

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

TRANSMISSÃO VERTICAL DE *Campylobacter* sp
EM UM SISTEMA DE PRODUÇÃO AVÍCOLA

Belchiolina Beatriz Fonseca
Médica Veterinária

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
Julho de 2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

TRANSMISSÃO VERTICAL DE *Campylobacter* sp
EM UM SISTEMA DE PRODUÇÃO AVÍCOLA

Belchiolina Beatriz Fonseca

Orientadora: Dra. Daise Aparecida Rossi

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UFU, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias (Produção Animal)

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
Julho de 2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UFU / Setor de
Catalogação e Classificação

F676t Fonseca, Belchiolina Beatriz, 1978-
Transmissão vertical de *Campylobacter* sp em um sistema de produção avícola / Belchiolina Beatriz Fonseca. - 2006.
65 f. : il.
Orientadora: Daise Aparecida Rossi.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.
1. *Campylobacter* - Teses. 2. Epidemiologia veterinária - Teses. I. Rossi, Daise Aparecida. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 579.835

Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – Produção

Animal

Faculdade de Medicina Veterinária

Universidade Federal de Uberlândia

Dissertação defendida e aprovada em 14 de julho de 2006, pela
comissão examinadora constituída por:

Profa. Dra. Daise Aparecida Rossi

Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Ricardo Alfredo Soncini

SADIA S/A

Prof. Dr. Robson Carlos Antunes

Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. José Octavio Jascomini

Coordenador do Programa de Pós-graduação

Ciências Veterinárias

“Não entendo. Isso é tão vasto que ultrapassa qualquer entender. Entender é sempre limitado. Mas não entender pode não ter fronteiras. Sinto que sou muito mais completa quando não entendo. Não entender, do modo como falo, é um dom. Não entender, mas não como um simples de espírito. O bom é ser inteligente e não entender. É uma benção estranha, como ter loucura sem ser doida. É um desinteresse manso, é uma doçura de burrice. Só que de vez em quando vem a inquietação: quero entender um pouco. Não demais: mas pelo menos entender que não entendo.”

(Clarice Lispector)

Dedicatória

Aos meus pais Luzia e Baltazar que me fizeram forte para batalha do dia-a-dia e nos momentos de sensibilidade são meu porto seguro. Aos meus irmãos e cunhadas Cidinha, Ivair, Isanete, Giovani, Sidinesia e Jovania por acreditarem no meu sucesso me apoiando em meus projetos de vida. Às minhas eternas irmãzinhas Karine e Marília que distantes foram próximas. Àquele que mesmo não estando comigo hoje, se fez presente no apoio diário, Tico (Luiz Carlos), sua alma sonhadora me fez acreditar que nem tudo é tão arduamente real.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a São Francisco de Assis.

Agradeço a “mamy”, querida orientadora Dra. Daise que além de grande profissional, deu exemplos de conduta moral e ética jamais esquecidos. Grande amiga, espero que continuemos juntas, muito obrigada por tudo. Agradeço também ao Edson, pela acolhida em sua casa e pelas cervejas – grande marido!!!

Ao Dr. Soncini, queria eu ter sua disposição para o trabalho e para vida. Obrigada por acreditar em mim e por me apresentar à “Campylobacter”. Serei eternamente grata ao senhor, uma das maiores mentes que já conheci.

Ao Dr. Paulo Lourenço, ex-papy, hoje padrastrô, aquele a quem eu queria ser igual, mas “sem o bigode”, lembra? Obrigada por me fazer apaixonar pelas aves, pelo apoio e pelas “puxadas de orelha”.

Aos professores Dr. Fernando Ferreira, “meu ídolo”, que sempre me inspira; Dr. Marcelo Beletti, “o mestre”, cuja conduta de valores e o amor à pesquisa aguçam meu desejo de saber, tenho um projeto de formar um fã-club: “Viva o Beletti”; Profa. Sueli Cristina que soube ser amiga e me mostrar que a vida não foi meramente feita para sobreviver. Grande mulher!!!

Ao Professor Heriberto Fernandez e sua assistente Maria Paz (Universidade Austral de Chile) que me acolheram como filha e irmã em um outro país e me ensinaram que o gênero Campylobacter é fascinante. À Sra. Nancy, Sra. Alba, e Sr. Nirbado (meus pais chilenos), Ingrid, Luiz, Gustavo, outros amigos que fiz no Chile durante meu estágio na faculdade de Medicina tecnológica.

À Dra. Ana Luzia (FIOCRUZ), obrigada pela acolhida e pelas cepas - grande mestra.

Aos ilustres profissionais que me ensinaram ser o que hoje sou, meu eterno agradecimento: Marcelo Sebastião (queria ser igual a você), Júnior e Matteizinho (se hoje eu sou chata, certamente devo a vocês-rsss), Nestor (sábio), Ivamir (grande técnico e também amigo) e Djalme, Aluizio e Sr. Manuel (que na labuta do dia-a-dia me ensinaram o trabalho empírico da rotina, o amor pelas aves, além da simplicidade e humildade de quem muito sabe).

Àqueles que me permitiram começar e terminar esse estudo alterando meu horário de trabalho nos períodos das aulas, muito obrigada: Décio, José Serra e Sandro.

À Adélia Guimarães: nós duas sabemos que sem você esse trabalho seria incompleto.

Àqueles que me auxiliaram nas coletas e processamento das amostras: Célia, Edmar, Djalme, Moacir, Geslaine, Juliano (você pode ser maior que pensa). À Andréa Leão, tão humana quanto profissional. Aos funcionários dos laboratórios em que o processamento das amostras foi conduzido, à Lili e ao Franchesca (Bia não mexa na temperatura da estufa! - desculpa tá). Ao Marcelo Pereira (inteligentíssimo) e ao Scarpelini (você briga comigo, mas no fundo, gosta de mim).

Ao Max e ao Fernando (Piriquito) – Ir para o laboratório sexta, sábado e domingo em dia de festa com a CDF da Bia é dose. Muito obrigada aos dois lindos.

Aos funcionários da FAMEV: Leocidio, Beth (doida), Celia, Adélia, Helena e Marcos.

Aos amigos de infância que ainda hoje são grandes amigos próximos ou distantes: Miguelzinho (meu eterno-temperamental), Nicarlos, Nádia, Kesley, Neto, Eliana, Luciano (Indiã), Daniel, Khelma, Kheyla, Mariele I, Franciele, Cássio, Érica, Mariele II, Tais, Melissa, Priscila, Fabiana branca, Chirlene, tia Branca, Ricardinho, Natany, José Ricardo (Prô - você me mataria se eu não colocasse seu nome-rss), Tia Maria e seu Zé (que saudades dos retiros e das almôndegas), Marcos Roberto, César e William e Camila (esqueceram suas histórias, que pena), Dona Vera, Sabrina e também ao Evertor.

À minha amiga Rachel, um outro porto de refúgio em minha vida. À minha amiga Kárita que sempre está do meu lado. A Sylvia que apesar de pouco tempo já é especial e a Aline Zenha que sem conhecer pessoalmente tenho grande apreço.

Aos amigos da veterinária jamais esquecidos: Polyana, Fernandinha, Tiago, Rafinha (Satripa), Ana Carolina, Melissa, Cíntia, Sara, Cristina, Lara, Andrezinho, Marcelo, Eduardo Didi, Robson, Andinho, Vivi, Leo (...) e todos os outros da 46ª turma.

Ao Dr. Fernando Leite pelos conselhos e ao Padre Henrique (o que sentia por você era de alma e apesar de hoje você estar em outro plano, ainda tenho sua essência).

Se marido de amiga é meu marido, agradeço aos dois fofos Leonardo (marido da Marília) e Leandro (marido da Karine), grandes seres humanos, meus maridos (rsss), obrigada pelos conselhos e por fazerem tão bem a essas duas criaturinhas.

À família que tenho tanto admiração: Kátia, Sr. Antonio, Fabinho, Túlio e Juliana.

A Italoema e a Rosimary, duas outras estirpes raras da espécie humana que me provaram que de louco todo mundo tem um pouco, mas elas têm muito.

Aos amigos que conquistei na Sadia: Rubens (pedra rara), Claudiana, Sonia (nós somos parecidíssimas), Vanda e Rosilene (grandes), Cláudio e Cairo (carinhosamente), Camilo (certamente meu preferido), Filipe (as meninas me procuram só porque sou sua amiga, pode?), Caçõ (amigo), Marilene (gracinha), Marinalva (você vai longe menina!!!), Lilian, Marcio Parizotto.

As três mulheres que admiro muito pela conduta, humor, postura humana e profissional e por terem tanto sucesso como esposa, mãe e veterinárias: Adriana Petrocelli (onde nos conhecemos?), Adriana Garcia (muito fofa e grande) e Nelva Grandó (grande mulher!!!) – São as mulheres que eu tenho como exemplo.

Às pessoas a quem consegui transmitir algo “meus escravos – rsss” que hoje já me superaram: Max, Camila e Rodrigo. Vocês têm muito futuro!!!

Aos colegas que souberam entender minhas ausências nas trocas de horário, além de agradecer, queria me desculpar pelo meu gênio, às vezes difícil: Rodolfo, Donaldo (grande coração), Marcos Borba, Alexandre Vogel, Beto (humor!!!), Francisco Zanette, Alessander, Valdinei (grande profissional), Alexandre Machado, Rodrigo, Ivonei (saudades), Magno, Osmar.

Aos amigos do mestrado: Cláudio Costa (carinho desde quando era sua “escrava”), Breno (inteligente e pra casar), Adriana Garcia, Graciele (e a luta continua), Katiana (vamos pensar em dormir agora né?).

Aos meus sobrinhos, a tia promete que depois dessa fase a gente vai voltar a pular corda, jogar bola, dançar axé e jogar o UNO: Lilica (anjinho), Amanda (inteligente e linda), Lucas e Artur (eu não sei como vou fazer com as meninas) e a Kamila (meus amigos estão me perguntando quem é você, pode?). É fiquei pra tia mesmo – rsss.

Às empresas MADAZA e SADIA por doarem parte dos recursos para esse trabalho.

À essência das aves que foram objetos desse estudo, meu respeito.

A todas as outras pessoas que de uma forma ou de outra me apoiaram e acreditaram em mim: minha dívida de gratidão a vocês!!!

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS	II
LISTA DE ANEXOS	III
RESUMO	IV
ABSTRACT	V
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	2
REVISÃO DA LITERATURA	3
MATERIAL E MÉTODO	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	57

LISTA DE ABREVIATURAS

APT – Água Peptonada Tamponada

CDC - Centers for Disease Control and Prevention

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

GBS – Síndrome de Guillain Barre

LPE – Livres de Patógenos Específicos

LPS - Lipopolissacarídeo

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento

n – Número de amostras coletadas

NR – Não Realizada

PCR – Reação da Polimerase em Cadeia

+ – Amostras Positivas

VNC – Células Viáveis e não Cultiváveis

LISTA DE ANEXOS

AEXO 1 - Perfil da curva de fusão do controle interno para *C. jejuni* e *C. coli*.

Anexo 2 - Perfil da curva de fusão das positivities encontradas para *C. jejuni* e *C. coli* nas amostras de mecônio e suabe cloacal de galinhas

Anexo 3 - Perfil da curva de fusão das negatividades encontradas para *C. jejuni* e *C. coli* nas amostras de mecônio e suabe cloacal de galinhas

TRANSMISSÃO VERTICAL DE *Campylobacter* sp EM UM SISTEMA DE PRODUÇÃO AVÍCOLA

RESUMO - *Campylobacter* sp é reconhecida como uma das principais causas de gastroenterite humana de origem alimentar e dentre os alimentos veiculadores desses microrganismos, a carne de frango é a mais implicada. As pesquisas existentes sobre a transmissão vertical da *Campylobacter* sp são escassas e não conclusivas. O objetivo desse estudo foi verificar a transmissão vertical da *Campylobacter* sp de matrizes pesadas para a progênie. Utilizando o método de cultura tradicional, foram analisados suabes cloacais de 279 amostras matrizes pesadas, 6 de cama, 4 de ninho, 11 de ovário e oviduto, 11 de fígado, baço e coração e 11 de intestino. Em 11 amostras de suabe cloacal, também foi realizada a reação da polimerase em cadeia (PCR) utilizando o sistema automatizado BAX®. Em amostras da progênie foram analisadas: 78 e 44 ovos frescos desinfetados e não desinfetados, respectivamente, 12 ovos inférteis, 45 ovos não eclodidos, 13 amostras ambientais de nascedouro, 121 de mecônio e 36 amostras de órgãos (coração, fígado, baço) e 36 intestinos de pintainhos de um dia. As análises foram realizadas pelo método de cultura tradicional e em outras 10 amostras de mecônio, pelo método BAX®. A positividade em amostras de suabe cloacal pelo método de cultura tradicional foi de 13,97% e pela metodologia BAX® 54,54%. Nas de cama, a positividade foi de 83,33% e nas de ninho, 25%. Em órgãos de matrizes, *Campylobacter* sp foi isolada em 27,27% das amostras e somente em intestinos. Não houve positividade em nenhuma das amostras de ovos frescos, inférteis, ovos embrionados, órgãos de pintainhos ou ambiente de nascedouro. Pelo método de cultura tradicional, não houve positividade em mecônio, embora com o uso do sistema BAX® a positividade foi de 80%. Apesar das características fisiológicas das matrizes, dos ovos e da *Campylobacter* sp serem favoráveis à entrada e sobrevivência da bactéria nos ovos, e conseqüentemente, nos pintainhos de 1 dia de idade, nesse estudo, as positivities na progênie foram apenas encontradas com a utilização do sistema BAX®. Esses achados sugerem que outros estudos com utilização de técnicas moleculares devem ser aplicados para verificação da transmissão vertical.

Palavras-chave: *Campylobacter* sp, galinhas, transmissão vertical, epidemiologia

VERTICAL TRANSMISSION OF *Campylobacter* sp IN A POULTRY PRODUCTION SYSTEM

ABSTRACT - *Campylobacter* sp is recognized as one of the main causes of human gastroenteritis of food origin. Among the foods that circulate these microorganism, chicken is the meat most involved. Existent studies about the vertical transmission of *Campylobacter* sp are scarce and inconclusive. The aim of this study was to verify the vertical transmission of *Campylobacter* sp from heavy matrixes to the progeny. With the use of the traditional culture method, cloacal swabs of 279 heavy matrix samples were analyzed from the follow sits: 6 bed, 4 nest, 11 ovary and oviduct, 11 liver, spleen and heart and 11 intestine. In 11 cloacal swab samples polymerase chain reaction (PCR) was also performed, using the automated BAX® system. In progeny samples, the following were analyzed: 78 and 44 fresh eggs, disinfected and not disinfected, respectively, 12 infertile eggs, 45 unhatched eggs, 13 hatching environment samples, 121 meconium samples and 36 organ samples (heart, liver, spleen) and 36 intestines from one-day old chickens. The analyses were performed by the traditional culture method. In another 10 meconium samples, analysis was performed by the BAX® method. The positivity in the cloacal swab samples by the traditional culture method was 13.97% and by the BAX® methodology it was 54.54%. The bed samples, positivity was 83.33% and in the nest samples it was 0.25%. In matrix organs, *Campylobacter* sp was only isolated in 27.27% of samples and only in the intestines. There was no positivity in any of the samples of fresh eggs, infertile eggs, embryonic eggs, chicken organs or from the hatching environment. By the traditional culture method there was no positivity in the meconium, but with the use of the BAX® system, positivity was 80%. Although the physiological characteristics of the matrixes, the eggs and *Campylobacter* sp are favorable to the entry and survival of bacteria in the eggs, and consequently in the one-day old chickens, in this study, positivity in the progeny was only found with the use of the BAX® system. These findings suggest that further studies with the use of molecular techniques should be conducted to verify vertical transmission.

Keywords: *Campylobacter* sp, hens, vertical transmission, epidemiology

I) INTRODUÇÃO

O Brasil é uma potência mundial na criação de frangos de corte e na exportação de carne de aves e, ainda, possui um *status* sanitário de excelência por ser um país livre de doenças como Newcastle e influenza aviária.

