Já na Polônia, os isolados foram comumente resistentes à ciprofloxacina, ácido nalidíxico e tetraciclina. A maior frequência de resistência e/ou multiresistência foi encontrada na Malásia, onde mais de 60% dos isolados foram resistentes aos antimicrobianos testados. Esta informação é preponderante para as constatações feitas.

BENOIT et al. (2013), realizaram avaliação da resistência de *Campylobacter* spp. isolados de amostras fecais com gastroenterite infecciosa e os resultados revelaram que o patógeno explicitou maior resistência à eritromicina, ciprofloxacina e ácido nalidíxico e menor valor de resistência ao cloranfenicol. Mesmo os isolados sendo obtidos de amostras distintas, os resultados encontrados mostram similaridade com os resultados deste estudo.

O elevado índice de resistência encontrado nesse estudo tem diversas hipóteses, dentre elas a principal é a multiplicidade genotípica desenvolvida pelos patógenos e seleção dessas características mediada pela exposição inadequada às bases de antimicrobianos, seja nos casos onde esses são usados como promotores de crescimento nos sistemas intensivos de criação

que assim o permitem ou pela terapêutica incorreta na clínica veterinária e humana.

Vários mecanismos de resistência de *Campylobacter* termotolerantes a antibióticos são relatados, que incluem mutação dos genes alvo e de sistemas de bomba de efluxo ativos. As quinolonas tem como alvo na célula bacteriana a DNA girase, quando a resistência é adquirida normalmente nota-se que ocorre substituição de aminoácidos na subunidade gyrA, alterando a codificação da DNA girase criando uma região determinante de resistência (QRDR) (BOLTON et al., 2013). Por esta informação, constata-se o perfil preocupante de resistência observado nos isolados avaliados.

Ainda segundo BOLTON et al. (2013), dois mecanismos de resistência são relatados, a modificação do alvo antibiótico e remoção do princípio ativo da droga por meio de bomba de efluxo. Os macrolídeos agem se ligando ao ribossomo bacteriano interferindo na síntese proteica, interrompendo assim o crescimento bacteriano. O primeiro mecanismo de evasão normalmente é mediado por mutações resultando em fenótipos resistentes ao princípio ativo da droga. O segundo mecanismo é mediado por uma proteína de membrana externa, uma de membrana interna transportadora e uma proteína de fusão, onde por meio desse conjunto a extrusão do princípio ativo antimicrobiano é possível. Assim sendo, em situações de reconhecimento pela variabilidade genética pode ocorrer o perfil de resistência, o que pode explicar os resultados registrados na pesquisa em discussão.

Tabela 5 – Perfil de suscetibilidade dos isolados a antimicrobianos, (R) resistente, (S), sensível e (I) sensibilidade intermediária

Amostras	Eritromicina S ≥20mm R < 20mm	Ciprofloxacina S ≥26mm R < 26mm	Ac.Nalidíxico S ≥20mm R ≤19mm	Tetraciclina S ≥30mm R < 30mm	Ceftriaxona S ≥28mm I 24-27mm R ≤ 23mm	Cloranfenicol S ≥17mm I 15-16mm R < 14mm
Carçaça 1 <i>C. jejuni</i>	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)
Carçaça 2 <i>C. lari</i>	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)	(S)
Carçaça 2 <i>C. coli</i>	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)
Carçaça 3 <i>C. coli</i>	(R)	(R)	(R)	(R)	(I)	(S)
Carçaça 4 <i>C. lari</i>	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)
Carçaça 5 <i>C.jejuni</i>	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)	(I)
Carçaça 5 <i>C.jejuni</i>	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)
Carçaça 5 <i>C.lari</i>	(R)	(R)	(S)	(R)	(R)	(R)
Carçaça 6 <i>C. jejuni</i>	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)	(S)
Pool ovos <i>C.jejuni</i>	(R)	(R)	(R)	(R)	(R)	(I)

Para ZENDEHBAD et al. (2013), a alta resistência de *Campylobacter* termotolerantes à ciprofloxacina, tetraciclina, ocorreu pelo fato de que no Irã na última década a tetraciclina e a enrofloxacin, intimamente ligada à ciprofloxacina, terem sido usadas indiscriminadamente na terapêutica veterinária, tanto na prevenção e controle de doenças aviárias. O uso de antibióticos em animais destinados ao consumo humano também foi apontado por WIECZORECK et al. (2013), como uma das principais causas para os índices de resistência encontrados em diversos países. Esta mesma situação foi registrada quando da produção dos plantéis avícolas brasileiros.

Mesmo que as gastroenterites infecciosas causadas por *Campylobacter* termotolerantes sejam de caráter auto-limitante, pacientes com infecções graves ou que pertençam a algum grupo de risco como idosos, mulheres gestantes, imunocomprometidos, crianças menores que cinco anos, podem requerer o uso de tratamento antimicrobiano, sendo assim o grande número de estirpes resistentes às bases comumente utilizadas, diminui em grande escala o sucesso da terapêutica, vindo a se tornar um grave problema de saúde pública.

6. CONCLUSÕES

1. Espécies termotolerantes de *Campylobacter* estão presentes em carcaças de frangos e ovos destinadas ao comércio varejista no município de Goiânia;
2. A espécie caracterizada como a de maior incidência foi *Campylobacter jejuni* subespécie *jejuni* 2. Também foram identificadas *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* e *Campylobacter jejuni* subespécie *jejuni* 1;
3. Isolados apresentaram expressiva resistência às bases de antimicrobianos testados e perfil de multirresistência;
4. O monitoramento oficial de *Campylobacter* termotolerantes em matrizes alimentares deve fazer parte do plano estratégico de redução de patógenos em produtos avícolas.

REFERÊNCIAS

1. AARESTRUP, F. M.; MCDERMOTT, P. F.; WEGENER, H. C. Transmission of antibiotic resistance from food animals to humans. In: NACHAMKIN, I.; SZYMANSKI, C. M.; BLASER, M. J. **Campylobacter**. National Food Institute, Washington, D. C., p. 645–665, 2008.
2. ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Microbiología de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia S.A, 1997.
3. AQUINO, M. H. C.; FILGUEIRAS, A. L. L.; MATOS, R.; SANTOS, K. R. N.; FERREIRA, T.; TEIXEIRA, L. M.; TIBANA, A. Diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Genotypes from Human and Animal Sources from Rio de Janeiro, Brazil. **Research in Veterinary Science** [online], Rio de Janeiro, v. 88, p. 214-217, 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528809002112>.
4. BAEK, K. T.; VEGGE, C. S.; SKÓRKO-GLONEK, J.; BRONDSTED, L. Different Contributions of HtrA Protease and Chaperone Activities to *Campylobacter jejuni* Stress Tolerance and Physiology. **Applied and Environmental microbiology**, [online], Copenhagen, v. 77, p. 57-66, 2011. Disponível em: <http://aem.asm.org/content/77/1/57.full.pdf+html>.
5. BAPTISTA, P. Higienizacao de equipamentos e instalações na industria agro-alimentar. Forvisão – Consultoria de formação integrada-LTDA. 1ed. 2003.
6. BARE, J.; UYTENDAELE, M.; HABIB, I.; DEPRAETERE, O.; HOUF, K.; ZUTTER, L. D. Variation in *Campylobacter* distribution on different sites of broiler carcasses. **Food Control**, Bélgica, v. 32, p. 279-282, 2013.
7. BAYLIS, C. L.; MACPHEE, S.; MARTIN, K. W.; HUMPHREY, T. J.; BETTS, R. P. Comparison of three enrichment media for the isolation of *Campylobacterspp.* from foods. **Journal of Applied Microbiology** [online], Gloucestershire, v. 89, n. 5, p. 884-891, 2000. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11119165>
8. BENOIT, S. R.; LOPEZ, B.; ARVELO, W.; HENAO, O.; PARSONS, M. B.; REYES, L.; MOIR, J. C.; LINDBLADE, K. Burden of laboratory-confirmed *Campylobacter* infections in Guatemala 2008–2012: Results from a facility-based surveillance system. **Journal of Epidemiology and Global Health** [online], Atlanta 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2210600613001068>
9. BIASI, R. S.; MACEDO, R. E. F.; MALAQUIAS, M. A. S.; FRANCHIN, P. R. Prevalence, strain identification and antimicrobial resistance of

- Campylobacter* spp. isolated from slaughtered pig carcasses in Brazil. **Food Control** [online], São José dos Pinhais, v. 22, p. 702-707, 2011. Disponível em : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713510003373>
10. BIOMÉRIEUX. **VIDAS® Campylobacter**. REF 30111-07999 H - pt - 2010/10, 6 páginas.
 11. BIOMÉRIEUX. BioMérieux em foco, **Bionews**, [online], v. 5, 2011. Disponível em: http://www.biomerieux.com.br/upload/Bionews_Industria_20112.pdf.
 12. BIRK, T., INGMER, H., ANDERSEN, M.T., JØRGENSEN, K., BRØNDSTED, L., Chicken juice, a food-based model system suitable to study survival of *Campylobacter jejuni*. **Letters Applied Microbiology**, Oxford, v. 38, n. 1, p. 66–71, 2004.
 13. BOLTON, D.; PATRIARCHI, A.; FOX, A.; FANNING, S. A study of the molecular basis of quinolone and macrolide resistance in a selection of *Campylobacter* isolates from intensive poultry flocks. **Food Control** [online], Dublin, v. 30, p. 222-226, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512003763>
 14. BOLTON, F.J., HUTCHINSON, D.N., COATES, D. Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 19, p. 169-171, 1984.
 15. BONJOCH, X., CALVÓ, L., SOLER, M., RUIZ-RUEDA, O., GARCIA-GIL, L. J. A New Multiplexed Real-Time PCR Assay to Detect *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C. upsaliensis*. **Food Analytical Methods**, [online], Girona, v. 3, p. 40-46, 2010. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/s12161-009-9110-3>
 16. BUTZLER, J. P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. **Clinical Microbiology and Infection**, [online], v. 10, p. 868-876, 2004.
 17. BHADURI, S.; COTTRELL, B. Survival of cold-stressed *Campylobacter jejuni* on ground chicken and chicken skin during frozen storage. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 12, p. 7103-7109, Pensilvania, 2004.
 18. BLASER, M. J.; ENGBERG, J. Clinical aspects of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections. In: NACHAMKIN, I.; SZYMANSKI, C. M.; BLASER, M. J. **Campylobacter**. National Food Institute, Washington, D. C., p. 645–665, 2008.
 19. BRASIL. Instrução Normativa Nº 70, 10 outubro de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 10 out. 2003. Seção 1, p. 9.

20. BRASIL – Ministério da Saúde. **Secretária de Vigilância em Saúde/UHA/CGDT. Dados epidemiológicos – DTA período de 2000-2011**, 2012.
21. BROIDES, A., LEV-TZION, R., AND LEIBOVITZ, E. *Campylobacter* gastroenteritis associated with convulsions: Case report and review of the literature. **Journal of Pediatric Infectious Diseases**, v.5, p. 199-201, 2010.
22. CANER V, COKAL Y, CETIN C, SEN A, KARAGENC N. The detection of hipO gene by real-time PCR in thermophilic *Campylobacter* spp. with very weak and negative reaction of hippurate hydrolysis. **Antonie van Leeuwenhoek**, [online], Wageningen, v. 94, p. 527-532, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18665452>
23. CALCIATI, E.; LAFUENTE, S.; SIMÓ, M. D.; BALFAGON, P.; BARTOLOMÉ, R.; CAYLÀ, J. A *Campylobacter* outbreak in a Barcelona school. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, [online], Barcelona, v. 30, n. 5, p. 243-245, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X11003223>
24. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food - 10 states, 2009**, Washington, 2010. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5914a2.htm>.
25. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Preliminary FoodNet data on the incident of infection with pathogens transmitted commonly through food**, 2011. Disponível em: <http://www.cdc.gov/outbreaknet/outbreaks.html>.
26. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Incidence and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food --- Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 1996—2012. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, [online], v. 62, n. 15, p. 283-287, 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21659984>
27. CHAISOWWONG, W., KUSUMOTO, A., HASHIMOTO, M., HARADA, T., MAKLON, K., KAWAMOTO, K. Physiological characterization of *Campylobacter jejuni* under cold stresses conditions: its potential for public threat. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 74, n.1, p.43-50, 2012.
28. CHAN, K. F.; TRAN, H. L.; KANENAKA, R. Y.; KATHARIOU, S. Survival of Clinical and Poultry-Derived Isolates of *Campylobacter jejuni* at a Low Temperature (4°C). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 9, p. 4186-4191, 2001.