Em 2005, o país produziu 9,2 milhões de toneladas de carne de frango, dos quais 2,845 milhões foram destinados à exportação, o que gerou uma receita cambial de US\$ 3,508 bilhões. Tal desempenho é um recorde histórico, consolidando a liderança do país entre os grandes exportadores mundiais. O consumo nacional também vem aumentando a cada ano e, em 2005, foi de 35,48 Kg/habitante (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES E EXPORTADORES DE FRANGOS, 2006).

Apesar do grande controle sanitário brasileiro, existem patógenos que necessitam de constantes e maiores estudos, principalmente, aqueles que causam doenças em humanos. Os produtos de origem animal devem atender normas de segurança alimentar tanto para atender o mercado interno como o externo. A exigência de um produto seguro intensifica-se nos países desenvolvidos onde as doenças de origem alimentar são detectadas de forma mais eficiente, ampliando assim, a busca constante de um alimento livre de patógenos. Nos Estados Unidos, estima-se que anualmente 76 milhões de pessoas sejam acometidas por algum tipo de doença de origem alimentar, levando a 325.000 hospitalizações e 5.200 mortes (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2002).

Na cadeia produtiva de frangos, alguns microrganismos são rotineiramente mais diagnosticados e estudados e entre eles, há destaque para *Salmonella*, *Yersinia*, *Escherichia coli* e *Pasteurella*. Porém, outros aparecem como bactérias emergentes ou reemergentes e de grande importância, dentre as quais se destacam as do gênero *Campylobacter*.

Campylobacter sp é a primeira causa de gastroenterite em humanos nos Estados Unidos e em outros países desenvolvidos (FRIEDMAN et al., 2000) e o trato intestinal das aves domésticas tem sido apontado como o principal reservatório de *Campylobacter jejuni* (MACHADO et al., 1994). Além da gastroenterite, *Campylobacter jejuni* é capaz de causar uma grave doença, a síndrome de Guillain-Barré, uma perturbação que resulta numa paralisia neuromuscular aguda. Calcula-se que essa

complicação ocorra aproximadamente uma vez em cada 1000 casos de campilobacteriose (ALTEKRUSE et al., 1999).

Nos últimos anos, várias pesquisas sobre a epidemiologia da campilobacteriose em humanos vêm sendo realizadas em países da União Européia e nos Estados Unidos. Outros lugares menos desenvolvidos como China, México, Chile, Guatemala, Peru, Singapura, Libéria, África do Sul e Bangladesh (SHANE, 2002), também têm pesquisado a doença, mas ainda não criaram uma tradição de diagnósticos. Estudos sobre isolamento de *Campylobacter* sp em frangos são numerosos nos países desenvolvidos, tanto no pré-abate como nos abatedouros. Em reprodutoras de postura ou pesadas, a prevalência do agente também é estudada, mas em menor número que em frangos. A epidemiologia da doença, porém, ainda não está totalmente desvendada e a transmissão vertical ainda é conteúdo divergente e de grande discussão entre autores do mundo inteiro.

A comprovação da transmissão vertical não foi realizada de forma definitiva por nenhum pesquisador através do isolamento da bactéria em embriões ou pintos de um dia. Os poucos relatos de positividade foram realizados por PCR (Reação da Polimerase em Cadeia) direta e, nestes estudos, não houve comprovação da relação epidemiológica entre as cepas de reprodutoras e progênie. Assim, toda e qualquer defesa da probabilidade da transmissão vertical se baseia em achados não definitivos de alguns pesquisadores.

II) OBJETIVOS

A) GERAL

Verificar a transmissão vertical de matrizes pesadas para progênie.

B) ESPECÍFICOS

- Pesquisar a presença da *Campylobacter* sp em lotes de matrizes de frangos de corte.
- Determinar a presença de *Campylobacter* sp em mecônio, ovos, resíduos de incubação e ambiente de incubatório.
- Avaliar o potencial risco de transmissão vertical para a progênie.

III) REVISÃO DA LITERATURA

A) HISTÓRICO

Escherich (1886) fez as primeiras observações de bactérias semelhantes ao gênero *Campylobacter* a partir de matéria fecal de crianças e gatos com diarreia e denominou *Vibrio felinus* as bactérias observadas apenas microscopicamente. Os primeiros isolamentos de espécies do gênero *Campylobacter* foram realizados na área da microbiologia veterinária em 1909 e 1913. McFadyea e Stockmann (1913) e posteriormente Smith (1918) estabeleceram a participação de uma bactéria microaerófila no aborto do gado bovino e ovino e denominaram *Vibrio fetus*. Jones e Little (1931) isolaram, a partir de bovinos com distúrbio intestinal, um “vibrion” microaerófilo e denominaram *Vibrio jejuni*. Doyle (1944) descreveu um “vibrion” isolado do intestino de suínos com diarreia denominada *Vibrio coli*. Levy (1946) associou a diarreia no homem com a bactéria. Mas, apenas no ano de 1963, Sébald e Veron (1963) propuseram a criação do gênero *Campylobacter* para incluir as bactérias antes denominadas *Vibrio*.

Na década de 1970, *Campylobacter* sp adquiriu grande interesse pela capacidade de produzir diarreia no homem (FERNANDEZ, 1992). De acordo com Peckham (1974), em 1965 a ocorrência de uma síndrome denominada “vibrio hepatite aviária” foi associada à infecção por *Campylobacter jejuni*. Tudor (1954) descreveu essa bactéria em New Jersey como uma degeneração hepática caracterizada por baixa morbidade e variável mortalidade em lotes produtores de ovos. Porém, segundo Soerjadi et al. (1982), as evidências não são suficientes para dar suporte a alguma associação entre *C. jejuni* e a síndrome clássica caracterizada por hepatopatia.

B) CLASSIFICAÇÃO DESCRITIVA

B.1) MORFOLOGIA, ANATOMIA E CARACTERÍSTICAS

O gênero *Campylobacter* pertence à família *Campylobacteriaceae*. As principais espécies implicadas em doenças gastroentéricas no homem são: *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari*. São bastonetes Gram-negativos, curvos, delgados que medem 0,2µm a 0,8µm por 0,5µm a 5 µm. Quando duas ou mais células bacterianas estão agrupadas, elas formam um S ou um formato de asa de gaivota. São bactérias termófilas e microaerófilas que demonstram características de motilidade devido à presença de flagelo, parede celular e cápsula de Gram negativos típicos (VANDAMME, 1992). Hazeleger et al. (1994) ainda citam que a espécie apresenta um flagelo único em um dos extremos e que em cultivos antigos adquirem formas esféricas ou ovóides e perdem sua capacidade de multiplicação em meios de cultivo inertes e que são considerados como formas viáveis e não cultiváveis.

Evidências experimentais sugerem que no ambiente, sob certas condições, *C. jejuni* gera formas viáveis, mas não cultiváveis (VNC) especialmente na presença de biofilmes derivados de aviários (TRACHOO et al., 2002). Rollins e Colwell (1986); Oyofe e Rollins (1993); Pearson et al. (1993) demonstraram que VNC pode ocorrer também em água.

Segundo Rowe et al. (1998), VNC da *Campylobacter* sp é induzida pelo estresse causado por escassez de nutrientes no meio, dentre outros fatores, e representa uma estratégia de sobrevivência do organismo no ambiente natural como, por exemplo, o ambiente aquático. Há carência de informações sobre a resistência das VNC a pH, sanitizantes como cloro e compostos quartenários amoniacais, que são amplamente utilizados na indústria de alimentos e nas instalações das granjas produtoras.

B.2) PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS E CARACTERÍSTICAS DE CRESCIMENTO

Campylobacter jejuni hidrolisa hipurato, indoxil e acetato e reduz nitrato. Todas as espécies de *Campylobacter* são oxidase e catalase positivas e incapazes de fermentar ou oxidar carboidratos. Assim, para seu crescimento, são necessários meios ricos em aminoácidos. Além disso, não há atividade de lipase ou lecitinase (KOENRAAD et al., 1995).

O gênero *Campylobacter* é sensível a altos teores de oxigênio, sendo classificado como microaerófilo. As espécies responsáveis por doenças gastroentéricas

são termotolerantes, com crescimento ótimo em temperaturas entre 37°C e 42°C e o meio ideal para seu crescimento deve ser composto por altos níveis de proteína (HAZELEGER et al., 1994).

Campylobacter sp é inativada em temperatura de congelamento de -15°C em 3 dias (STERN e KOTULA, 1982), contudo, o congelamento não elimina o patógeno de alimentos contaminados (LEE et al., 1998). Hazeleger et al. (1994) afirmam que células de *Campylobacter* sp sobrevivem por um longo período a 4°C, mas não são viáveis em pH abaixo de 4,9. O microrganismo é capaz de crescer em pH de 4,9 a 9,0, sendo ótimo valores entre 6,5 a 7,5.

As bactérias normalmente não são capazes de se multiplicar em alimentos durante o processamento ou armazenamento e são muito sensíveis à dessecação. Assim, não sobrevivem em superfícies secas e também, não crescem em concentrações de cloreto de sódio iguais ou maiores que 2% (PARK, 2002).

C) PATOGENIA

Os três principais mecanismos de produção de doenças das espécies de *Campylobacter* sp que causam gastroenterite são: adesão, invasão e produção de toxinas (BABAKRANI e JONES, 1993).

Segundo Jawets (1998), as espécies de *Campylobacter* possuem lipopolissacarídeos (LPS) e flagelos que atuam como estruturas de aderência e invasão sendo capazes de produzir citotoxinas e enterotoxinas. Os microrganismos multiplicam-se no intestino delgado, invadem o epitélio e provocam inflamação, resultando no aparecimento de leucócitos e eritrócitos nas fezes. Eventualmente, a corrente sanguínea é invadida e se observa desenvolvimento de febre entérica. A invasão tecidual localizada associada à atividade tóxica parece ser responsável pela enterite.

Fernandez (2005) descreve que a *Campylobacter jejuni* produz uma enterotoxina semelhante à enterotoxina termolábil da *Escherichia coli* e que sobrenadantes de culturas da bactéria determinam aumento de secreção aquosa ao nível da mucosa intestinal de ratos e alterações morfológicas em culturas celulares (CHO), que também apresentam aumento do AMPc intracelular. A produção de diversas citotoxinas pode ser demonstrada em células CHO e Y-1.

Os resultados de biopsias de humanos (VAN SPRREUWEL, 1985), primatas (Russel et al., 1993) e outros modelos animais (BABAKHANI e JOENS, 1993; RUIZ-PALACIOS, 1992) têm demonstrado que a invasão em células intestinais por *Campylobacter* sp ocorre in vivo e suporta a importância da invasividade da bactéria como fator de virulência.

De acordo com Berry et al. (1988), *Campylobacter* sp é ecologicamente adaptada ao trato gastrointestinal e seleciona o ceco para colonização, porque nesta porção do intestino, o microambiente é ideal para sobrevivência e multiplicação. O mesmo autor sugere que o microrganismo exibe uma atração quimiostática por 1-fucose que é um componente da mucina utilizando-a como substrato para crescimento.

Em animais e pessoas sensíveis, seguindo à ingestão, a *Campylobacter* sp penetra a barreira física da mucosa (SZYMANSKI et al., 1995) e em seguida, invade as células de revestimento do intestino. O contato com as células do hospedeiro ocorre via proteínas de membrana com alta atividade por células receptoras e é requerida para colonização e progressão da doença (PEI et al., 1998).

Havendo sucesso da fixação e internalização, *Campylobacter* sp coloniza as células epiteliais por alguns mecanismos que incluem: invasão (RUSSEL, et al., 1993), produção de toxinas (WHITEHOUSE et al., 1998) e apoptose (RUSSEL, et al., 1993). Algumas bactérias podem translocar o epitélio e se mover para a lâmina própria. Nesse ambiente, a *Campylobacter* sp pode evitar o ataque pelos fagócitos e entrar no sistema circulatório em pacientes imunodeprimidos (WALLIS, 1994). O ataque pelos fagócitos pode envolver fagocitose, liberação de reações intermediárias e liberação de citotoxinas (JONES et al., 1999).

Ketley (1997) sugeriu que a resposta imune pode promover infecções comprometendo as células mucosas e permitindo o acesso direto da bactéria à lamina própria. Alternativamente, fagócitos recrutados nestas lesões podem matar a bactéria, promovendo a resistência necessária.

Infecção por *Campylobacter* sp leva a resposta imune celular e também humoral. A proteína de membrana externa e os lipopolissacarídeos são fortemente imunogênicos, estimulando a produção de anti-soros específicos em indivíduos que se recuperam da infecção (NACHAMKIN, 1998). Em pacientes, humanos ou animais sensíveis, com exposição prévia, os anticorpos reagem com a proteína da membrana e o LPS promovendo um grau na imunoproteção. Anticorpos de mucosa anti LPS podem

agir como neutralizadores, limitando a liberação de citotoxinas e ativando células B T-independentes. Porém, algum defeito na habilidade do indivíduo em uma rápida e efetiva resposta de memória na infecção bacteriana limita a erradicação do microrganismo (PEI et al., 1998).

D) MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Geralmente, as manifestações clínicas só ocorrem em humanos e animais jovens. Em comparação a outros enteropatógenos, *Campylobacter* sp possui uma baixa dose infectante de aproximadamente 500 organismos; enquanto *Salmonella* requer doses maiores que 10^5 organismos (ANON, 1993).

O período de incubação é de 8 a 22 horas, ocorrendo diarreia, náuseas e vômitos em animais ou humanos. O início dos sintomas pode ser semelhante à gripe e o quadro é parecido com sintomas de *Salmonella* (SILVA Jr., 1995). Em geral, a doença limita-se a um período de 5 a 8 dias, mas, em certas ocasiões, pode persistir por mais tempo (FEDERIGHI et al., 1999).

De acordo com Kopecko et al. (2001), os principais sintomas da campilobacteriose são: diarreia, que pode ser líquida ou com muco, leucócitos fecais e sangue (geralmente oculto), febre, dor abdominal, náusea, dor de cabeça e dores musculares. Segundo Moore et al. (2005) a maior parte das infecções são auto-limitantes e não é necessário o tratamento com antibióticos. Complicações são relativamente raras, embora essas infecções possam estar relacionadas à artrite reativa, síndrome hemolítico-urêmica, septicemia e infecções em outros órgãos. A taxa de letalidade estimada para as infecções por *C. jejuni* é de 0,1 óbitos por mil casos. Embora as fatalidades sejam raras em indivíduos saudáveis e costumam ocorrer em pacientes com câncer ou outras doenças debilitantes. Estão registrados na literatura 20 casos de aborto séptico por *C. jejuni*. Meningite, colite recorrente e colecistite aguda são complicações mais raras.

De acordo com Nachamkin et al. (1998), a *C. jejuni* causa uma grave doença em humanos, a síndrome de Guillain-Barré (GBS), uma perturbação que resulta numa paralisia neuromuscular aguda e que ocorre aproximadamente uma vez em cada 1000 casos de campilobacteriose e cerca de 2 a 3 semanas após a infecção. É uma

polineurite auto-imune caracterizada por febre, dor e enfermidade que progride para paralisia.

A GBS foi descrita pela primeira vez por Guillain, Barré e Srohl em 1916. É caracterizada por paralisia ascendente, bloqueio na condução do impulso nervoso, desmielinização dos nervos, infiltração de macrófagos e linfócitos nos nervos periféricos e elevada quantidade de proteína com nenhuma ou pouquíssimas células no fluído cérebro-espinhal. Diversos pesquisadores, de várias partes do mundo, têm isolado *C. jejuni* de fezes de pacientes humanos com GBS (CONSTANTINESCU et al., 1998). Em análises sorológicas realizadas no Japão foi observado que 35% dos pacientes humanos com GBS haviam sido infectados recentemente, sugerindo que os anticorpos dirigidos contra determinados sorotipos de *C. jejuni* reagem cruzadamente com as proteínas dos nervos periféricos, causando a sua degeneração (ALTEKRUSE et al., 1999).

Nos últimos anos, estudos mostram a associação entre *C. jejuni* e a Síndrome Paralítica Chinesa, mais recentemente denominada de neuropatia axonal motora. Segundo Nachamkin et al. (1998) outra possível doença auto-imune humana decorrente da infecção por *Campylobacter jejuni* é a síndrome de Fisher (MFS) e síndrome de Reiter's ou artrite reativa.

Em animais, as manifestações clínicas ocorrem em menor número, e quando aparecem, os mais envolvidos são jovens. Muitos deles como frangos, suínos, carneiros, bovinos, cães e gatos possuem *Campylobacter* sp nos tratos gastrointestinais, sem apresentarem qualquer sintoma (PARK, 2002). A doença pode ser considerada enzoótica, causando infecção crônica em frangos e suínos e enterite em bovinos, cães e gatos (HAHN, 1994).

Apesar de o trato intestinal das aves domésticas ser apontado como o principal reservatório de *Campylobacter jejuni* (MACHADO et al., 1994), com aproximadamente 30% a 100% das aves transportando este agente no intestino (DOYLE, 1988), normalmente, em frangos, o organismo é apatogênico (TAUXE et al, 1987).

Lam et al. (1992) inocularam cepas de *C. jejuni* isoladas de perus adultos em peruzinhos recém eclodidos nos quais observaram diarreia. Nos embriões, as cepas causaram hemorragia na pele e músculo esquelético e hemorragia e necrose no fígado. Quando a toxina originária da mesma cepa isolada dos perus adultos foi inoculada em peruzinhos, foi observada uma alta mortalidade dessas aves, mas sem lesões

perceptíveis. Nesse mesmo estudo, foi determinada uma redução no ganho de peso em 20% nos perus inoculados quando comparado a um grupo controle. Quando o experimento foi repetido em frangos, essa diferença no ganho de peso não foi percebida em pintainhos recém eclodidos inoculados com cepa originária de galinhas, embora, a inoculação nos embriões de frango tenha causado alta mortalidade.

E) EPIDEMIOLOGIA

A freqüência de isolamento das espécies de *Campylobacter* que causam doenças gastrointestinais no Brasil é 9% em suínos, 5% em cães e 8% em gatos. Nos suínos, a espécie predominante é a *C. coli*. Em cães e gatos, o maior índice de isolamento é observado em indivíduos com menos de 6 meses de idade (AQUINO et al., 2002).

Animais e subprodutos são fontes de infecção para seres humanos e espécies animais suscetíveis. *Campylobacter jejuni* foi encontrada em leite, carcaças de frango e em fezes de cães e gatos assintomáticos, bem como em animais com diarreia (HIRSH, 2003).

Campylobacter sp é encontrada como comensal no trato gastrintestinal de uma ampla variedade de animais (bovinos, ovinos, suínos, cabras, gatos, roedores silvestres e domésticos, coelhos e, principalmente, uma variedade de aves industriais e de vida livre). No Reino Unido, em 18 meses de estudo, foi encontrada *Campylobacter* sp em leite de vaca quente processado (ZOO NOSE REPORT, 2002).

Segundo Germano e Germano (2001) a *Campylobacter* sp pode sobreviver durante 4 semanas ou mais em água a 4°C. Porém, de acordo com Food Safety And Inspection Service (1997) e Altekruze et al. (1998) a bactéria não se multiplica em água, ou seja, ela permanece viável e infectiva para homens e animais.

E.1) AVES

Aproximadamente 75% das aves de corte apresentam *C. jejuni* e/ou *C. coli* e essa contaminação pode estar associada, principalmente, à entrada da bactéria nos

galpões a partir do ambiente externo (HUMPHREY, 1999). Quando um lote de frango se torna positivo para *Campylobacter* sp, a prevalência de infecção é alta e pode chegar a 100% das aves testadas (GREGORY et al., 1997).

Cox et al. (2000) pesquisaram a prevalência *Campylobacter* em fezes de perus fêmeas e machos e não encontraram diferenças significativas entre os sexos. Nesse estudo, a prevalência variou de 65% a 80% durante o período na granja, sugerindo que a contaminação na fazenda pode ser causa da positividade em carcaças dentro do abatedouro. Berndtson et al. (1996) verificaram que a positividade para *Campylobacter* sp aumentou com a idade das aves.

Em estudo na Suécia, em 18 fazendas avícolas, durante um ano, foi observada prevalência de 27% do rebanho estudado. Do total, somente 2 fazendas foram negativas em todas as amostras, e demonstrou-se que a boa qualidade de manejo nesses galpões foi vital para o controle e prevenção da *Campylobacter* sp (BERNDTSON et al., 1996).

No Brasil, diversos autores observaram altos percentuais de isolamentos de *C. jejuni* e *C. coli* a partir de fezes de frangos sadios, que variaram entre 25,7% (36/140) (CASTRO et al., 1997) em São Paulo a 50% (15/30) em Santa Catarina (MACHADO et al., 1994).

Zaki e Reda (1995) pesquisaram *Campylobacter* sp em frangos e poedeiras encontrando positividade de 2,5% e 4%, respectivamente. Os locais de isolamento foram fígados, vesícula biliar e cloaca.

A presença da *Campylobacter* sp nos lotes apresenta uma variação sazonal, sendo a contaminação mais alta (100%) durante o período de junho a setembro e menor (50%) em março. Essa variação sazonal sugere um possível papel das aves migratórias ou a presença sazonal de insetos na transmissão da doença para as aves (JACOBS-REISTMA, 1994). Willis e Murray (1997) também encontraram alta prevalência (87% a 97% de amostras positivas para *C. jejuni*) em aves durante os meses de verão. Lilja e Hínninen (2001) citaram que a variação é sazonal com pico ocorrendo nos meses de verão.

De acordo com Young (1999), a colonização cecal ocorre quando uma quantidade de 10^2 UFC é inoculada oralmente em frangos. Achen et al. (1998) observaram que a colonização de *C. jejuni* ocorre rapidamente, quando inocularam a

bactéria por via oral em pintainhos após o nascimento, e 24 e 48 horas pós-inoculação verificaram que 50% e 70% das aves, respectivamente, eliminaram a *C. jejuni*.

Pintainhos de um dia de idade naturalmente não são infectados por *C. jejuni* (YOUNG, 1999). Em muitos lotes, a colonização é detectável com menos de 10 dias de idade e continua por muitas semanas (NEWELL e WAGENAAR, 2000). Em condições laboratoriais, 3 dias de contato com inoculação artificial são suficientes para a maioria das aves se contaminar (SHANKER et al., 1990).

Achen et al. (1998) observaram em frangos de corte um pico de eliminação com 19 dias com gradual declínio posterior, sugerindo a ciclicidade de eliminação da bactéria durante a vida do frango. A ciclicidade da eliminação da *Campylobacter* sp também foi observada por Morishita et al. (1992) que demonstraram um pico de incidência de *Campylobacter jejuni* com 4 semanas de idade. Segundo Soerjadi et al. (1982), o gradual declínio da eliminação pode ser associada ao desenvolvimento de uma microflora intestinal endógena que predomina após 14 dias de idade. Para Morishita et al. (1997), *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* são microorganismos efetivos contra a colonização da *C. jejuni* em estudos de exclusão competitiva.

Como um organismo comensal em aves, *Campylobacter* sp coloniza as células mucosas do intestino e suas criptas (BEERY et al., 1988). As aves podem ter um alto número de *Campylobacter* sp no intestino (até 9,0 log₁₀ UFC/g de conteúdo cecal) sem sintomas (EVANS, 1997)

Chaveerach et al. (2004) inocularam pintainhos de um dia com *Campylobacter* sp e testaram tratamento com ácido orgânico na água de bebida dessas aves. A colonização do grupo tratado foi significativamente menor que a observada no grupo controle. Além disso, *Campylobacter* sp não foi isolada de nenhuma amostra de água tratada com ácido orgânico, mas foi recuperada da água fornecida ao grupo controle.

Li et al. (1996) demonstraram o desenvolvimento de uma paralisia em frangos infectados com cepa de *C. jejuni* isolada de pacientes humanos com GBS, que apresentaram neuropatia axonal aguda. Do total, 1/3 das aves experimentais desenvolveu paralisia 5 a 18 dias após administração oral de cultura de *C. jejuni*. O nervo ciático de algumas delas mostrou extensiva degeneração e, em alguns casos, desmielinização paranodal.

Existem poucos estudos sobre o impacto da *Campylobacter* sp na produção dos frangos. Contudo, um caso de infecção por *Campylobacter* sp em lote de 11.200 galinhas poedeiras, no Yemen, causou um decréscimo na produção de ovos, um aumento da mortalidade e por conseqüência, uma elevação nos gastos com medicamentos (SARAKBI, 2002).

A prevalência de *Campylobacter* sp em carcaças processadas é quase sempre menor que no trato intestinal das aves (HARIHARAN et al., 2004). Hald (2000) isolou *Campylobacter* sp em 52% das aves antes do abate e, em 24% das carcaças após o processamento. Dentre as espécies isoladas, 87% eram *C. jejuni*, 8% *C. coli* e 5% *C. lari*. De acordo com Silva Jr. et al. (1995) durante o processo de abate e evisceração, a carcaça pode se contaminar com as fezes do animal, contaminando equipamentos e utensílios e comprometendo assim, todas as etapas seguintes de processamento e industrialização. Na saída do *chiller*, a prevalência de *Campylobacter* sp nas carcaças é mais baixa que no início do processamento (BERRANG E DICKENS, 2000). No Brasil, Franchin et al. (2005) encontraram 91,7% de lotes positivos antes do abate. Dos locais amostrados, as positivities foram 79,2% em amostras de penas, 45% em cloacas, 50% em gaiolas de transporte, 37,5% em camas de aviários, 33,3% em suportes para peitos e 25% em água de lavagem da gaiola.

A contaminação em carcaças por *Campylobacter* sp depende do número de microrganismos inicialmente presentes, das condições higiênico-sanitárias dos abatedouros, do tempo de prateleira e dos cuidados na conservação (CARVALHO e COSTA, 1996). Nos mercados da Bélgica, Uyttendaele et al. (1999) estudaram a ocorrência de patógenos de origem alimentar em carcaças e derivados de frangos disponíveis à venda, importados de países da União Européia. Encontraram *Campylobacter* sp em 21,9% das amostras provenientes da Bélgica, 30,2% das oriundas da França, 15,4% da Itália e 54,5% das amostras do Reino Unido.

Na Finlândia, nos meses de julho a setembro, 10% a 30% dos produtos de frangos vendidos a varejo foram positivos para *Campylobacter* sp. Na Dinamarca, a positividade no verão foi de 30% a 40% e no Reino Unido, quase 80% dos produtos de frango comercializados a varejo foram positivos (LILJA e HÍNNINEN, 2001). Nos EUA, 69% dos frangos comprados de um supermercado estavam contaminados com *C. jejuni* com níveis variando de 10^2 a 10^5 UFC/ carcaça (PARK, 2002).

Modolo et al. (2005) pesquisaram a presença de *Campylobacter* sp em carcaças de frangos em Botucatu – SP e encontraram 72% de alguma positividade em estabelecimentos de regiões centrais daquela cidade. Nas regiões periféricas, o índice foi de 22%. As proporções de isolamento nas carcaças foram respectivamente 38% e 12,5% nas regiões centrais e periféricas. Também no Brasil, Aquino et al. (2002) pesquisaram a presença de *Campylobacter* sp em carcaças de frango e a frequência de isolamento foi 60% (37/62), sendo as prevalências de *C. jejuni* e *C. coli* praticamente iguais (aproximadamente 30% cada).

O fígado das aves é um importante veículo da *Campylobacter* sp. No sul do Chile, foram analisadas 126 amostras de fígado congeladas em vários supermercados com 92,9% de positividade, sendo a *C. coli* a espécie mais isolada (92 amostras) seguida pela *C. jejuni* (FERNANDEZ e PISÓN, 1996).

E.2) TRANSMISSÃO DE *Campylobacter* SP EM AVES

A transmissão da *Campylobacter* sp entre um ciclo de produção para o outro foi estudada por Jacobs-Reistma et al. (1995) em duas fazendas com renovação de cama, higienização e vazio sanitário. Nesse estudo longitudinal, os resultados dos isolamentos e sorotipagens não permitiram a comprovação da transmissão, já que houve identificação de diferentes sorotipos entre lotes consecutivos e também lotes negativos seguidos de ciclos positivos. Para Berndtson et al. (1996) o aumento da prevalência de *Campylobacter* sp está associado ao menor período de vazio sanitário.

Stern et al. (1990) inocularam *C. jejuni* em pintos de 48 horas de idade de três linhagens comerciais diferentes e sugeriram que, como em outras doenças, a resistência na colonização cecal pela *C. jejuni* pode ser influenciada significativamente pela linhagem comercial do hospede.

A ração é geralmente inadequada para a sobrevivência da *Campylobacter* sp devido ao baixo conteúdo de água (EVANS, 1992). Rosef et al. (1993) encontraram 50% de positividade em um total de 146 moscas capturadas nos arredores de uma granja avícola e Hoop e Ehram (1987) isolou *Campylobacter* sp de caixas de transporte de frangos e, em algumas delas, mesmo após a lavagem e desinfecção.

A transmissão horizontal, particularmente através da água de bebida contaminada com *Campylobacter* sp, parece ser a origem potencial da infecção e reinfecção entre lotes de frangos (PEARSON et al., 1993). A *Campylobacter* sp pode sobreviver por um longo período na água (Kazwala et al., 1990) e a água de bebida é o maior fator de risco para a infecção por *Campylobacter* sp em lotes de frangos (GIBBENS et al., 2001).

Segundo Berndtson et al. (1996), a presença de outros animais domésticos não interfere nos níveis *Campylobacter* sp nos lotes de frangos. Porém, o manuseio de outras aves parece ser um importante fator de risco. Prevalência de *Campylobacter* sp foi 40% em lotes onde componentes da equipe manusearam outras aves e 18% onde isso não aconteceu. Kapperud et al. (1993) encontraram como fator de risco manuseio de outras aves e também suínos.

Alguns fatores relacionados ao ambiente aumentam o risco da ocorrência de *Campylobacter* sp nos lotes de frangos. Dentre esses, se destacam a alta temperatura e ar estático no aviário, pobre qualidade da água, ausência de pedilúvio e presença de cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) (REFRÉGIER-PETTON et al., 2001). Em granjas onde havia presença de aves selvagens, o índice de lotes positivos para *Campylobacter* sp foi de 29% e, em granjas localizadas em áreas com poucas aves selvagens, esse índice caiu para 16% (BERNDTSON et al., 1996).

O nível sanitário parece ser também importante para a menor prevalência de *Campylobacter* sp. Berndtson, et al. (1996) encontraram 39% de positividade em lotes que mantinham baixo status sanitário e 22% em granjas com um maior nível de rigorosidade, como por exemplo, a mudança de botas e roupas.

A positividade de lotes para *Campylobacter* sp também diminui com o aumento na freqüência de lavagem de bebedouros, pois a prevalência em lotes onde os bebedouros nunca foram lavados foi de 45% e nos lotes higienizados 21% (BERNDTSON et al., 1996).

Em locais em que foram observados vestígios de ratos, detectou-se 40% de positividade contra 23% onde isso não aconteceu. (BERNDTSON et al., 1996).

Berndtson et al. (1996) estudaram em amostras fecais de granjas de frangos, a epidemiologia da *Campylobacter* sp e encontraram em 16 ocasiões, dois lotes subseqüentes positivos. Em 9 dessas ocasiões, houve sorotipificação dos espécimes isolados e em 6 vezes os sorotipos eram idênticos em ambos lotes. Os autores

sugerem que há possibilidade da permanência de *Campylobacter* sp de um lote para outro, e ainda, que a lavagem e a desinfecção são suficientes para eliminar a *Campylobacter* sp.

Genes Fla A e Fla B foram utilizados em estudos moleculares. Análises de eletroforese em campos pulsados (*pulse field*) foram realizadas por Camarda et al. (2000). Nos espécimes isolados de cecos, cloaca e ovidutos de 11 galinhas positivas para *Campylobacter jejuni*, os autores encontraram alta diversidade dentro do mesmo lote, sugerindo uma múltipla exposição das aves aos agentes. Porém, em estudos realizados no Reino Unido, Ayling et al. (1996) concluíram que os lotes raramente são colonizados por mais de um único genótipo.

O mesmo genótipo de *C. jejuni* pode ser encontrado no intestino e trato reprodutivo de galinhas, indicando a colonização ascendente do oviduto através da cloaca (CAMARDA et al., 2000). Mas nem sempre as cepas do oviduto são idênticas às do intestino, sugerindo que algumas cepas podem preferencialmente colonizar o oviduto, embora isso não seja freqüente. (Di MODUGNO 1997).