29. CHANDAN, V.; FRASER, A. D. E.; BROOKS, B. W.; YAMAZAKI, H. Simple extraction of *Campylobacter* lipopolysaccharide and protein antigens and production of their antibodies in egg yolk. **International Journal of Food Microbiology** [online], Ontario, v. 22, p. 189-200, 1994. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Simple+extraction+of+Campylobacter+lipopolysaccharide+and+protein+antigens+and+production+of+their+antibodies+in+egg+yolk>.
30. CHOWDHURY, S.; SANDBERG, M.; THEMUDO, G. E.; ERSBOOL, A. K. The effect of presence of infected neighbouring farms for the *Campylobacter* infection status in Danish broiler farms. **Spatial and Spatio-temporal Epidemiology** [online], Copenhagen, v. 3, p. 311-322, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877584512000676>
31. CHRISTENSEN, B. B.; NAUTA, M.; KORSGAARD, H.; SORENSEN, A. I. V.; ROSENQUIST, H.; BOYSEN, L.; PERGE, A.; NORRUNG, B. Case-by-case risk assessment of broiler meat batches: An effective control strategy for *Campylobacter*. **Food Control** [online], Copenhagen, v. 31, p. 485-490, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351200583X>
32. DAVIS, M. A., CONNER, D. E. Survival of *Campylobacter jejuni* on Poultry Skin and Meat at Varying Temperatures. **Poultry Science**, v. 86, p. 765–767, 2007
33. DEBRUYNE, L., GEVERS, D., VANDAMME, P. taxonomy of the family *Campylobacteraceae* in: *Campylobacter*, Washington, 3 ed, p. 1-25, 2008.
34. DENIS, M.; CHIDAINE, B.; LAISNEY, M. J.; KEMPF, I.; RIVOAL, K.; MEGRAUD, F.; FRAVALO, P. Comparison of genetic profiles of *Campylobacter* strains isolated from poultry, pig and *Campylobacter* human infections in Brittany, France. **Pathologie Biologie** [online], Ploufragan, v. 57, p. 23-29, 2009. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0369811408001132>
35. DYKES, G. A.; SAMPATHKUMAR, B.; KORBER, D. R. Planktonic or biofilm growth affects survival, hydrophobicity and protein expression patterns of a pathogenic *Campylobacter jejuni* strain. **International Journal of Food Microbiology** [online], Tingalpa, v. 89, p. 1-10, 2003. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160503001235>
36. EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Disponível em: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/EUCAST_Breakpoint_table_v_3.0.pdf

37. EFSA - European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on the request from the Commission related to *Campylobacter* in animals and foodstuffs. **The EFSA Journal**, [online], 2005.
38. EFSA - European Food Safety Authority. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005. **EFSA Journal** [online], v. 11, 2006.
39. EFSA - European Food Safety Authority. Scientific opinion on campylobacter in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. **EFSA Journal** [online], v. 9, 2011.
40. EFSA – European Food Safety Authority. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. **EFSA Journal**, [online], v. 10, n. 3, 2012.
41. EIDEH, A. M., AL-QADIRI, H. M. Effect of refrigerated and frozen storage on the survival of *Campylobacter jejuni* in cooked chicken meat breast. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, p. 17-21, 2011.
42. ELLERBROEK, L. I.; LIENAU, J. A.; KLEIN, G. *Campylobacter* spp. in broiler flocks at farm level and potential for cross-contamination during slaughter. **Zoonoses and Public Health**, [online], v. 57, p. 81-88, 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Campylobacter+spp.+in+broiler+flocks+at+farm+level+and+potential+for+cross-contamination+during+slaughter>
43. EL-SHIBINY, A., CONNERTON, P., CONNERTON, I. Survival at refrigeration and freezing temperatures of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* on chicken skin applied as axenic and mixed inoculums. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, p. 197-202, 2009.
44. FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. 2009. **Salmonella and Campylobacter in chicken meat: meeting report**. Rome. 2009(a). 56 p. (Microbiological Risk Assessment Series, 19.)
45. FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. 2009. **Risk assessment of Campylobacter spp. in broiler chickens: Interpretative Summary**. Geneva. 2009(b). 35 p. (Microbiological Risk Assessment Series, 11.)
46. FARMER, S.; KEENAN, A.; VIVANCOS, R. Food-born *Campylobacter* outbreak in Liverpool associated with cross-contamination from chicken liver

- parfait: implications for investigation of similar outbreaks. **Public Health**, v. 26, p. 657-659, 2012.
47. FEDERIGHI, M.; THOLOZAN, J. L.; CAPPELIER, J. M.; TISSIER, J. P.; JOUVE, J. L. Evidence of non-cocoid viable but non-culturable *Campylobacter jejuni* cells in microcosmwater by direct viable count, CTC-DAPI double staining, and scanning electron microscopy. **Food Microbiology** [online], Villeneuve d'Ascq, v. 15, p. 539-550, 1998. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002098901812>
48. FERNANDES, M.; MENA, C.; SILVA, J.; TEIXEIRA, P. Study of Cytolethal Distending Toxin (cdt) in *Campylobacter coli* Using a Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay and Its Distribution Among Clinical and Food Strains. **Foodborne Pathogens and Disease** [online], Porto, v. 7, n. 1, p. 103-106, 2010. Disponível em: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/fpd.2009.0326>
49. FERNANDEZ, H. Família campylobacteriaceae. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5ª Edicao. Ed. Atheneu, 2008. Cap. 47, p. 357-362.
50. FERRO, I. D. **Avaliação de diferentes métodos para a detecção e contagem de *Campylobacter* spp. isolado de carcaças de frango no estado do paraná e determinação da prevalência e resistência antimicrobiana dos isolados**. 2012. 129f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Paraná.
51. FONSECA, B. B. **Transmissão vertical de *Campylobacter* sp. em um sistema de produção avícola**. 2006, 65f. Dissertação (Mestre em Ciências veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
52. FONSECA, B. B. **Resposta celular à infecção por *Campylobacter jejuni* em embriões e explants de íleo de aves e participação do citoesqueleto e lisossomo no processo de invasão em células caco-2**. 2011, 111f. Tese (Doutor em Imunologia e Parasitologia aplicadas) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade federal de Uberlândia, Uberlândia.
53. FDA – U.S Food and Drug Administration. *Campylobacter jejuni*. **Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook**, 2012. Disponível em: <http://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/causesofillnessbadbugbook/ucm070024.htm>.
54. FRANCO, B. D. G M., LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**, São Paulo, ed. Atheneu. 2008.