Para Jacobs-Reitsma (1995), as aves reprodutoras usualmente são colonizadas por múltiplas cepas de *Campylobacter jejuni*. Maruyama e Katsube (1990) desafiaram codornas oralmente com *C. jejuni* ($9,6 \text{ UFC} \cdot \log_{10}$) e obtiveram recuperação dos espécimes em ovos. A recuperação no trato reprodutivo foi no magno-istimo e glândula da casca em 3 de 7 reprodutoras. Todas as codornas tiveram a cloaca positiva, mas apenas 28% das cascas de ovos e 4% do conteúdo dos ovos foram positivos. Uma das três codornas com trato reprodutivo positivo apresentava focos brancos no fígado e em outra, o ovário estava contaminado, sugerindo infecção sistêmica.

Há diversidade em cepas recuperadas no trato reprodutivo das aves e algumas destas são idênticas às isoladas de fezes. Estes fatos sugerem a contaminação ascendente de *Campylobacter* sp. do trato reprodutor por meio da cloaca (HIETT et al., 2002). Zimmer et al. (2003) comparou por meio das técnicas do RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso) e PCR, espécimes de *Campylobacter* sp isolados da água de bebida e das aves em três lotes consecutivos e não encontrou semelhança entre as cepas.

Aproximadamente 4% dos ovos podem ser experimentalmente infectados com *C. jejuni* por imersão em uma suspensão com a bactéria. Porém, o microorganismo não foi

encontrada no conteúdo interno dos ovos após os mesmos terem permanecido em contato com cultura de *C. jejuni* (ALLEN et al., 2001).

Hanninen et al. (1984) recuperaram *Campylobacter* sp em 2% de embriões que bicaram o ovo, mas que não eclodiram. Experimentalmente, King (1993) observou que a inoculação de algumas cepas de *Campylobacter jejuni* na membrana corioalantoide das aves é letal para o embrião.

Cox et al. (2005) isolaram *Campylobacter* sp em 7, 12 e 41 de 50 amostras de folículos imaturos, maduros e cecos respectivamente, em galinhas com idade entre 60 e 66 semanas.

Jacobs-Reitsma (1995) pesquisaram por meio de *suabes* cloacais a presença da *Campylobacter* sp em 43 lotes de 9 granjas de reprodutoras e encontraram um índice de 67% (29/43) de positividade. Nesse estudo, 2 lotes de uma fazenda B e 2 lotes de uma fazenda C tinham a mesma origem. Porém, os lotes da fazenda C foram positivos e da fazenda B foram negativos para *Campylobacter* sp, o que sugere o maior risco da contaminação horizontal.

Cox et al. (2002) compararam espécimes de *Campylobacter* sp isolados de reprodutoras e de sua progênie por dois métodos genotípicos: a ribotipagem com a enzima de restrição rara *PstI* e a seqüência do DNA de uma região variável do gene *fla A*. Os padrões genéticos encontrados foram idênticos nos dois métodos.

Pearson et al. (1996) realizaram estudo retrospectivo e prospectivo em lotes consecutivos de 6 a 8 aviários durante os anos de 1984 a 1994 e encontraram alta positividade nos lotes (35,5%). Porém, o isolamento de sorotipos idênticos em lotes consecutivos foi baixo, levando a concluir que não houve transmissão entre lotes. Quando os autores estudaram os incubatórios que forneciam aves para esses aviários (incubatório A e B), observaram que os isolamentos aconteciam predominantemente em aves provenientes do lote B. Em duas ocasiões distintas, houve alternância entre os incubatórios A e B no fornecimento das aves. Nessas ocasiões, os isolamentos também só aconteceram em aves provenientes do lote B, reforçando a conclusão anterior. Além da alta positividade nas aves do incubatório B, os espécimes isolados mostraram baixa diversidade de sorotipos. Os autores julgaram que esses dados são evidências de uma comum origem da *C. jejuni*, introduzida provavelmente, por transmissão vertical.

E.3) SAÚDE PÚBLICA

De 1981 a 1990, na Inglaterra, o número de casos confirmados de humanos com enterite por *Campylobacter* sp aumentou de 2.500 para 34.552 (ANON, 1991). Na Nova Zelândia, a incidência é 3 a 4 vezes maior que os relatados em outros países desenvolvidos (244,5 casos por 100.000 pessoas por ano com um pico de 320 por 100.000 em 1998) (ORCHARD et al., 2000).

No Brasil, tem sido relatada a presença de *Campylobacter* sp em casos de diarreia aguda ou crônica e em indivíduos assintomáticos. Em São Paulo, a incidência é aproximadamente 25,9% em crianças menores de 4 anos de idade, sendo o segundo enteropatógeno bacteriano isolado no Laboratório Clínico de Análises Fleury (SCARCELLI et al., 1998).

Reiersen et al. (2002) citam que na Islândia, a incidência de *Campylobacter* sp em humanos atingiu proporções epidêmicas entre junho de 1998 e março de 2000. Entre 1990 a 1995, a incidência foi de 14,6 casos/100.000 indivíduos/ano. A partir de 1996, os casos começaram a aumentar chegando a 157 casos/100.000 indivíduos no ano de 1999. Em 2000 e 2001, houve uma queda (87,1 e 75,4 casos/100.000 indivíduos, respectivamente). Os autores sugerem que a maior positividade de 1996 a 1999 pode ser atribuída à mudança na legislação do país no ano de 1996, quando a carne de frango passou a ser comercializada “fresca”, juntamente com o aumento do consumo per capita. Com a alta incidência em 1999, no ano de 2000 o país implantou medidas de controle e com isso, os índices diminuíram.

Nos Estados Unidos, o índice de infecção de humanos por *Campylobacter* sp é estimado entre 2,1 e 2,4 milhões de pessoas por ano e uma das principais causas relatadas é o consumo de carne de frango (MEAD, 1995). Segundo o CDC (2003), nesse país, *Campylobacter* sp é a maior causa de diarreia bacteriana com 40.000 casos documentados anualmente. De acordo com Saleha et al. (1998), são estimadas 680 a 730 mortes por ano atribuídas à infecção por *Campylobacter* sp nos Estados Unidos.

Campylobacter jejuni é causa de 85% dos casos de campilobacteriose humana, seguido pelo *C. coli*. Crianças menores que 1 ano de idade e adultos jovens (15 a 25 anos) são mais susceptíveis ao desenvolvimento da doença, e indivíduos com

imunossupressão podem desenvolver prolongados e severos sintomas da doença (FRIEDMAN et al., 2000).

Em São Paulo, uma criança com 3,5 anos foi atendida apresentando sintomas de diarreia aquosa com sangue associada com vômitos sem presença de muco, sangue e sem febre. Das suas fezes foi isolada *Campylobacter jejuni* subsp. *Doylei*, sem isolamento ou positividade para nenhum outro microrganismo enteropatogênico. A característica clínica de diarreia secretória observada sugere que essa bactéria produz um fator enterotoxigênico, apesar de sua patogenia ser pouco conhecida (FERNANDEZ et al., 1997).

Fernandez et al. (2005) sorotipificaram 50 espécimes de *C. jejuni* subsp. *jejuni* isoladas de carcaças de frango e 50 espécimes isolados de fezes de crianças e encontraram 17 sorotipos diferentes e 6 idênticos. A alta percentagem de sorotipos sem nenhuma similaridade sugere que no sul do Chile, não somente a carne de ave é veículo de *C. jejuni* subs *jejuni* em humanos, mas outras fontes ou reservatórios não identificados estão envolvidos.

Comer *hamburgers* preparados comercialmente ou outras carnes fora de casa, realizar viagens ao exterior e um baixo nível de higiene na cozinha são riscos para contaminação por *Campylobacter* sp (COX, 2002). Utilizando um diagrama com os dados do CDC, 1998 e 1999, esse mesmo autor concluiu que viajar para fora do país (EUA), ter cães de estimação e beber água não tratada são fatores significativamente associadas com o problema. Com esse estudo, o autor conclui que há outras fontes de contaminação mais importantes para infecção por *Campylobacter* sp que o consumo de carne de frango.

Scarcelli et al. (2003) utilizaram a técnica do polimorfismo dos fragmentos de restrição de produto obtido pela PCR (PCR-RFLP) e subtiparam 41 espécimes de *C. jejuni* (30 provenientes de humanos e 11 de frangos) encontrando 5 perfis de restrição distintos. Desses, 3 possuíam compartilhamento de isolados provenientes de humanos e frangos, incluindo três subtipos provenientes da Itália, sugerindo a dispersão de subtipos no Brasil e em diferentes continentes. Nishimura et al. (1996) utilizaram análise por PCR-RFLP do fragmento correspondente ao gene *fla A* e observaram os mesmos 5 perfis distintos observados por Scarcelli et al. (2003) quando analisaram 154 estirpes de *C. jejuni* provenientes de amostras humanas da China e Japão.

Relativa resistência à infecção é observada em grupos de indivíduos com hábitos alimentares de alto risco. Em países em desenvolvimento, em que as oportunidades de infecção e reinfecção são maiores, há altos títulos de imunoglobulinas anti-*Campylobacter* em indivíduos portadores e não portadores (BLASER, 1987).

F) DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Devido às características da *Campylobacter* sp, para o envio de amostras ao laboratório, as mesmas devem ser mantidas a temperatura de 4°C em meio de transporte (SILVA et al., 1997). Para identificação das três espécies que causam as doenças gastroentéricas, os meios de cultura utilizados devem ser ricos em aminoácidos e acrescidos de sangue. As amostras com alto número de células bacterianas (como fezes de pacientes doentes) podem ser inoculadas diretamente em um meio seletivo como ágar sangue suplementado com antibióticos, porém em amostras com baixo número de células ou células injuriadas há necessidade de enriquecimento preliminar em caldos seletivos antes do cultivo em ágar (NACHAMKIN, 1997).

São vários os meios seletivos descritos para o cultivo de *Campylobacter* sp, como: “Charcoal-based selective medium” (CSM) (HUTCHINSON, 1984), “Cefoperazone deoxycholate Agar” (CCDA) (KARMALI et al., 1986), “Semisolid Blood-Free motility médium” (SSM) (GOOSSENS et al., 1990), “Skirrow medium” (SKIRROW, 1977), entre outros. Antibióticos para inibir competidores são geralmente associados às formulações. Os antimicrobianos mais utilizados como inibidores da microbiota acompanhante são a cefoperazona, rifampicina, cefalotina, colistina, polymixina e anfotericina (NG, 1988; ASPINALL et al., 1996).

Segundo Kiehlbauch et al. (1991), devido à susceptibilidade de algumas cepas aos antibióticos presentes nos meios seletivos, o método de filtração pode ser usado para amostras de fezes. Nesse método, não é necessário o uso de inibidores já, que a *Campylobacter* sp é uma bactéria muito pequena e capaz de ser filtrada entre os poros. Porém, os contaminantes ficam retidos.

Quando se faz necessário o uso de caldos de enriquecimento, a amostra deve ser incubada em microaerofilia durante 24 horas. Eles também devem ser acrescidos

de antibióticos e algumas vezes também com o sangue e vários podem ser utilizados, como o caldo Preston, o Bolton (BOLTON e ROBERTSON, 1982) e o Campythio (MARTINS et al., 1983), entre outras formulações.

Segundo Thompson et al. (1990), as placas ou caldos devem ser mantidos em atmosfera de microaerofilia controlada com aproximadamente 5% de O₂, 10% de CO₂ e 85% de N₂. Para isso, normalmente é utilizada jarra de anaerobiose com gerador de microaerofilia em seu interior. A temperatura de incubação varia entre 37°C e 42°C e, valores inferiores a esse intervalo prejudicam o crescimento, já que o organismo é termotolerante.

Dependendo do meio de cultura utilizado, as colônias de *Campylobacter* sp podem aparentar diferentes características. Porém, geralmente são cinzas, planas, irregulares e espalhadas, particularmente em meios frescos. Também podem ter forma arredondada, convexa e pouco espalhada. As colônias normalmente não são hemolíticas em ágar (VANDAMME et al., 1992).

De acordo com Vandamme et al. (1991), para identificação é usada coloração de Gram, substituindo a safranina pela carbol fuxina. Para se observar o movimento típico em “saca-rolha”, deve-se colocar a colônia em uma lâmina com solução salina 0,9% e utilizar contraste de fase. Em prolongada exposição ao ar ou em culturas velhas as células se tornam esféricas ou cocóides, dificultando a identificação.

Várias provas bioquímicas são usadas para diferenciar as espécies, como a produção de oxidase, catalase, sulfeto de hidrogênio, hidrólise do hipurato, redução do nitrato e sensibilidade a cefalotina e ácido nalidíxico (BARRETT et al., 1988). O uso dos antibióticos para diferenciação da espécie tem sido problemático devido à resistência de algumas cepas (ENDTZ et al., 1991).

Uma metodologia para detecção de *Campylobacter* sp considerada de alta acurácia é a reação da polimerase em cadeia (PCR), que amplifica o DNA (Ácido desoxirribonucléico) cromossômico de seqüências gênicas que não são afetadas por condições ambientais ou de cultivo (SAIKI et al., 1988). A reação envolve as etapas de desnaturação do DNA molde em uma fita simples, anelamento ou hibridização dos *primers* às regiões complementares ao DNA molde e extensão e síntese do fragmento de DNA. Este ciclo é repetido por 20 - 40 vezes, sendo que cada novo fragmento sintetizado serve como um molde nos ciclos subseqüentes, resultando em um aumento exponencial no número de cópias da região do DNA alvo (FARBER, 1996).

Nos últimos tempos, sistemas que utilizam PCR automatizados vêm sendo utilizados para diminuir o tempo de análise e erros operacionais, como por exemplo, o BAX System da DuPont®. Nesse sistema, a análise é iniciada com enriquecimento da amostra e posteriormente são adicionadas uma solução de lise e tratadas termicamente para liberação do DNA. Os reagentes necessários para a PCR e o corante fluorescente “SYBR Green”, peletizados e pré-distribuídos em tubos de reação, são reidratados com a amostra lisada e transferidos ao termociclador/detector, onde ocorre a amplificação do fragmento de DNA específico do microrganismo. O DNA amplificado gera um sinal fluorescente que é interpretado pelo sistema e os resultados são demonstrados como símbolos positivos ou negativos e gráficos (USER’S GUIDE, 2000). Esse sistema foi aprovado pelo USDA – Food safety and inspection service em 2004 como método para detectar *Campylobacter coli* e *C. lari* em alimentos (FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2002). No Brasil, o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento), conforme Instrução Normativa nº 41, de 7 de julho de 2004 (BRASIL, 2004), aprovou o sistema, como método oficial, para a detecção de *Salmonella* sp. em amostras de alimentos, água e ambientais.

IV) MATERIAL E MÉTODOS

A) LOCAL E AMOSTRAGEM

A coleta das amostras foi realizada em animais em idade reprodutiva alojados na propriedade de uma empresa avícola localizada na região do Triângulo Mineiro, no período de março a outubro de 2005. Todo o ciclo de cria e produção foi realizada na mesma fazenda, com aves alojadas com um dia de idade e transferidas para aviários de produção com 22 semanas. As aves eram provenientes de lotes de avós de produção comercial sem informação sobre a prevalência de *Campylobacter* sp.

No experimento, foram utilizados 3 lotes de matrizes de corte, alojados em núcleos diferentes. Esses lotes (A, B e C) eram da mesma linhagem, mas possuíam origens diferentes e foram alojados em locais distintos. As idades das aves no início

dos estudos eram 55, 49 e 42 semanas, respectivamente, para os lotes A, B e C. O experimento foi conduzido até o descarte dos lotes (69 semanas).

B) ESTUDO

B.1) *Campylobacter* sp nos lotes de matrizes

Foram coletadas para análise da presença/ausência de *Campylobacter* sp, amostras cloacais e de órgãos das aves.

Com o auxílio de suabe estéril, foram coletados nos lotes A e B, amostras cloacais individuais de 279 aves. Dessas, 141 foram provenientes do lote A e 138 do B. Todas elas foram previamente identificadas com uma anilha numerada na região da asa. No lote C, foram coletas 11 amostras provenientes de 33 aves (*pool* de 3 animais) não identificadas. Após coleta, as suabes foram adicionados a 10mL de água peptonada tamponada estéril (APT), acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo e transportados ao laboratório para análise.

As aves positivas no suabe cloacal dos lotes A e B foram separadas em baias e as do lote C foram soltas no aviário.

Para coleta de órgãos, matrizes positivas em suabe cloacal foram sacrificadas no dia do descarte (69 semanas de idade) por rompimento da medula na região cervical.. Foram assepticamente colhidas um total de 33 amostras, (11 de ovário e oviduto, 11 de fígado, baço e coração 11 de intestino). Dessas 11 amostras, 6 eram provenientes de aves do lote A e 5 do lote B. Cada amostra foi composta de um *pool* de 3 aves.

No lote C, não foi realizada coleta de órgãos para análise.

Amostras ambientais

Foram coletadas 10 amostras ambientais nos lotes A e B. As colheitas foram realizadas por meio de 2 e 4 suabes de arrasto da cama nos lotes A e B, respectivamente, e 2 nos ninhos de cada um deles. As amostras foram adicionadas a 50mL de APT, acondicionadas em caixa isotérmica com gelo e transportadas ao laboratório para análises. No lote C, não foram coletadas amostras ambientais.

B.2) Estudo da transmissibilidade para a progênie

Ovos na granja

A cada 15 dias, os ovos das aves positivas para *Campylobacter* sp dos lotes A e B em suabes cloacais foram coletados após prévia higienização e antisepsia das mãos com álcool gel. No total, 366 ovos foram destinados para análises. Destes, 234 foram submetidos ao processo de fumigação (12 g/m³ de paraformaldeído) e 132 analisados sem nenhum tratamento. De cada um dos lotes A (126 e 69) e B (108 e 63) foram utilizados 195 e 171 ovos, respectivamente, divididos em não fumigados e fumigados. A presença/ausência de *Campylobacter* sp foi pesquisada na casca e na gema.

Os ovos foram enviados ao laboratório e lá, quebrados assepticamente em placa de Petri estéril, sendo separadas as cascas e as gemas. As cascas e as gemas foram depositadas separadamente em sacos estéreis contendo 50mL de APT. Cada amostra foi composta por um *pool* de 3 ovos. No lote C, não foram colhidas amostras de ovos.

Pesquisa em pintainhos e resíduos de incubatório – lote A e B

A cada 15 dias, alternados à coleta dos ovos para análise microbiológica, outros 202 ovos (99 do lote A e 103 do lote B) foram coletados assepticamente e enviados ao incubatório. Esses ovos não fumigados foram incubados após estocagem média de 5 dias. Com 10 dias de incubação, houve a retirada de 36 ovos (18 do lote A e 18 do lote B) inférteis que foram enviados ao laboratório. Cada amostra foi composta de 3 ovos e foram analisados macerados de casca e gema.

Dos 121 pintainhos eclodidos (55 do lote A em 7 nascimentos e 66 do lote B em 9 nascimentos), foram coletadas amostras de mecônio. A colheita foi realizada individualmente por meio de fricção na região do abdome e a amostra adicionada a 10mL de caldo Bolton. Além do mecônio, 45 ovos não eclodidos (25 do lote A 20 do lote B) foram enviados inteiros ao laboratório para análise microbiológica.

Após a retirada do mecônio, os pintainhos foram sacrificados por rompimento da medula cervical e deles retiradas 36 amostras (*pool* de 3 aves) para colheita de órgãos.

As amostras consistiam de coração, baço e fígado (análise 1) e intestino (análise 2), perfazendo um total de 16 amostras do lote A e 20 do lote B. Estas amostras foram adicionadas a 50mL de APT e enviadas para análise.

Pesquisa em pintainhos – lote C

No mesmo dia da coleta de suabe cloacal nas reprodutoras, foi coletado mecônio de 30 pintainhos (*pool* de 3 aves). Essas amostras foram adicionadas a 10 mL de APT e enviadas imediatamente para análise.

Amostras ambientais no incubatório - lotes A e B

Um total de 13 suabes ambientais (de arrasto) das máquinas de nascedouro foi coletado no dia do nascimento dos pintainhos. As amostras foram adicionadas a 50mL de APT e imediatamente enviadas ao laboratório. Dessas amostras, 6 foram colhidas no lote A e 7 do lote B.

Um esquema da condução do experimento pode ser observado na **Figura 1**.

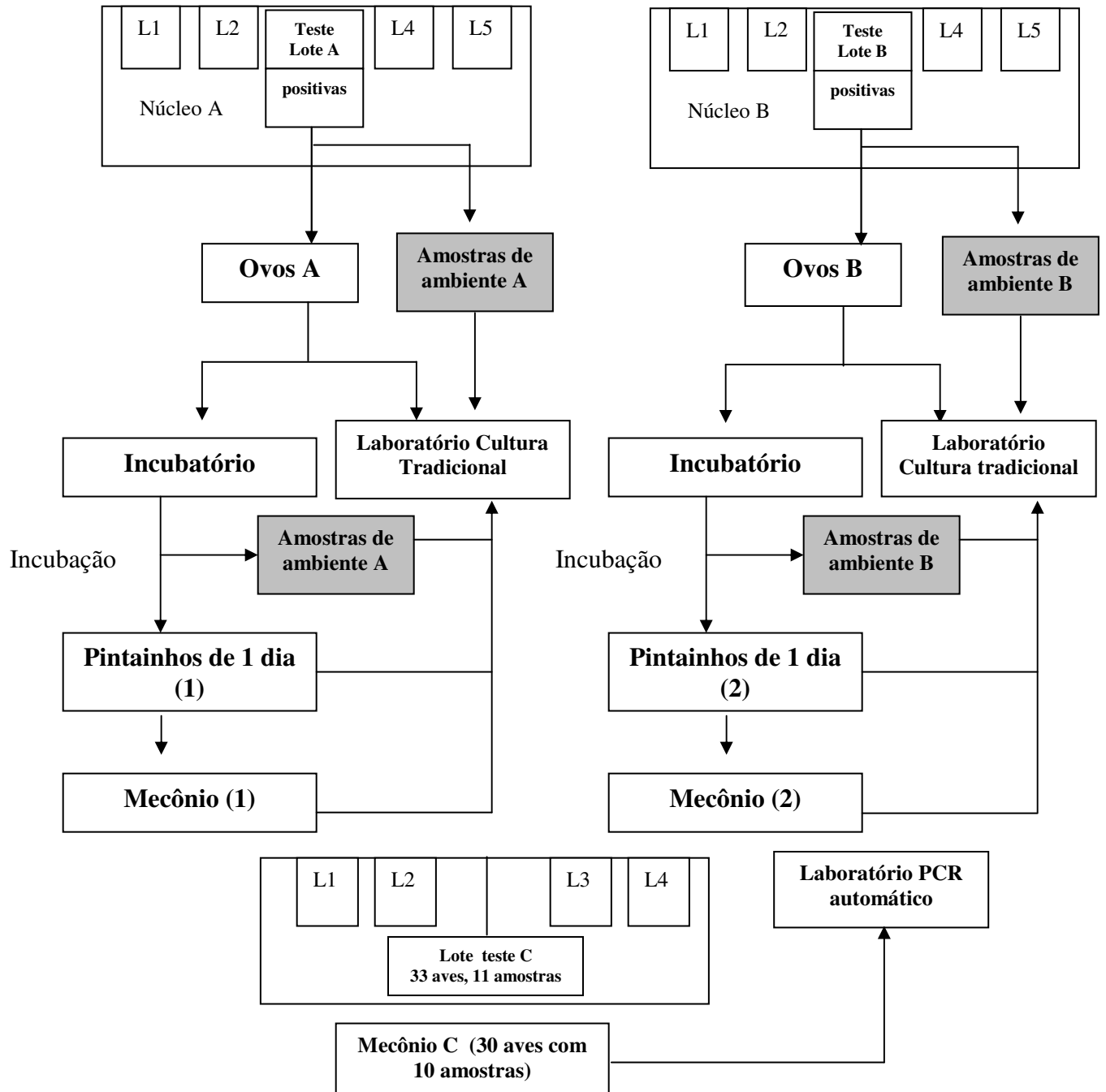


Figura 1- Esquema de condução do experimento.

C. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

C. 1) Pesquisa de *Campylobacter* sp – cultura convencional

O protocolo de análise convencional utilizado foi realizado de acordo com FERNANDEZ (1983). No laboratório, as amostras permaneceram armazenadas entre 4 e 24 horas até o processamento. Para enriquecimento, 10mL do meio APT, no qual as amostras estavam acondicionadas, foram transferidos para 10mL de caldo Bolton (Oxoid®) suplementado com 5% sangue ovino hemolizado e mistura antibiótica (Oxoid®) (20mg/L cefoperazona de sódio, 20mg/L de vancomicina, 20g/L de trimetoprim, 50mg/L de cyclohexamina), todos em dupla concentração. O material foi incubado em atmosfera de microaerofilia (Probac microaerobic generator®) em jarras para anaerobiose a 37°C por 24 horas. Após o enriquecimento, alíquotas de cada cultura foram semeadas em ágar *Brucella* (Oxoid®) suplementado com a mistura antibiótica em concentração simples, sangue de ovino hemolizado e suplemento FBP (Oxoid®) composto de 0,4 g/L de piruvato de sódio, 0,4 g/L de sulfato ferroso e 0,4 g/L de metassulfito de sódio. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas em jarras para anaerobiose, sob atmosfera de microaerofilia.

Colônias típicas de *Campylobacter* sp foram confirmadas pela coloração de Gram para confirmação da morfologia em vírgula ou “asa de gaivota” e microscopia em gota pendente para verificação do movimento em “saca rolha”.

C.2) Uso de PCR no lote C

O PCR automatizado BAX System da DuPont® foi utilizado para verificar a presença da *Campylobacter* sp nas amostras de galinhas e mecônio do lote C.

Os procedimentos foram realizados de acordo as orientações do fabricante. No laboratório, as amostras de mecônio e de suabe cloacal das galinhas transportadas em APT foram imediatamente adicionados a igual volume de caldo Bolton em dupla concentração e incubados a 37°C em atmosfera de microaerofilia. Para controle, foi utilizada a amostra de *Campylobacter jejuni* ATCC 30291 em um tubo contendo 10mL

de APT.

Após incubação, alíquota de 5µL da amostra foi transferida para tubos Eppendorf (Bioexpress, USA), adicionado 200µL de solução de protease em tampão fosfato e a mistura foi aquecida a 37°C por 20 minutos. A mistura foi aquecida a 95°C por 10 minutos e transferida para bloco de resfriamento (2°C a 8°C) durante 5 minutos. Após resfriamento, 50µL foram transferidos para os tubos de PCR contendo os primers, dNTPs, a Taq-DNA polimerase, corante fluorescente, controle positivo interno e demais reagentes necessários para a PCR. Os tubos foram transferidos para o termociclador/detector, onde o programa pré-estabelecido no *hardware* do equipamento foi executado. Ao final do ciclo de amplificação e detecção, o equipamento automaticamente liberou os resultados na tela do computador.

V) RESULTADOS E DISCUSSÃO

A) *Campylobacter* sp em matrizes – lotes A, B e C

A positividade para *Campylobacter* sp utilizando o método tradicional de cultivo foi de 14,18% (20/141), 13,77% (19/138) e 54,54% (6/11) nas aves provenientes dos lotes A B e C, respectivamente. Esses achados são inferiores aos de Kazwala et al. (1990) que encontraram uma prevalência de 80% e de Buhr (2002) que encontrou de 90% a 100% de positividade em lotes de matrizes. Os resultados do lote C, com os quais se utilizou o Sistema BAX®, mostraram uma maior positividade (54,54%), mas ainda inferior aos observados pelos outros pesquisadores. Fernandez et al. (1993), estudando a freqüência de isolamento de *Campylobacter* sp em galinhas domésticas, poedeiras e livres de patógenos específicos (LPE) encontraram percentagens de 66,7%, 29,4% e 7,3% respectivamente, concluindo que à medida em que as condições de manejo são melhoradas, a prevalência diminui. Assim, é provável que o índice de isolamento inferior observado nesse estudo seja pelas excelentes condições de manejo sanitário empregados na granja de que os animais desse estudo eram provenientes.

Nas amostras dos órgãos internos (ovários, ovidutos, fígados, baços e corações) coletados das aves dos lotes A e B, não houve isolamento da bactéria. Esses resultados diferem daqueles encontrados por Camarda et al. (2000) e Di Modugno

(1997) que encontraram positividade no trato reprodutivo. Buhr também encontrou um alto índice de positividade em ovário e oviduto. Os índices de positividade foram de 58,33%, 33,33% e 16,66% respectivamente em útero, magno e istmo.

Campylobacter sp não foi isolada de intestinos de animais provenientes do lote B, porém no lote A, 50% (3/6) das amostras foram positivas. Era esperada uma positividade maior nas amostras de intestinos devido os resultados obtidos no suabe cloacal. Provavelmente, há uma ciclicidade na excreção dessa bactéria, porém, o pouco conhecimento sobre a epidemiologia da *Campylobacter* sp e a coleta aleatória das amostras no lote dificultam o entendimento desses resultados.

Nas amostras ambientais provenientes do lote A, a positividade foi de 50% (1/2) nas amostras de cama e ninho. No lote B, houve 100% de positividade em amostras de cama (4/4) e todas foram negativas naquelas de ninho (0/2). Franchin et al. (2005) encontraram 37,5% de positividade em lotes de frango, mas não foram encontrados relatos de estudos em camas de reprodutoras. A alta prevalência de *Campylobacter* sp nos lotes, segundo Berndtson et al. (1996), é maior em camas úmidas devido provavelmente, a sua sensibilidade à desidratação. Nos lotes A e B, as camas estavam relativamente secas e sem cheiro característico de amônia. A menor positividade nos ninhos pode ser consequência do ambiente com menor quantidade de matéria orgânica e do uso de paraformaldeído a cada 45 dias.

Os resultados obtidos nas amostras provenientes dos lotes de matrizes podem ser visualizados nas **Tabela 1**.

Tabela 1 - Positividade para *Campylobacter* sp em amostras provenientes de matrizes.

Amostras	Lote A		Lote B		Lote C	
	%	+/n	%	+/n	%	+/n
suabe cloacal	14,18	20/141	13,77	19/138	54,54	6/11 *
suabe de cama	50	1/2	100	4/4	NR	NR
suabe de ninho	50	1/2	0	0/2	NR	NR
ovário e oviduto	0	0/6 *	0	0/5	NR	NR
fígado, baço e coração	0	0/6 *	0	0/5	NR	NR
intestinos	50	3/6 *	0	0/5	NR	NR

* *pool* de 3 aves; NR – não realizado; + amostras positivas ; n – número de amostras coletadas.

B) *Campylobacter* sp na progênie

Os resultados obtidos nesse estudo não conseguiram demonstrar a presença de *Campylobacter* sp nos macerados de casca. Esperava-se que matrizes positivas em suabe cloacal tivessem ovos positivos ao menos em macerado de casca de ovos não desinfetados. Esse resultado difere dos achados de Doyle (1984) e Shanker et al. (1986) que detectaram 0,8% e 1% de positividade, respectivamente, em casca de ovos de matrizes positivas para *Campylobacter jejuni*. Neill et al. (1985) encontraram a bactéria na casca de ovos, mas restrita à membrana da casca. Nesse estudo, a negatividade na casca dos ovos deve-se provavelmente à dessecação, pois a *Campylobacter* sp é muito sensível à desidratação e condições atmosféricas (EVANS, 1997).

Nenhuma positividade foi encontrada nas gemas dos ovos pesquisados. Doyle (1984) não encontrou a bactéria no conteúdo interno dos ovos, mesmo após terem permanecido em contato com cultura de *Campylobacter* sp em três temperaturas

diferentes. Também Baker (1987); Rabie (1992); Zaki e Reda (1995); Sahin et al. (2003) não encontraram nenhuma positividade *Campylobacter* em gema de ovos.