55. FREDIANI-WOLF, V.; STEPHAN, R. Resistance patterns of *Campylobacter* spp. Strains isolated from poultry carcasses in a big Swiss poultry slaughterhouse. **International Journal of Food Microbiology**, v. 89, p. 233-240, 2003.
56. FRIEDMAN, C. R.; HOEKSTRA, R. M.; SAMUEL, M.; MARCUS, R.; BENDER, J.; SHIFERAW, B.; REDDY, S.; AHUJA, S. D.; HELFRICK, D. L.; HARDNETT, F.; CARTER, M.; ANDERSON, B.; TAUXE, R. V. Risk Factors for Sporadic *Campylobacter* Infection in the United States: A Case-Control Study in FoodNet Sites. **Clinical Infectious Diseases** [online], Oxford, v. 38, p. 285-296, 2004. Disponível em: http://cid.oxfordjournals.org/content/38/Supplement_3/S285.short
57. GANGAIAH, D., KASSEM, I. I., LIU, Z., RAJASHEKARA, G. Importance of Polyphosphate Kinase 1 for *Campylobacter jejuni* Viable-but-Nonculturable Cell Formation, Natural Transformation, and Antimicrobial Resistance. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 7838–7849, 2009.
58. GARÉNAUX, A.; RITZ, M.; JUGLAU, F.; RAMA, F.; FEDERIGHI, M.; JONGE, R. Role of oxidative stress in *C.jejuni* inactivation during freeze-thaw treatment. **Current Microbiology**, v. 58, n. 2, p. 134-138, 2009.
59. GE, B.; WANG, F.; KARLSSON, M. S.; McDERMOTT, P.F. Antimicrobial resistance in *Campylobacter*: Susceptibility testing methods and resistance trends. **Journal of Microbiological Methods** [online], Maryland, v. 95, p. 57-67, 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23827324>
60. GEORGSSON, F.; PORKEISSON, A. E.; GEIRSDOTTIR, M.; REIERSEN, J.; STERN, N. J. The influence of freezing and duration of storage on *Campylobacter* and indicator bacteria in broiler carcasses. **Food Microbiology**, v. 23, p. 677-683, 2006.
61. GHARST, G.; OYARZABAL, O.; HUSSAIN, S. K. Review of current methodologies to isolate and identify *Campylobacter* spp. from foods. **Journal of Microbiological Methods** [online], Lake Forest Park, v. 95, p. 84-92, 2013. Disponível em: http://ac.els-cdn.com/S0167701213002315/1-s2.0-S0167701213002315-main.pdf?_tid=db0d662e-9af8-11e3-8fbb-00000aab0f01&acdnat=1392988117_3981b3d33e318953e6edbde37fbb1c09
62. HABIB, I.; UYTENDAELE, M.; DE ZUTTER, L. Survival of poultry-derived *Campylobacter jejuni* of multilocus sequence type clonal complexes 21 and 45 under freeze, chill, oxidative, acid and heat stresses. **Food Microbiology** [online], Merelbek, v. 27, p. 829-834, 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002010000833>
63. HOFFMANN, S.; BATZ, M. B.; MORRIS, J.; GLENN, J. Annual Cost of Illness and Quality-Adjusted Life Year Losses in the United States Due to 14

- Foodborne Pathogens. **Journal of Food Protection** [online], Gainesville, v. 75, n. 7, p. 1292-1302, 2012. Disponível em: <http://www.ingentaconnect.com/content/iafp/jfp/2012/00000075/00000007/art00014>
64. HOFREUTER, D., NOVIK, V., GALÁN, J.E. Metabolic Diversity in *Campylobacter jejuni* Enhances Specific Tissue Colonization. **Cell Host & Microbe**, [online], Augusta, v. 4, n. 5, p. 425-433, 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312808003090>
65. HUE, O.; ALLAIN, V.; LAISNEY, M. J.; BOUQUIN, S. L.; LALANDE, F.; PETETIN, I.; ROUXEL, S.; QUESNE, S.; GLOAGUEN, P. Y.; PICHEROT, M.; SANTOLINI, J.; BOUGEARD, S.; SALVAT, G.; CHEMALY, M. Prevalence of and risk factors for *Campylobacter* spp. contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse. **Food Microbiology**, Frengyang, v. 27, n. 8, p. 862-868, 2011.
66. HUMPHREY, T., O'BRIEN, S., MADSEN, M. *Campylobacters* as zoonotic pathogens: A food production perspective. **International Journal of Food Microbiology**, [online], Brussels, v.177, p. 237–257, 2007. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160507000815>
67. ISOHANNI, P.; HUEHN, S.; AHO, T.; ALTER, T.; LYHS, U. Heat stress adaptation induces cross-protection against lethal acid stress conditions in *Arcobacter butzleri* but not in *Campylobacter jejuni*. **Food Microbiology** [online], Seinäjoki, v. 34, p. 431-435, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S074000201300021X>
68. JACOBS, B. C.; BELKUM, V.; ENDTZ, H. P. Guillian-Barré syndrome and *Campylobacter* infection. In: NACHAMKIN, I.; SZYMANSKI, C. M.; BLASER, M. J. **Campylobacter**. National Food Institute, Washington, D. C., p. 645–665, 2008.
69. JANEZ, N.; CARRILLO, C. L. Use of phages to control *Campylobacter* spp.. **Journal of Microbiological Methods** [online], Salt Lake City, v. 95, p. 68-75, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701213001991>
70. JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6º Edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.
71. KARAGIANNIS, I., SIDEROGLOU, T., GKOLFINOPOULOU, K., TSOURI, A., LAMPOUSAKI, D., VELONAKIS, E. N., SCOULICA, E. V., MELLOU, K., PANAGIOTOPOULOS, T., BONOVAS, S. A water borne *Campylobacter jejuni* outbreak on a Greek island. **Epidemiology and Infection**, [online], Berlin, v. 138, n. 12, p. 1726 – 1734, 2010. Disponível em:

<http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=7916382>

72. KELLY, D. J. Metabolism, electron transport and bioenergetics of *Campylobacter jejuni*: Implications for understanding life in the gut and survival in the environment, Cap 14. In: **Campylobacter Molecular and Cellular Biology**, ed. 1, p. 453, 2005.
73. KOVALENKO, K.; ROASTO, M.; LIEPINS, E.; MAESSAR, M.; HORMAN, A. High occurrence of *Campylobacter* spp. in Latvian broiler chicken production. **Food Control**, v. 29, p. 188-191, 2013.
74. KUANA, S. L.; SANTOS, L R.; BEATRIZ, L.; SALLE, C. T. P.; MORAES, H. L. S.; NASCIMENTO, V. P. ocorrência de *Campylobacter* em frangos de corte e nas carcaças correspondentes. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia v. 9, n. 2, p. 480-486, 2008.
75. KURDIKIENE, E.; BUNEVICIENE, J.; BRONDSTED, L.; INGMER, H.; OLSEN, J. E.; MALAKAUSKAS, M. Evidence of broiler meat contamination with post-disinfection strains of *Campylobacter jejuni* from slaughterhouse. **International Journal of Food Microbiology**, [online], Kaunas, v. 145, p. 116-120, 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160510003661>
76. KLEIN, G.; BECKMANN, L.; VOLLMER, H. M.; BARTELT, E. Predominant strains of thermophilic *Campylobacter* spp. in a german poultry slaughterhouse. **International Journal of Food Microbiology**, [online], Hanover, v. 145, p. 324-328, 2007. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160507002620>
77. LEE, M.D.; NEWELL, D.G. *Campylobacter* in poultry: filling an ecological niche. **Avian diseases**, [online], v. 50, p. 1-9, 2006. Disponível em: <http://www.aaapjournals.info/doi/abs/10.1637/7474-111605R.1>
78. LIU, L.; HUSSAIN, S. K.; MILLER, R. S.; OYARZABAL, O. A. Efficacy of Mini VIDAS for the Detection of *Campylobacter* spp. from Retail Broiler Meat Enriched in Bolton Broth, with or without the Supplementation of Blood. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 11, p. 2428-2432, 2009. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670112002071>
79. LITTLE, C. L.; AMAR, C. F. L.; AWOFISAYO, A.; GRANT, K.A. Hospital-acquired listeriosis associated with sandwiches in the UK: a cause for concern. **Journal os Hospital Infection** [online], v.82, p. 13-18, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670112002071>
80. MAAL- BARED, R.; BARTLETT, K. H.; BOWIE, W. R.; HALL, E. R. *Campylobacter* spp. distribution in biofilms on different surfaces in an agricultural watershed (Elk Creek, British Columbia): Using biofilms to

- monitor for *Campylobacter*. **International Journal of Hygiene and Environmental Health** [online], Vancouver, v. 215, p. 270-278, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438463911002392>
81. MACRITCHIE, L. A.; HUNTER, C. J.; STRACHAN, N. J. C. Consumer acceptability of interventions to reduce *Campylobacter* in the poultry food chain. **Food Control**, v. 35, p. 260-266, 2014.
82. MALHER, X.; SIMON, M.; CHARNAY, V.; DESERTS, R. D.; LEHEBEL, A.; BELLOC, C. Factors associated with carcass contamination by *Campylobacter* at slaughterhouse in cecal-carrier broilers. **International Journal of Food Microbiology**, [online], Nantes, v. 150, p. 8-13, 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160511003813>
83. MAN, S. M. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology** [online], Cambridge, v. 8, p. 669-685, 2011. Disponível em: <http://www.nature.com/nrgastro/journal/v8/n12/abs/nrgastro.2011.191.html>
84. MARINOU, I., BERSIMIS, S., IOANNIDIS, A., NICOLAOU, C., MITROUSSIA-ZIOUVA, A., LEGAKIS, N. J., CHATZIPANAGIOTOU, S. Identification and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Species Isolated from Animal Sources. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, 2012.
85. MAVRI, A.; MOZINA, S. S. Development of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* adapted to biocides. **International Journal of Food Microbiology**, v. 160, p. 304-312, 2013.
86. MÉGRAUD, F., CHEVRIER, D., DESPLACES, N., SEDALLIAN, A., GUESDON, J.L. Urease-Positive Thermophilic *Campylobacter* (*Campylobacter laridis* Variant) Isolated from an Appendix and from Human Feces. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.26, p.1050-1051, 1988.
87. MEREDITH, H.; McDOWELL, D.; BOLTON, D. J. An evaluation of trisodium phosphate, citric acid and lactic acid cloacal wash treatments to reduce *Campylobacter*, total viable counts (TVC) and total enterobacteriaceae counts (TEC) on broiler carcasses during processing. **Food Control** [online], Dublin, v. 32, p. 149-152, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512006287>
88. MIHALJEVIC, R. R.; SIKIC, M.; KLANCNIK, A.; BRUMINI, G.; MOZINA, S. S.; ABRAM, M. Environmental stress factors affecting survival and virulence of *Campylobacter jejuni*. **Microbial Pathogenesis** [online], v. 43, p. 120-125, 2007. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401007000459>