Não houve positividade em amostras de mecônio oriundas dos lotes positivos pelo método de cultura tradicional. Porém, com o uso do PCR pelo sistema BAX® a positividade foi de 80%. Hiatt (2002) também não encontrou positividade em penugem e casca de ovos de ambiente no incubatório, utilizando técnica de cultivo tradicional. Todavia, quando utilizou PCR direto encontrou positividade de 100% e 70% para amostras de penugem e casca de ovos, respectivamente. É possível que injúria por condições adversas torne as células de *Campylobacter* sp em formas VNC, fazendo com que a detecção da bactéria só seja possível por técnicas moleculares. Os resultados obtidos no BAX® podem ser observados na **Figura 2**.

No sistema BAX®, as curvas de fusão do controle interno são representadas por um primeiro pico na faixa 78°C a 80°C e a positividade das amostras é evidenciada por uma segunda curva de fusão em 80-85 °C (USER'S GUIDE, 2000). Os resultados gráficos das amostras positivas foram típicos e podem ser observadas no **Anexo 1**.

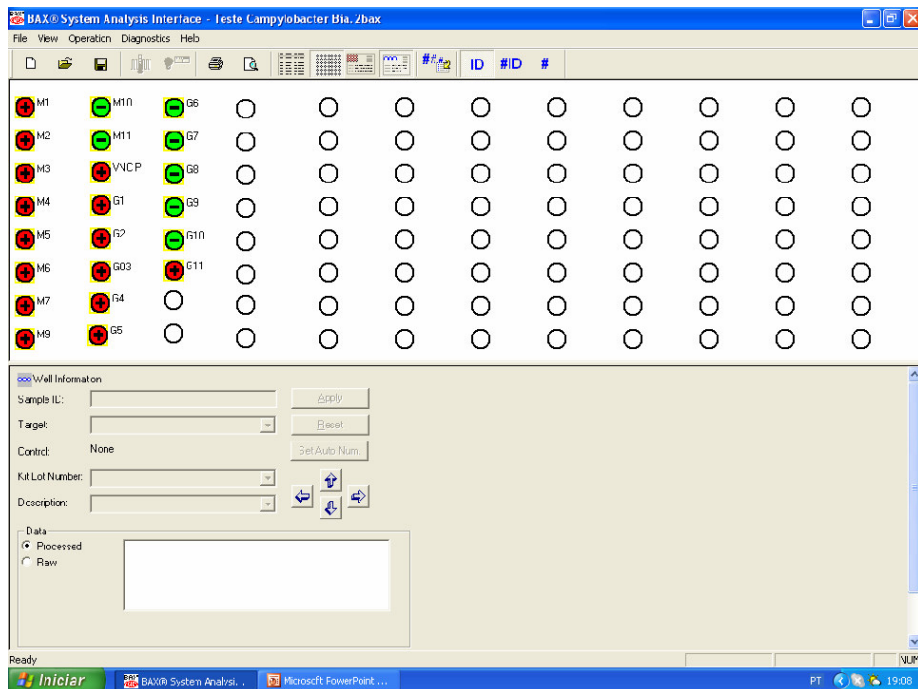


Figura 2 – Resultados obtidos para amostras de matrizes e mecônios na tela do PCR automatizado BAX System DuPont®.

Na literatura, não há descrição de qualquer autor que conseguisse isolar *Campylobacter* sp em amostras de mecônio. Os resultados positivos encontrados nesse estudo com o uso do sistema BAX® são importantes achados, considerando que a presença em mecônio é um indício da transmissão vertical.

A positividade do mecônio com o uso da metodologia BAX® aliada à negatividade pelo método de cultura tradicional, pode indicar a presença de um número de células do agente abaixo do nível de detecção do método de cultivo tradicional ou que as bactérias estivessem em forma não cultivável. A *Campylobacter* sp, quando em condições de injúria como deficiência nutritiva ou pH ácido, sofre alterações morfológicas, passando da forma original de espiroqueta móvel para cocóide. Essas formas não são cultiváveis em meios de cultura, porém, são infectivas (MORENO et al., 2001).

O MAPA avaliou o desempenho do sistema BAX® para detecção de *Salmonella*. E a sensibilidade foi de 98,1%, a especificidade e a precisão relativa foram de 98,5% (Brasil, 2004). Stewart e Gendel (1998) ; Hochberg et al. (2001) ; Shearer et al. (2001) ; Silbernagel et al. (2004) e Folder (2005) avaliaram a sensibilidade e especificidade do BAX® para detecção de *Listeria monocytogenes* em relação ao método tradicional de cultivo e não encontraram diferenças significativas entre os dois. Estudos comparativos para detecção de *Salmonella* sp realizados por Shearer et al. (2001) e Bailey e Cosb (2003) demonstraram que o Bax® é adequado para a detecção desse patógeno.

Englen e Fedrka-Cray (2002) comparou PCR tradicional e a utilização do sistema BAX® em amostras com *C. jejuni* e *C. coli* oriundas de água de enxágüe de carcaças de frangos. Em 89,5%, houve resultados idênticos, 10,5% foram opostos e 3% mistos. As amostras conflitantes foram retestadas com 78,6% de resultados idênticos e 21,4% tiveram resultados conflitantes. O autor sugere que o BAX® é um sistema eficiente e rápido para detecção da bactéria.

Campylobacter sp não foi isolada em órgãos de pintainhos provenientes dos lotes A e B com uso da metodologia tradicional. A negatividade para *Campylobacter* sp em pintos de 1 dia também foi demonstrada por Jacobs-Reistman (1995), Evans (2000), Newell et al. (2000) e Shreeve et al. (2000). Esses autores defendem que pintos não são contaminados até 2 ou 3 semanas de idade e que essa resistência pode ser explicada pela imunidade materna. Sahin et al. (2003) desafiaram pintainhos de 3 dias

de idade naturalmente positivos para anticorpos maternos específicos contra *Campylobacter* sp e aves com 21 dias de idade naturalmente negativos para anticorpos maternos. O início da contaminação ocorreu muito mais cedo nas aves de 21 dias de idade, sugerindo o papel importante dos anticorpos maternos na contaminação precoce das aves. Para dar suporte aos seus estudos, esse mesmo autor utilizou galinhas LPE contaminadas e não contaminadas com *C. jejuni* e, após, contaminou sua progênie com 3 dias de idade. Os pintainhos com anticorpos maternos específicos para *C. jejuni* tiveram um índice de contaminação muito menor que aves negativas para anticorpos maternos de *C. jejuni*.

Amostras de ambiente de incubatório, ovos inférteis e ovos não eclodidos foram negativas para *Campylobacter* sp em método tradicional de cultivo. Rabie (1992); Zaki e Reda (1995) também não encontraram positividade em ovos inférteis. Porém, Zaki e Redá (1995), após inoculação, encontraram 0,72% de positividade em embriões com mortalidade embrionária inicial, 1,85% em embriões com mortalidade embrionária tardia e 2,15% em embriões que bicaram os ovos, mas não conseguiram eclodir.

Os resultados positivos obtidos nas amostras provenientes dos lotes da progênie pode ser visualizados nas **Tabela 2**.

Tabela 2 - Positividade para *Campylobacter* sp em amostras provenientes da progênie

Amostras	Lote A		Lote B		Lote C	
	%	+/n	%	+/n	%	+/n
Macerado de casca (ovos desinfetados)	0	0/42 *	0	0/36 *	NR	NR
Macerado de casca (ovos não desinfetados)	0	0/23*	0	0/21*	NR	NR
Conteúdo interno (ovos desinfetados)	0	0/42 *	0	0/36 *	NR	NR
Conteúdo interno (ovos não desinfetados)	0	0/23*	0	0/21*	NR	NR
Macerado de ovos inférteis	0	0/6*	0	0/6*	NR	NR
Conteúdo interno de ovos inférteis	0	0/6*	0	0/6*	NR	NR
Suabe de mecônio	0	0/55	0	0/66	80	8/10*
Ovos não eclodidos	0	0/25	0	0/20	NR	NR
Coração, Baço e Fígado dos pintainhos	0	0/16*	0	0/16*	NR	NR
Intestino de Pintainhos	0	0/16*	0	0/16*	NR	NR
Ambiente Nascedouro	0	0/6	0	0/7	NR	NR

* *pool* de 3; NR – não realizado; + amostras positivas; n – número de amostras coletadas.

As bactérias do gênero *Campylobacter* medem 0,2µm a 0,8µm de largura por 0,5 µm a 5µm de comprimento (VANDAME, 1992), tamanho significativamente menor que os poros da casca do ovo que são de 11µm a 12µm. A temperatura da ave de 42°C (SESTI e ITO, 2000) é ideal para sobrevivência das três principais espécies de importância para avicultura que são classificadas como termotolerantes. Além disso, *Campylobacter jejuni* pode estar naturalmente presente em segmentos dos tratos

reprodutivos de lotes de galinhas comerciais (BUHR, 2002) e possui motilidade em movimentos de sacarrolha (VANDAME, 1992). Essas características fisiológicas do ovo, da ave e da bactéria levam a acreditar que é possível a entrada de *Campylobacter* sp para o interior de ovos.

Estudos realizados por Sahin et al. (2003) em ovos de galinhas e por Maruyama et al. (1995) em ovos de codorna, mostraram que a viabilidade de *Campylobacter jejuni* é dramaticamente diminuída quando a bactéria é inoculada dentro do albume. É possível que no conteúdo da clara exista alguma substância ou fator que impeça a multiplicação desse microrganismo no interior dos ovos. Fatores intrínsecos presentes nos ovos, os protegem de uma maneira relativamente eficaz da transmissão vertical. Esta pode ser a explicação da baixa frequência de contaminação e do pequeno número de microrganismos encontrados em ovos. Enzimas presentes na clara como a lisozima, avidina, proteína ovoinibidora, ovoflavoproteína e ovotransferrina possuem ação antimicrobiana direta ou indireta. Além disso, a clara apresenta um conteúdo baixo de ferro (aproximadamente 0,4mg/100g). Também, o pH do albume, que é de aproximadamente 9,0, não representa ambiente favorável para maioria dos microrganismos (COGAN, 2001; SGARBIERI, 1996; JAY, 2000).

Em contrapartida, houve alta percentagem de positividade em amostras de mecônio utilizando o sistema BAX®. Esse sistema, como foi anteriormente mencionado, vem sendo utilizado com sucesso para amostras ambientais e de alimentos. Considerando as características do método que é indicado para amostras ambientais, é possível que o sistema também seja eficiente para analisar mecônio, material onde não há flora bacteriana instalada e as células se encontram sob injúria pelo pH. Os lotes positivos nesse estudo eram negativos para outras bactérias patogênicas que podem ser transmitidas verticalmente.

A *Campylobacter* sp, quando estressada por condições desfavoráveis tais como deficiência nutritiva, pH ou variação de temperatura, pode assumir formas VNC (MORENO et al., 2001). Estudos conduzidos por Fonseca et al. (2006) determinaram em amostras provenientes de mecônio de 33 pintainhos, pH médio de 4,88 com valores variando de 4,65 a 5,26, sendo 63,63% dos resultados abaixo de pH 4,9. Assim, o não isolamento da *Campylobacter* sp em cultura tradicional pode ser explicado, provavelmente, pelo fato de a bactéria não ser cultivável em pH abaixo de 4,9.

A transição da forma viável para VNC é acompanhada de uma redução na dimensão celular e uma mudança na morfologia de bastonetes para cocos. Não há evidências de que o decréscimo no tamanho seja devido à fissão binária e, sim, a uma estratégia para minimizar as exigências para manutenção celular. Dessa forma, a redução em massa da parede pode ser resultado de atividade catabólica (ROWE et al., 1998).

O conhecimento da epidemiologia e, conseqüentemente, a possibilidade de a *Campylobacter* sp ser transmitida verticalmente, é essencial para ciência. Esse conhecimento irá esclarecer uma dúvida da comunidade científica mundial e, ainda, permitir a implementação de formas de controle eficientes. Esse trabalho fornece um indício que a transmissão vertical pode acontecer em aves e estimula novos estudos com utilização de técnicas de genética molecular como o PCR direto e outras de genotipificação como o seqüenciamento de DNA para, definitivamente, estabelecer a epidemiologia entre lotes de reprodutora e sua progênie.

VI) CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo demonstram negatividade de *Campylobacter* sp em materiais de pintainhos de um dia pelo método de cultura tradicional. Mas paralelamente, apontam positividade em mecônio de pintainhos dessa mesma idade, pelo método de PCR automatizado BAX®, despertando a necessidade de outras pesquisas que utilizem métodos de genética molecular para análise da transmissão vertical desse agente em lotes de frango.

VII) REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ACHEN, M. MORISHITA, T. Y. LEY, E. C. Shedding and colonization of *Campylobacter* jejuni in Broiler from day-of-hatch to slaughter age. **Avian Disease**, Minnesota, v. 42, p. 732-737, 1998.

ALLEN, K. J.; MORISHITA, T. Y.; LEY, E. C. Shedding and colonization of *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 to assess eggshell and penetration in fresh and retail eggs. **Journal of Food Protection**, Des Moines, Iowa, US v. 64, p. 2058-2062, 2001.

ALTEKRUSE, S.F.; SWERDLOW, D.L.; STERN, N.J. *Campylobacter jejuni*. **Veterinary Clinics Of North America**, Philadelphia, v.14, n. 1, p.31-39, 1998.

ALTEKRUSE, S.F.; STERN, N.J.; FIELDS, P.I.; SWERDLOW, D.L. *Campylobacter jejuni* an emerging foodborne pathogen. **Emerging Infectious Disease**, Atlanta, v.5, p.28-35, 1999.

ANON. Communicable Disease Report, Ontario, v.1, n. 20. 1991.

ANON. Interim report on Campylobacter, Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food, London, 1993.

AQUINO, M. H. C.; PACHECO, A. P. G.; FERREIRA, M. C. S.; TIBANA, A. Frequency of isolation and Identification of Thermophilic Campylobacters from Animals in Brazil. **The Veterinary Journal**, London, v. 164, p. 159-161, 2002.

ASPINALL, S. T.; WAREING, D. R. A; HAYWARD, P. G.; HUTCHINSON, D. N. A comparison of a new campylobacter selective medium (CAT) with membrane filtration for the isolation of thermophilic campylobacters including *Campylobacter upsaliensis*. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 80, p. 645-650, 1996.

Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos [ABEF]. **Produção Brasileira de frango**. 2006. Disponível em: <[http:// www.abef.com.br/](http://www.abef.com.br/)>. Acesso: fev. 2006.

AYLING, R. D.; WOODWARD, M. J.; EVANS, S.; NEWELL, D. G. Restriction fragment length polymorphism of polymerase chain reaction product applied to the differentiation

of poultry campylobacters for epidemiological investigations. **Research in Veterinary Science**, London, v. 60, p. 168-172, 1996.

BABAKHANI, F. K.; JOENS, L. A. Primary swine intestinal cells as a model for studying *Campylobacter jejuni* invasiveness. **Infection and Immunity**, Washington, v. 62, p. 2723-2726, 1993.

BAILEY, J.S.; COSBY, D.E. Detection of *Salmonella* from chicken rinses and chicken hot dogs with the automated BAX® PCR system. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.66, n.11, p.2138-2140, 2003.

BAKER, R.C.; PAREDES, M.D.; QURESHI, R.A. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in eggs and poultry meat in New York State. **Poultry Science**, Champaign, v.66, n. 11, p. 1766-1770, 1987.

BARRETT, T. J.; PATTON, C. M.; MORRIS, G. K. Differentiation of *Campylobacter* species using phenotypic characterization. **Laboratory Medicine**, Chicago, v. 19, p. 96-102, 1988.

BEERY J.T., HUGDAHL M.B., DOYLE M.P. Colonization of gastrointestinal tracts of chicks by *Campylobacter jejuni*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.54, n. 10, p.2365–2370, 1988.

BERNDTSON, E.; EMANUELSON, U.; ENGVALL, A.; DANIELSOON-THAM, M. L. A 1-year epidemiological study of campylobacters in 18 Swedish chicken farms. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 26, p. 167-185, 1996.

BERRANG M.E., DICKENS J.A. Presence and level of *Campylobacter* spp. on broiler carcasses throughout the processing plant. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 9, Athens, P. 43–47, 2000.

BLASER, M. J.; SAZIE, E.; WILLIAMS, P. The influence of immunity on raw milk-associated *Campylobacter* infection. **The Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 257, p. 43-46, 1987.

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

BRASIL. Instrução Normativa nº41, de 7 de junho de 2004. Validação da metodologia utilizada pelo sistema de detecção patogênica para alimentos e amostras ambientais – A.BAX® para detecção de *Salmonella* spp. em amostras de alimentos, água e amostras ambientais (swab), como método alternativo equivalente ao método de referência do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n.113, 15 jun. 04. Seção 1, p.3-6.

BRASIL. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Legislação de Defesa Sanitária Animal. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. Programa Nacional de Sanidade Avícola. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). p. 75-77, 2002.

BUHR, R. J.; COX, N. A.; STERN, N. J.; MUSGROVE, J.L.; WILSON, J.L.; HIETT, K.L. Recovery of *Campylobacter* from segments of the reproductive tract of broiler breeder hens. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 46, p.919-924, 2002.

CAMARDA, A.; NEWELL, D. G.; NASTI, R.; Di MODUGNO, G. Genotyping *Campylobacter jejuni* strains isolated from the gut and oviduct of laying hens. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 44, p.907-912. 2000.

CARVALHO, A. C. F. B.; COSTA, F. N. Ocorrência de *Campylobacter* sp em carcaças e cortes de frango ao nível industrial e comercial. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 46, p. 41-47, 1996.

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

Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. Preliminary food net data on the incidence of foodborne illnesses –selected sites, United States, 2002. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 52, n. 15, p. 340-343, 2003.

CHAVEERACH, P.; KEUZENKAMP, D. A.; LIPMAN, L. J.; VAN KNAPENT, F. Effect of Organic Acids in Drinking Water for Young Broilers on *Campylobacter* Infection, volatile Fatty Acid Production, Gut Microflora and Histological Cell Changes. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, p. 330-334, 2004.

COGAN, T. A. et al. Growth of *Salmonella* Enteritidis in artificially contaminated eggs: the effects of inoculum size and suspending media. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 70, p. 131-141, 2001.

CONSTANTINESCU, C. S.; HILLIARD, B.; FUJIOKA, T.; BHOPALE, M. K.; CALIDA, D.; ROSTAMI, A. M. Pathogenesis of neuroimmunologic disease: experimental models. **Immunologic Research**, Basel, v. 17, p. 217-227, 1998.

COX, N. A.; STERN, N. J.; CRAVEN, M. E.; BERRANG, M. E.; MUSGROVE, M. T. Prevalence of *Campylobacter* and *Salmonella* in the cecal droppings of turkeys during production. **Journal of Applied Poultry Research**, Athens, v. 9, p.542-545, 2000.

COX, L. A. Re-examining the causes of campylobacteriosis. **International Journal of Infectious Diseases**, Boston, v. 6, n. 3, 2002.

COX, N. A.; HIETT, K. L.; STERN, N. J.; BERRANG, M. E. Identification of a New Source of *Campylobacter* contamination in Poultry: Transmission from Breeder Hens to Broiler Chickens. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 46, p.535-541, 2002.

COX, N. A.; BAILEY, J. S.; RICHARDSON, L. J.; BUHR, R. J.; COSBY, D. E.; WILSON, J. L.; HIETT, K. L.; SIRAGUSA, G. R.; BOURASSA, D. V. Presence of Naturally Occurring *Campylobacter* and *Salmonella* in the mature and immature ovarian follicles of late-life broiler breeder hens. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 49, p.285-287, 2005.

Di MODUGNO, G.; NASTI, R.; CAMARDA, A. Isolation of *Campylobacter jejuni* from laying hens oviduct: preliminary results. In: COST Action 97 Pathogenic microorganisms in poultry and eggs. 5. Poultry and food safety. NAGY, B.; MULDER, R. W. A. (Ed). Brussels: European Commission. 1997. p. 269-274.

DOYLE, L. P. A vibrio associated with swine dysentery. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 5, p.3-5, 1944.

DOYLE, M. P. Association of *Campylobacter jejuni* with laying hens and eggs. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 47, n. 3, p.533-536, 1984

DOYLE, M. P. *Campylobacter jejuni*. In: OBLINGER, J. L. (Ed). **Bacteria associated with foodborne disease: A scientific status summary**. Chicago: IFT, 1988, p. 1-18.

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

ENGLER, M. D.; FEDRKA-CRAY, P. J. Evaluation of a commercial diagnostic PCR for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 35, p. 353-356, 2002.

ESCHERICH, T. Beiträge zur Kenntnis der Darmbakterien. III. Über das Vorkommen von Vibrionen im Darmkanal und den Stuhlgängen der Säuglinge. **Münch Med Wochenschr**, Stuttgart, v. 33, p. 833-835, 1886.

EVANS, S.L Introduction and spread of thermophilic campylobacters in broiler flocks. **The Veterinary Record**, London, v. 131, p. 574-576, 1992.

EVANS, S.L. Introduction and spread of thermophilic campylobacters in broiler flocks. **Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum**, Kobenhavn, v. 27, p. 540-547, 1997.

Evans, S. A. *Epidemiological studies of Salmonella and Campylobacter in poultry*. London, 1997, 151p. (Ph.D. Thesis. University of London, London, United Kingdom).

EVANS, S. J.; SAYERS A. R. A longitudinal study of campylobacter infection of broiler flocks in Great Britain. **Preventive Veterinary Medicine** , Amsterdam, v.46, n. 209–223, 2000.

FARBER, J.M. An introduction to the hows and whys of molecular typing. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.59, n.10, p.1091-1101, 1996.

FEDERIGHI, M.; MAGRAS, C.; PILET, M. F.; WOODWARD, D.; JOHNSON, W.; JUGIAU, F.; JOUVE, J. L. V. Incidence of thermotolerant Campylobacter in foods assessed by NF ISO 10272 standard: results of a two-year study. **Food Microbiology**, London, v. 16, p. 195-204, 1999.

FERNANDEZ. H. Thermophilic species of Campylobacter. bacteriological, epidemiological and pathogenical aspects. S. Paulo, 1983. [Doctoral Thesis - School of Medicine of S. Paulo - EPM].

FERNANDEZ. H. Increase of Campylobacter isolation rates using an enrichment medium. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, 23: 5-7, 1992.

FERNANDEZ, H. Thermotolerant Campylobacter species associated with human diarrhea in Latin América. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 44 p. 39-44, 1992.

FERNANDEZ, H., SALAZAR, R., LANDSKRON, E. Occurrence of thermotolerant species of *Campylobacter* in three groups of hens maintained under different environmental conditions. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.24, n.4, p. 265-268, 1993.

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

FERNANDEZ, H, SILVIO, O, ULYSSES, F. N. Acute Diarrhea Associated to *Campylobacter jejuni* ssp *doylei*, São Paulo, Brazil. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, Baltimore, v. 16, n. 11, 1997.

FERNANDEZ, H. *Campylobacter* y *Arcobacter*. **Biological Research**. Santiago, v.38, n.2, 2005. Trabalho apresentado no Congreso Chileno De Microbiología, Santiago, 27; oct. 2005.

FERNANDEZ, H.; GARCÍA, A.; VILLANUEVA, M. P. Serotipos de *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni* aislado de ave para consumo humano y en muestras de heces de niños con diarrea. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 37, n.1, p.79-81, 2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION [FDA] - Center for Food Safety and Applied Nutrition. 2002. Disponível em:<<http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/foodborn.html>> Acesso em: mai. 2004.

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

FONSECA, B. B.; SILVEIRA, M. S.; VIEIRA, F. L.; BELLET, M. E.; SILVA, P. L.; SONCINI, R. A.; ROSSI, D.A. Avaliação Do Ph do Mecônio de pintos de um dia de idade como indicador de patógenos, 2006. Não Publicado.

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

FRIEDMAN, C. R.; NEIMANN, J.; WEGENER, H. C.; TAUXE, R. V. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M. J. **Campylobacter**. 2. ed. Washington, D C: American Society for Microbiology Press, 2000. p. 121-138.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Agentes bacterianos de toxinfecções. In: GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. São Paulo: Varela, 2001. p. 199-247.

GIBBENS, J. C.; PASCOE, S. J.; EVANS, S. J.; DAVIES, R. H.; SAYERS, A. R. A trial of biosecurity as a means to control *Campylobacter* infection of broiler chickens. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 48. p. 85-99, 2001.

GOOSSENS, H.; POT, B.; VLAES, L.; VAN DEN BORRE, C.; VAN DEN ABBEELE, R.; VAN NAELTEN, C.; LEVY, J.; COGNIAU, H.; MARBEHANT P.; VERHOEF J. Characterization and description of "*Campylobacter upsaliensis*" isolated from human feces. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 28,n. 5, p. 1039-1046, 1990.

GREGORY, E.; BARNHART, H.; DREESEN, D. W.; STERN, N. J. Epidemiological study of *Campylobacter* spp. In broilers: Souce, time of colonization and prevalence. **Avian Disease**, Minnesota, v. 41, p. 890-898, 1997.

HALD, B.; WEDDERKOOP, A.; WADSEN, M. Thermophilic *Campylobacter*. In Danish broiler production: a cross-sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks. **Avian Pathology**, Huntingdon, v. 29, p. 123-131, 2000.

HAHN, G. The significance of pathogenic microorganisms in raw milk. **International Dairy Federation**, Brussels, 1994.

HANNINEN, M.L.; KORKEALA, H. PAKKALA, P. Growth and survival characteristics of *C.jejuni* in liquid eggs. **The Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 92, p. 53-58, 1984.

HARIHARAN, H.; MURPHY, G. A.; KEMPF, I. *Campylobacter jejuni*: Public health hazards and potential control methods in poultry: a review. **Veterinary Medicine**, Rotterdam, v.49, n. 11, p. 441-446, 2004.

HAZELEGER, W.; ARKESTEIJN, C.; TOOROPBOUMA, A.; BEUMER, R. Detection of the coccoid form of *Campylobacter jejuni* in chicken products with the use of the polymerase chain reaction. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 24, p. 273-281, 1994.

HIETT, K.L; COX, N. A.; STERN, N. Direct Polymerase Chain Reaction Detection of *Campylobacter spp.* In Poultry Hatchery Samples. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 46, n. 1, p.219-223, 2002.

HIETT, K.L; COX, N. A.; BUHR, R. J.; STERN, N. J. Genotype analyses of *Campylobacter* isolated from distinct segments of the reproductive tracts of broiler breeder hens. **Current Microbiology**, New York, v. 45, p.400-404, 2002.

HIRSH, D.C. Organismos espiralados I: *Campylobacter* – *Arcobacter* – *Lawsonia* (Trato Digestivo). In: HIRSH, D. C.; CHUNG ZEE, Y. **Microbiologia Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2003. p. 83-86.

HOCHBERG, A.M.; ROERING, A.; GANGAR, V.; CURIALE, M.; BARBOUR, W.M.; MROZINSKI, P.M. Sensitivity and specificity of the BAX[®] for screening *Listeria*

monocytogenes assay: Internal validation and independent laboratory study. **The Journal of AOAC**, Gaithersburg, v.84, n.4, p.1087-1097, 2001.

HOOP, R.; EHRSAM, H. Ein Beitrag zur Epidemiologie Von *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* in der Hühnermast. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, Bern, v. 129. p. 193-203. 1987.

HUMPHREY, T. The significance of Campylobacter species as foodborne pathogens. **PHLS Food Microbiology Research Unit**, United Kingdom 1999. 5p. Disponível em: <<http://www.probe.br/science.html>>. Acesso em: 02 ago. 2004.

HUTCHINSON, D. N.; BOLTON, F. J. Improved blood free selective medium for the isolation of *Campylobacter jejuni* from faecal specimens. **Journal of Clinical Pathology**, London, v. 37, p. 956-957, 1984.

JACOBS-REITSMA, W.F. **Epidemiology of *Campylobacter* in Breeder poultry**. Thesis Wageningen Agricultural University, Wageningen, 1994.

JACOBS-REITSMA, W.F. *Campylobacter* Bacteria in Breeder Flocks. **Avian Diseases**, Minnesota, v.39, p.355-359, 1995.

JACOBS-REITSMA, W.F.; GIESSEN A. W.; BOLDER, N. M.; MULDER, R. W. A. W. Epidemiology of *Campylobacter* spp. at two Dutch broiler farms. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v.114, p.413-422, 1995.

JAWETS, E.; MELNICK, J.L.; ADELBERG, E. A. *Vibrio*, *Campylobacter*, *Helicobacter* e bactérias associadas. In: **Microbiologia Médica**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1998.

JAY, J. M. *Modern food microbiology*. 6.ed. Maryland: Aspen. 2000

JONES, F. S.; LITTLE, R. B. The etiology of infectious diarrhea (winter scours) in cattle. **The Journal of Experimental Medicine**, Washington. 53, p. 835-844, 1931.

JONES, S. L.; LINDBERG, F. P.; BROWN, E. J. Phagocytosis. In: PAUL, W. E., (ed.). *Fundamental immunology*. 4 th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, Pa. p. 1011-1015.

KAPPERUD, G.; SKJERVE, E.; VILK, L; HAUGE, K.; LYSAKER, A.; AALMEN, I.; OSTROFF, S. M.; POTTER, M. Epidemiological investigation of risk factors for *Campylobacter* colonization in Norwegian broiler flocks. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 111, p. 245-255, 1993.

KARMALI, M. A.; SIMOR, A. E.; ROSCOE, M.; FLEMMING, P. C.; SMITH, S. S.; LANE, J. Evaluation of a blood-free, charcoal based, selective medium for the isolation of *campylobacter* organisms from feces. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 23, p. 456-459, 1986.

KAZWALA, R.R.; COLLINS, J. D.; HANNAN, J.; CRINION, R. A.; O'MAHONY, H. Factors responsible for the introduction and spread of *Campylobacter jejuni* infection in commercial poultry production. **The Veterinary Record**, London, v. 126, p. 305-306, 1990.

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

KIEHLBAUCH, J. A; BRENNER, D. J.; NICHOLSON, M. A.; BAKER, C. N.; PATTON, C. M.; STEIGEERWALT, A. G.; WACHSMUTH, I. K. *Campylobacter butzleri* sp. Nov. isolated from humans and animals with diarrheal illness. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 29, p. 376-385, 1991.

KING, V.; BAVETSIA, A.; BUMSTEAD, N. Effect of host lineage on the virulence of *Campylobacter jejuni* in the chicken embryo model. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 106, p. 271-274, 1993.

KOENRAAD P. M.; AYLING, R.; HAZELEGER, W. C.; ROMBOUTS, F. M.; NEWELL, D. G. The speciation and subtyping of *Campylobacter* isolates from sewage plants and

waste water from a connected poultry abattoir using molecular techniques. **Epidemiology and Infection**, London, v. 115, n.3, p. 485-494, 1995.

KOPECKO, D. J.; HU, L.; ZAAL, K. J. M. *Campylobacter jejuni* microtubule-dependent invasion, **Trends in Microbiology**, London, v. 9, n.8, 2001.

LAM, K. M.; DaMASSA, A. J.; MORISHITA, T. Y. SHIVAPRASAD, H. L.; BICKFORD, A. A. Pathogenicity of *Campylobacter jejuni* for Turkeys and Chickens. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 36, p. 359-363, 1992.

LEE, A.; SMITH, S. C. COLOE, P. J. Survival and growth of *Campylobacter jejuni* after artificial inoculation onto chicken skin as a function of temperature and packaging conditions. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.61, n.12, p. 1609-1614, 1998.

Levy, A. J. A gastro-enteritis outbreak probably due to a bovine strain of vibrio. **Yale Journal Of Biology And Medicine**, New Haven, v. 18, p.243-258, 1946.

Li C.Y., Xue P., Tian W.Q., Ligu R.C., Yang C. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in the chicken: and animal model of axonal Guillain-Barré syndrome. **Journal Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, London, v.61, p. 279–284, 1996.

LILJA, L., HINNINEN, M.L.; Evaluation of a commercial automated ELISA and PCR-method for rapid detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in poultry products. **Food Microbiology**, London, v. 18, p. 205-209, 2001.

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

MCFADYEAN, J.; STOCKMAN. Report of the Departmental Committee Appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to Enquire into Epizootic Abortion. Appendix to Part II. Abortion in Sheep, p. 1-64. His Majesty's Stationery office, London, United Kingdom, 1913.

MARTINS, W. T.; PATTON, C. M.; MORRIS, G. K.; POTTER, M. E.; PUHR, N. D. Selective enrichment broth for isolation of *Campylobacter jejuni*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 17, p. 853-855, 1983.