89. MIWA, N.; TAKEGAHARA, Y.; TERAJ, K.; KATO, H.; TAKEUCHI, T. *Campylobacter jejuni* contamination on broiler carcasses of *C. jejuni*-negative flocks during processing in a Japanese slaughterhouse. **International Journal of Food Microbiology**, v. 84, p. 105-109, 2003.
90. MORENO, A. C. R.; FILHO, A. F.; GOMES, T. A. T.; RAMOS, S. T. S.; MONTEMOR, L. P. G.; TAVARES, V. C.; FILHO, L. S.; IRINO, K.; MATINEZ, M. B. Etiology of childhood diarrhea in the northeast of Brazil: significant emergent diarrheal pathogens. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease** [online], São Paulo, v. 66, p. 50-57, 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889308001946>
91. MOORE, J. E; MATSUDA, M. The history of *Campylobacter*: Taxonomy and nomenclature. **Irish Veterinary Journal**, Northern Ireland, [v. 55, p. 495 – 501, 2002.
92. MURPHY C., CARROLL, C., JORDAN, K. N. Identification of a novel stress resistance mechanism in *Campylobacter jejuni*. **Journal of Applied Microbiology**, London, v. 95, n. 4, p. 704–708, 2003.
93. MURPHY, C., CARROLL, C., JORDAN, K. N. Environmental survival mechanisms of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*. **Journal Applied Microbiology**, [online], Cork, v. 100, p. 623-632, 2006. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2006.02903.x/full>
94. MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica**. 6° Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.
95. MCDERMOTT, P. F.; BODEIS, S. M.; AARESTRUP, F. M.; BROWN, S.; TRACZEWSKI, M.; FEDORKA-CRAY, P.; WALLACE, M.; CRITCHLEY, I. A.; THORNSBERRY, C.; GRAFF, S.; FLAMM, R.; BEYER, J.; SHORTRIDGE, D.; PIDDOCK, L. J.; RICCI, V.; JOHNSON, M. M.; JONES, R. N.; RELLER, B.; MIRRETT, S.; ALDROBI, J.; RENNIE, R.; BROSNIKOFF, C.; TURNBULL, L.; STEIN, G.; SCHOOLEY, S.; HANSON, R. A.; WALKER, R. D. Development of a Standardized Susceptibility Test for *Campylobacter* with Quality-Control Ranges for Ciprofloxacin, Doxycycline, Erythromycin, Gentamicin, and Meropenem. **Microbial Drug Resistance** [online], East Lansing, v. 10, n. 2, p. 124-131, 2004. Disponível em: <http://online.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/1076629041310064>
96. NESBAKKEN, T., ECKNER, K., HØIDAL, H. K., RØTTERUD, O. J. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures. **International Journal of Food Microbiology**, [online], v. 80, p. 231–240, 2003. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160502001654>

97. NOBILE, C. G. A.; COSTANTINO, R.; BIANCO, A.; PILLEGI, C.; PAVIA, M. Prevalence and pattern of antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. in poultry meat in Southern Italy. **Food Control** [online], v. 32, p. 715-718, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513000868>
98. ON, S. L. W. Identification Methods for *Campylobacters*, *Helicobacters*, and Related Organisms. **Clinical Microbiology Reviews**, [online], Copenhagen, v. 9, p. 405-422, 1996. Disponível em: <http://cmr.asm.org/content/9/3/405.short>
99. ON, S. L. W. Isolation, identification and subtyping of *Campylobacter*. Where to from here? **Journal of Microbiological Methods**, Copenhagen, v. 95, p. 3-7, 2013.
100. PARK, S. F. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, [online], Amsterdam, v. 74, n. 3, p. 177 – 188, 2002. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816050100678X>
101. PAULA, A. T.; FONSECA, B. B.; SILVA, M. S.; ROSSI, D. A. Viability of *Campylobacter jejuni* in commercial eggs. **Journal Biosci** , Uberlândia, v. 25, n. 6, p. 143-148, 2009.
102. PEYRAT, M. B.; SOUMET, C.; MARIS, P.; SANDERS, P.; Recovery of *Campylobacter jejuni* from surfaces of poultry slaughterhouses after cleaning and disinfection procedures: Analysis of a potential source of carcass contamination. **International Journal of Food Microbiology**, [online], Javené, v. 124, p. 188-194, 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160508001542>
103. POTTURI-VENKATA, L. P.; BACKERT, S.; LASTOVICA, A. J.; VIEIRA, S. L.; NORTON, R. A.; MILLER, R. S.; PIERCE, S.; OYARZABAL, O. A. Evaluation of Different Plate Media for Direct Cultivation of *Campylobacter* Species from Live Broilers. **Poultry Science**, v. 86, p. 1304-1311, 2007.
104. QUETZ, J. S.; LIMA, I. F. N.; HAVT, A.; CARVALHO, E. B.; LIMA, N. L.; SOARES, A. M.; MOTA, R. M. S.; GUERRANT, R. L.; LIMA, A. A. M. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in children from communities in Northeastern Brazil: molecular detection and relation to nutritional status. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease** [online], Fortaleza, v. 67, p. 220-227, 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889310000817>
105. REES, J. H.; SOUDAIN, S. E.; GREGSON N. A.; HUGHES, R. A. C. *Campylobacter jejuni* infection and Guillain- Barré syndrome. **The New England Journal of Medicine**, [online], London, v. 333, p. 1374-1379,

1995. Disponível em:
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199511233332102>
106. REITER, M. G.; LOPEZ, C.; JORDANO, R.; MEDINA, L. M. Comparative Study of Alternative Methods for Food Safety Control in Poultry Slaughterhouses. **Food Analytical Methods** [online], Blumenthal, v. 3, n. 3, p. 253-260, 2010. Disponível em:
<http://link.springer.com/article/10.1007/s12161-010-9129-5>
107. REICH, F.; ATANASSOVA, V.; HAUNHORST, E.; KLEIN, G. The effects of *Campylobacter* numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*. **International Journal of Food Microbiology**, [online], Hanover, v. 127, p. 116-120, 2008. Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160508003462>
108. REVEZ, J.; SCHOTT, T.; LLARENA, A. K.; ROSSI, M.; HANNINEM, M. L. Genetic heterogeneity of *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 upon human infection. **Infection, Genetics and Evolution** [online], Helsinki, v. 16, p. 305-309, 2013. Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567134813000816>
109. ROLLINS, D. M., COLWELL, R. R. Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. **Applied Environmental Microbiology**, [online], v. 52, n. 3, 1986. Disponível em: <http://aem.asm.org/content/52/3/531.short>
110. ROSENQUIST, H.; SOMMER, H. M.; NIELSEN, N. L.; CHRISTENSEN, B. B. The effect of slaughter operations on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant *Campylobacter*. **International Journal of Food Microbiology**, [online], Søborg, v. 108, p. 226-232, 2006. Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160506000158>
111. SAXENA, M.; JOHN, B.; MU, M.; VAN, T. T. H.; TAKI, A.; COLOE, P. J.; SMOOKER, P. M. Strategies to reduce *Campylobacter* colonisation in chickens. **Procedia in Vaccinology** [online], v. 7, p. 40-43, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877282X1300009X>
112. Secretaria de Estado da Saúde/GO. Sistema Único de Saúde. Superintendência de Vigilância em Saúde. Gerência de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmissíveis. Coordenação de Controle das Doenças Hídricas e Alimentares. Informe Técnico de Intoxicação Alimentar / Surto de Doenças de Transmissão Alimentar (DTA), 2012.
113. SIGNORINI, M. L.; ZBRUN, M. V.; SCHARPEN, A. R.; OLIVERO, C.; BONGIOVANNI, F.; SOTO, L. P.; FRIZZO, L. S.; ROSMINI, M. R. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis by consumption

- of salad cross-contaminated with thermophilic *Campylobacter* spp. from broiler meat in Argentina. **Preventive Veterinary Medicine** [online], Buenos Aires, v. 109, p. 37-46, 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Quantitative+risk+assessment+of+human+campylobacteriosis+by+consumption+of+salad+cross-contaminated+with+thermophilic+Campylobacter+spp.+from+broiler+meat+in+Argentina>
114. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C. A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. *Campylobacter* spp in: **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.
115. SILVA, J.; LEITE, D.; FERNANDES, M.; MENA, C.; GIBBS, P. A.; TEIXEIRA, P. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. **Frontiers in Microbiology** [online], v. 2, p. 1-12, 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3180643/>
116. SOMMER, H. M.; HEUER, O. E.; SORENSEN, A. I. V.; MADSEN, M. Analysis of factors important for the occurrence of *Campylobacter* in Danish broiler flocks. **Preventive Veterinary Medicine** [online], Soborg, v. 111, p. 100-111, 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587713001426>
117. SON, I.; ENGLER, M.D.; BERRANG, M.E.; FEDORKA-GREY, P.J.; HARRISON, M.A. Prevalence of *Arcobacter* and *Campylobacter* on broiler carcasses during processing. **International Journal of Food Microbiology**, v. 113, P. 16-22, 2007.
118. SCALLAN, E.; HOEKSTRA, R. M.; ANGULO, F. J.; TRAUXE, R. V.; WIDDOWSON, M. A.; ROY, S. L.; JONES, J. L.; GRIFFIN, P. M. Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. **Emerging Infectious Diseases** [online], v. 17, n. 1, p. 7-16, 2011. Disponível em: <http://web.a.ebscohost.com/ehost/detail?sid=f935638f-0429-4a66-8210-beafb85c29db%40sessionmgr4004&vid=1&hid=4209&bdata=Jmxhbm9cHQtYnlmc2l0ZT1laG9zdC1saXZl#db=aph&AN=57551874>
119. SHIH, D.Y.C. Isolation and identification of entero pathogenic *Campylobacter* spp. from chicken in Taipei. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 63, p. 304-308, 2000.
120. SKIRROW, M. B. *Campylobacter* enteritis: a “new” disease. **British Medical Journal** [online], v. 2, p. 9 – 11, 1977. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1631297/>
121. STERN, N. J.; LINE, J. E.; CHEN, H. C. *Campylobacter*. In: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Microbiological examination of foods**. 5° Edicao. American Public Health Association, 2001. Cap. 31, p.301-310.

122. STEINHAUSEROVA, I., ČI ESĚIKOVA, J., FOJTIKOVA, K., OBROVSKA, I. Identification of thermophilic *Campylobacter* spp. by phenotypic and molecular methods. **Journal of Applied Microbiology**, [online], London, v. 90, p. 470–475, 2001.
123. TAKAHASHI, R.; SHAHADA, F.; CHUMA, T.; OKAMOTO, K. Analysis of *Campylobacter* spp. contamination in broilers from the farm to the final meat cuts by using restriction fragment length polymorphism of the polymerase chain reaction products. **International Journal of Food microbiology** [online], v. 110, p. 240-245, 2006. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160506002509?np=y>
124. TAYLOR, E. V.; HERMAN, K. M.; AILES, E. C.; FITZGERALD, C.; YODER, J. S.; MAHON, B. E.; TAUXE, R. V. Common source outbreaks of *Campylobacter* infection in the USA, 1997–2008. **Epidemiology and Infection** [online], Atlanta, v. 141, n. 5, p. 987-996, 2013. Disponível em: <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=8876749>
125. UBABEF, União Brasileira de Avicultura, **Relatório Anual UBABEF 2013**, 2013.
126. VANDAMME, P., FALSEN, E., ROSSAU, R., HOSTE, B., SEGERS, P., TYTGAT, R., LEY, J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* Taxonomy: Emendation of Generic Descriptions and Proposal of *Arcobacter* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, [online], Antwerp, v. 41, n. 1, p. 88 – 103, 1991. Disponível em: <http://ijs.sgmjournals.org/content/41/1/88.short>
127. VanPUTTEN, J. P. M.; Van ALPHEN, L. B.; WOSTEN, M. M. S. M.; ZOETE, M. R. Molecular Mechanisms of *Campylobacter* Infection. **Molecular Mechanisms of Bacterial Infection via the Gut**, v. 37, p. 197-229, 2009.
128. VELAYUDHAN, J., JONES, M. A., BARROW, P. A., KELLY, D. J. L-serine catabolism via an oxygen-labile L-serine dehydratase is essential for colonization of the avian gut by *Campylobacter jejuni*. **Infection and Immunity**, [online], Washington, v. 72, n. 1, p. 260-268, 2004. Disponível em: <http://iai.asm.org/content/72/1/260.short>
129. XU, H.; LEE, H. Y.; AHN, J. Cross-protective effect of acid-adapted *Salmonella enteric* on resistance to lethal acid and cold stress conditions. **Letters in Applied Microbiology** [online], Ganwon, v. 47, n. 4, p. 290-297, 2008. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1472-765X.2008.02429.x/full>
130. WASSENAR, T. M.; NEWEL, D. G. Genotyping of *Campylobacter* spp. **Applied and Environmental Microbiology** [online], Surrey, v. 66,

- n. 1, p. 1-9, 2000. Disponível em:
<http://aem.asm.org/content/66/1/1.full.pdf+html>
131. WASSENAAR, T. M. Following an imaginary *Campylobacter* population from farm to fork and beyond: a bacterial perspective. **Letters in Applied Microbiology**, Mainz, v. 53, n. 3, p. 253-263, 2011.
132. WERNO, A. M., KLENA, J. D., SHAW, G. M., MURDOCH, D. R. Fatal Case of *Campylobacter lari* Prosthetic Joint Infection and Bacteremia in an Immunocompetent Patient. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 40, n. 3, p. 1053–1055, 2002.
133. WIECZOREK, K.; DYKES, G. A.; OSEK, J.; DUFFY, L. L. Antimicrobial resistance and genetic characterization of *Campylobacter* spp. from three countries. **Food Control** [online], Pulawy, v. 34, p. 84-91, 2013. Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513001965>
134. WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. **Water-related diseases**. 2011. Disponível em:
http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/campylobacteriosis/en/
135. ZENDEHBAD, B.; ARIAN, A. A.; ALIPOUR, A. Identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* species isolated from poultry meat in Khorasan province, Iran. **Food Control** [online], Tehran, v. 32, p. 724-727, 2013. Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513000583>

ANEXOS



**EXPOSIÇÃO AO RISCO POR *Campylobacter* spp. EM
CARCAÇAS DE FRANGO E OVOS COMERCIAIS.
ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL DE
SUSCETIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS**

FICHA DE IDENTIFICACAO DE ESTABELECIMENTO COMERCIAL

Mercado _____

Nome: _____

Endereço: _____

Distrito: _____

Data da coleta: _____

Mercado _____

Nome: _____

Endereço: _____

Distrito: _____

Data da coleta: _____

Mercado _____

Nome: _____

Endereço: _____

Distrito: _____

Data da coleta: _____



Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

EXPOSIÇÃO AO RISCO POR *Campylobacter* spp. EM
CARCAÇAS DE FRANGO E OVOS COMERCIAIS.
ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL DE
SUSCETIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS

Check-list amostras

CARCAÇAS DE FRANGO Data da coleta ___/___/___ Mercado:_____

1. Temperatura gôndola_____
2. Temperatura amostra: n°1____ n°2____ n°3____ n°4____ n°5____
3. Procedência (S.I.F/S.I.E): n°1____ n°2____ n°3____ n°4____ n°5____
4. Disposição dos produtos na gôndola

5. Integridade da embalagem:

6. Condições higiênicas das gôndolas_____

7. Data de fabricação: n°1____ n°2____ n°3____ n°4____ n°5____

8. Data de Validade: n°1____ n°2____ n°3____ n°4____ n°5____

9. Presença de aspersores no ambiente? () SIM () NÃO

10. Observações: _____

OVOS COMERCIAIS Data da coleta ___/___/___ Mercado:_____

1. Localização do palet:_____

2. Procedência (S.I.F/S.I.E): n°1____ n°2____ n°3____ n°4____
n°5____

3. Data de fabricação: n°1____ n°2____ n°3____ n°4____ n°5____

4. Data de Validade: n°1____ n°2____ n°3____ n°4____ n°5____

5. Integridade da embalagem_____

6. Condições de empilhamento_____

7. Integridade da amostra_____

8. Presença de aspersores no ambiente? ()SIM ()NÃO

	PREFEITURA MUNICIPAL DE GOIÂNIA SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA Rua 25-A, Nº 236, Setor Aeroporto - Goiânia GO Fone: (62) 3524-2533 Divisões - Alimentos: 3524-2514 / Estab. Saúde: 3524-2520 / Saneamento: 524-2515 / Prod. Quím. Farm.: 3524-2501	Nº 2108
	Divisão:	

TERMO DE COLETA PARA ANÁLISE

<input type="checkbox"/> ALIMENTO	<input type="checkbox"/> MEDICAMENTO	<input type="checkbox"/> CORRELATO	<input type="checkbox"/> COSMÉTICO	<input type="checkbox"/> SANEANTE DOMISSANITÁRIO	<input type="checkbox"/> OUTROS
-----------------------------------	--------------------------------------	------------------------------------	------------------------------------	--	---------------------------------

1- LOCAL DA COLETA					
Razão Social:					
Nome Comercial:				Atividade:	
Endereço:					Nº:
Localidade / Setor:					
CNPJ:			Fone:		Fax:

2 - IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTO					
Nome:					
Marca:			Número:		Apresentação:
Data de Fabricação:	Data de Validade:	Lote:	Nº Reg.:	Volume/Peso:	Temperatura:
Fabricante:					CNPJ:
Endereço:					Nº:
Localidade / Setor:				Município:	UF:

Fundamentação Legal:

Especificação da Notificação:
 Ficam coletadas para fins de Análise _____ unidade(s) do produto
 acima identificado, distribuídos em _____ invólucros, assim discriminados:

INVÓLUCRO 01	LACRE Nº	Unidades	DESTINO	LABORATÓRIO
INVÓLUCRO 02	LACRE Nº	Unidades	DESTINO	LABORATÓRIO
INVÓLUCRO 03	LACRE Nº	Unidades	DESTINO	CONTRA PROVA

OBSERVAÇÕES:	

APENAS PARA AMOSTRAS COM CONTRA PROVA
 Recobi o INVÓLUCRO Nº 03 contendo amostras do produto identificado para efeito de possível pericia de contra-prova obrigando-me a mantê-la e conservá-la adequadamente, conforme o recomendado, na condição de fiel depositário.

GOIÂNIA	Data:	Hora:
---------	-------	-------

Autoridade Sanitária:	Assinatura do notificado:
Assinatura de Testemunha:	Assinatura de Testemunha:

1ª VIA LABORATÓRIO / 2ª VIA PONTO DE COLETA / 3ª VIA FISCAL / 4ª VIA CADASTRO

CÓDIGO 4216/04