MARUYAMA, S.; KATSUBE, Y. Isolation of *Campylobacter jejuni* from eggs and organs in experimentally infected laying Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). **The Japanese Journal of Veterinary Science**, Tokio, v. 52, p. 671-674, 1990.

MARUYAMA, S.; MORITA, Y.; KATSUB, Y. Invasion and viability of *Campylobacter jejuni* in experimentally contaminated Japanese quails' eggs. **The Japanese Journal of Veterinary Science**, Tokio, v. 57, n.3, p.587-590, 1995.

MEAD, P. S. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Disease**, Atlanta, v. 5, p. 607-625, 1995.

MODOLO, J. R.; AUGUSTO FILHO, O. PINTO, J. P. de A. N. *Campylobacter* em carcaças resfriadas de frangos: Análise espacial do fator de risco para a saúde pública. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.135, p. 40-46, 2005.

MOORE, J. E.; CORCORAN, D.; DOOLEY, J. S. G.; FANNING, S.; LUCEY, B.; MATSUDDA, M.; MCDOWELL, D. A.; MÉGRAUD, F.; MILLAR, B. C.; O'MAHONY, R.; O'RIORDAN, L.; O'ROURKE, M.; RAO, J. R.; ROONEY, P. J.; SSAISL, A.; WHYTE, P. *Campylobacter*. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 36, p. 351-382, 2005.

MORENO, Y.; HERNÁNDEZ, M.; FÉRRUS, M. A.; ALONSO, J.L.; BOTELLA, S. Direct detection of thermotolerant *Campylobacter*s in chicken products by PCR and in situ hybridization. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 152, p. 577-582, 2001.

MORISHITA, T. Y.; LAM, K. M.; McCAPES, R. H. The microbiologic ecology of turkey poult jejunum. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 14, p. 233-240, 1992.

MORISHITA, T. Y.; AYE, P. P.; HARR, B. S.; COBB, C. CLIFFORD, J. R. Evaluation of an avian-specific probiotic to reduce the colonization and shedding of *Campylobacter jejuni* in broilers. **Avian Disease**, Minnesota, v. 14, p. 850-855, 1997.

NACHAMKIN, I. Microbiologic approaches for studying *Campylobacter* in patients with Guillain-Barré syndrome. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 176, n. 2, p. 106-114, 1997.

NACHAMKIN, I.; MISHU ALOOS, B. *Campylobacter* species and Guillain-Barre syndrome. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 11, p. 555-557, 1998.

NEILL, S.; CAMPBELL, J.; O'BRIEN, J. Egg penetration by *Campylobacter jejuni*. **Avian Disease**, Minnesota, v.14, p.313-320, 1985

NEWELL, I.; WAGENAAR, J. A.; Poultry infections and their control at the farm level. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M. J. **Campylobacter**. 2. ed. Washington, D. C: American Society for Microbiology Press, 2000. p. 121-138.

NISHIMURA, M.; NUKINA, M.; YUAN, J.M.; SHEN, B.Q.; MA, J.J.; OHTA, M.; SAIDA, T.; UCHIYAMA, T. PCR-based restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis and serotyping of *Campylobacter jejuni* isolates from diarrheic patients in China and Japan. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v.142, p.133-138, 1996.

ORCHARD, V.; BAKER, M.; MARTIN, D. The communicable disease picture in NZ today. **Health care and Informatics Review online**, v. 4, n. 5, 2000. Disponível em: <<http://hcro.enigma.co.nz/website/index.cfm?fuseaction=articledisplay&FeatureID=107>> . Acesso em: 12 abr. 2006.

OYOFO, B. A. e ROLLINS, D. M.; Efficacy of filter types for detecting *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in environmental water samples by polymerase chain reaction. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, p. 4090-4095, 1993.

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

PEARSON, A. D. GREENWOOD, M.; HEALING, T. D.; ROLLINS, T.D.; SHAHAMAT, M.; DONALDSON, J.; COLWELL, R.R.; Colonization of broiler chickens by waterborne *Campylobacter jejuni*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 59, p. 987-996, 1993.

PEARSON, A.D.; GREENWOOD, M.H.; FELTHAM, R.K.A.; HEALING, T.D.; DONALDSON, J.; JONES, D.M.; COLWELL, R.R. Microbial Ecology of *Campylobacter jejuni* in a United Kingdom Chicken Supply Chain: Intermittent Common Source, Vertical Transmission, and Amplification by Flock Propagation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 12, p. 4614-4620, 1996.

PECKHAM, M.C. Avian vibriotic hepatitis. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 2, p. 348-358, 1974.

PEI, Z.; BLAASER, M. J. PEB1, the major cell-binding factor of *Campylobacter jejuni*, is a homolog of the binding component in Gram-negative nutrient transport systems. **Journal Of Bioenergetics And Biomembranes**, New York, v. 268, p. 18717-18725, 1993.

PEI, Z.; BURUCOA, C.; GRIGNON, B.; BAQAR, Z.; HUNG, Z.; KOPECKO, C.J.; BOURGEOIS, A. L.; FAUCHERE, J.L.; BLASER, M. J. Mutation in the *peb 1A* locus of *Campylobacter jejuni* reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice. **Infection and Immunity**, Washington, v. 66, p. 938-943, 1998.

PESCI, E. C.; COTTLE, D. L.; PICKETT, C. L.; Genetic, enzymatic e pathogenic studies of the iron superoxide dismutase of *Campylobacter jejuni*. **Infection and immunity**, Washington, v. 62, n. 7, p. 287-2694, 1994.

RABIE, N. S. M. Studies on campylobacteriosis in chickens. 1992. Thesis, (Phos Doctor) Faculty of Veterinary Medical, Cairo University, 1992.

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

REIERSEN, J.; BRIEM, H.; HARDARDOTTIR, H.; GUNNARSSON, E.; GEORGSSON, F.; GUDMUNDSDOTTIR, E.; KRISTINSSON, K. G. Human Campylobacteriosis epidemic in Iceland 1998-2000 and effect of interventions aimed at poultry and humans. Marrakech: FAO/WHO Global Forum of Food Safet Regulators.2002.

ROLLINS, D. M. e COLWELL, R. R.; Viable but nonculturable satage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 52, p. 531-538, 1986.

ROSEF, O., GONDROSEN, B., KAPPERUD, G., UNDERDAL, B. Isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* an *Campylobacter coli* from domestic and wild mammals in Norway. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.46. p. 855-8 59, 1993.

ROWE, M. T.; DUNSTALL, G.; KIRK, R.; LOUGHNEY, C. F.; COOKE, J. L.; BROWN, S. R. H. Development of an image system for the stydy of viable but non-culturable forms of *Campylobacter jejuni* and its use to determine their resistance to disinfectants. **Food Microbiology**, London, v. 15, p. 491-498, 1998.

RUIZ-PALACIOS, G. M. Pathogenesis of Campylobacter infection: in vitro models. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M. J; TOMPKINS, L. S. (Ed). *Campylobacter jejuni*: Current status and Future Trends. Washington, D.C.: American Society for Microbiology 1992. p. 158-159.

SAHIN, O.; KOBALKA, P.; ZHANG, Q. Detection and survival of *Campylobacter* in chicken eggs. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.95, n.5, p.1070-1074, 2003.

SAHIN, O.; LUO, N.; HUANG, S.; ZHANG, Q. Effect of *Campylobacter*-Specific Maternal Antibodies on *Campylobacter jejuni* Colonization in Young Chickens. **Applied And Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 9, p. 5372-5379, 2003.

SAIKI, R. K.; GELFAND D. H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S. J.; HIGUCHI, R.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. Primer-Directed enzymatic amplification of DNA with a hermostable DNA polymerase. **Science**, Washington, v. 239, p. 487-891, 1988.

SALEHA, A. A.; MEAD, G. L.; IBRAHIM, A. L. *Campylobacter jejuni* in poultry production and processing in relation to public health. **Journal World Poultry Science**, Ithaca, v. 54, p. 49-58, 1998.

SARAKBI, T. *Campylobacter*: A recurrent killer of layers. **Head of Veterinary Section, Marib Poultry Company**, Sana'a Yemen Republic, 2002.

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

SCARCELLI, E.; MIYASHIRO, S.; PIATTI, R.M; CAMPOS, F.L.R.; CASTRO, A.G.M.; CARDOSO, M.V.; FRANCISCO, W.; RICHTZENHAIN, L.J.; GENOVEZ, M.E. Emprego da técnica do polimorfismo de comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP) do produto obtido pela reação da polimerase em cadeia (PCR) do gene Fla A n subtipagem de amostras de *C. jejuni* subs. J0ejuni isoladas de frangos de corte e humanos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, s. 3, 2003.

SEBALD, M.; VÉRON, M. Teneur en bases de l'AND et classification des vibriours. **Annales de l'Institut Pasteur**, Paris, v. 105, p. 897-910, 1963.

SESTI, L. A.; ITO, N. M. K. Enfermidades do Sistema Reprodutor. In: Berchieri Jr, A.; Macari, M. (eds). *Doença das Aves*, FACTA – Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, Campinas, S.P, 2000. p. 81-128.

SGARBIERI, V. C. *Proteínas em alimentos protéicos*. São Paulo: Livraria Varela. 1996.

SHANE, S. M. Contaminação por *Campylobacter* em Frangos. In: CONFERÊNCIA APINCO 2002 DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Campinas. **Anais...** Campinas, FACTA - Fundação Apinco de Ciências Avícolas, 2002. p. 253-261.

SHANKER, S.; LEE, A.; SORRELL, T. C. *Campylobacter jejuni* in broilers: the role of vertical transmission. **The Journal of hygiene**, Cambridge, v. 96, p.153-159, 1986.

SHANKER, S.; LEE, A.; SORREL, T. C. Horizontal transmission of *Campylobacter jejuni* amongst broiler chicks: experimental studies. **Epidemiology and infection**, Cambridge, v. 104, p. 101-110, 1990.

SHREEVE, J. E.; TOSZEGHY, M.; PATTISON, M.; NEWELL, D. G. Sequential spread of *Campylobacter* infection in a multipen broiler house. **Avian Disease**, Minnesota, v.44, p. 983–988, 2000.

SILBERNAGEL, K.; JECHOREK, R.; BARBOUR, W.M.; MROZINSKI, P. Evaluation of the BAX®System for detection of *Listeria monocytogenes* in foods: collaborative study. **The Journal of AOAC**, Gaithersburg, v.87, n.2, p.395-410, 2004.

SILVA Jr., E. A. Agentes de doenças transmitidas por alimentos. In: **Manual de Controle Higiênico Sanitário em alimentos**. 5. ed. São Paulo:Varela, 1995. cap. 35.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela.1997. p.125-131.

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

SMITH, T. Spirilla associated with disease of the membranes in cattle (infectious abortion). **Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 28, p. 701-721, 1918.

SOERJADI, A. S.; SNOEYENBOS, G.H.; WEINACK, O.M. Intestinal colonization and competitive exclusion of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* in young chicks. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 26, p.520-524, 1982.

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

STERN, N. J., KOTULA, A. W. Survival of *Campylobacter jejuni* inoculated into ground beef. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 44, p.1150, 1982.

STEWART, D.; GENDEL, M. Specificity of the BAX® polymerase chain reaction system for detection of the foodborne pathogen *Listeria monocytogenes*. **The Journal of AOAC**, Gaithersburg, v.81, n.4, p.817-822, 1998.

SZYMANSKI, C. M.; KING, M.; HAARDT, M.; ARMSTRONG, G. D. *Campylobacter jejuni* motility and invasion of Caco-2 cells. **Infection and Immunity**, Washington, v. 63, p. 4295-4300, 1995.

TAUXE, R.V.; PEGUES, D. A.; HARGRETT-BEAN, N. *Campylobacter* infections: the emerging national pattern. **American Journal of Public Health**, Boston, v. 47, p. 1219-1221, 1987.

THOMPSON, J. S.; HODGE, D. S.; SMITH, D. E.; YOUNG, Y. A. Use of tri-gas incubator for routine culture of *Campylobacter* species from fecal specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 28, p. 2802-2803, 1990.

TRACHOO, N.; FRANK, J. F.; STERN, N. J. Survival of *Campylobacter jejuni* biofilms isolated from chicken houses. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 65, p. 1110-1116, 2002.

TUDOR, D.C. A liver degeneration of unknown origin in chickens. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, p. 125-129, 1954.

USER'S GUIDE. **BAX®System PCR assay with automated detection for bacterial screening**. Wilmington, DE.: Du Pont Qualicon, 2000.

UYTTENDAELE, M.; DE TROY, P.; DEBEVERE, J. Incidence of Salmonella, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* e *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belchian retail market. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 62, n. 7, p. 735-740, 1999.

VANDAMME, P.; FALSEN, E.; ROSSU, R.; HOSTE, B.; SEGERS, P.; TYTGAT, R.; DE LEY, J. Revisión of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology and Evolution**, Copyright, v. 41, p. 81-103, 1991.

VANDAMME, P.; VANCANNEYT, B.; POT, B.; MELS, L.; HOSTE, B.; DEWETTINCK, D.; VLAES, L.; VAN DEN BORRE, C.; HIGGINS, R.; HOMMEZ, J. Polyphasic taxonomic study of the emended genus *Arcobacter* with *Arcobacter butzleri* comb. Nov. and *Arcobacter skirrowii* sp. Nov. an aerotolerant bacterium isolated from veterinary specimens. **International Journal of Systematic Bacteriology and Evolution**, Copyright, v. 42, p.344-356, 1992.

VAN SPREEUWEL, J. P.; DUURSMA, G. C.; MEIJER, C. J.; BAX, R.; ROSEKRANS, P. C.; LINDEMAN, J. *Campylobacter colitis*: histological immunohistochemical and ultrastructural findings. **An International journal of Gastroenterology and Hepatology**, Stanford, v. 26, p. 945-951, 1985.

YOUNG, C. R.; ZIPRIN, R. L.; HUME, M. E.; STANKER, L. H. Dose response and organ invasion of day-of-hatch leghorn chicks by different isolates of *Campylobacter jejuni*. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 43, p. 763-767, 1999.

WALLIS, M. R. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*. **British Journal Of Biomedical Science**, London, v. 51, p. 54-64, 1994.

WILLIS W. L.; MURRAY, C. *Campylobacter jejuni* seasonal recovery observations of retail, market broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 76, n. 2, p. 314-317, 1997.

WHITEHOUSE, C. A.; BALBO, P. B.; PESCI, E. C.; COTTLE, D. L.; MIRABITO, P. M.; PICKETT, C. L. *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin causes a G2-phase cell cycle block. **Infection and immunity**, Washington, v. 66, p. 1934-1990, 1998.

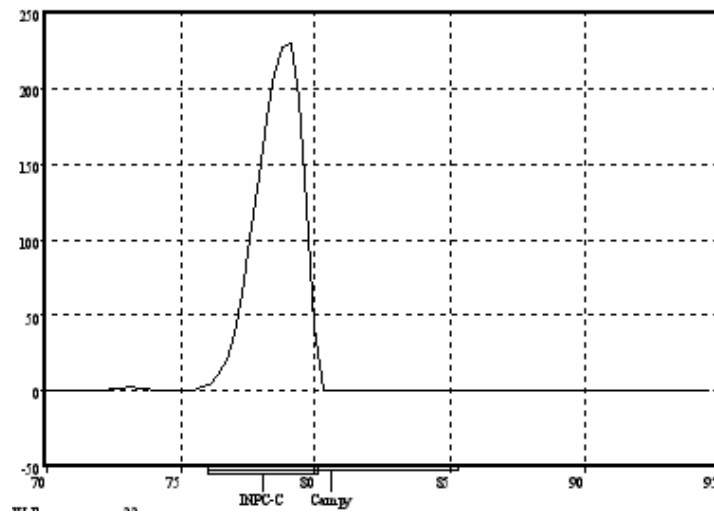
ZAKI, M. M.; REDA, W.W. *Campylobacter* in poultry. **Veterinary Medical Journal**, Giza, n. 1, v. 43, p. 71-76, 1995.

ZIMMER, M.; BARNHART, H.; IDRIS, U.; D. LEE, M. Detection of *Campylobacter jejuni* Strains in the Water Lines of a Commercial Broiler House and Their relationship to the Strains That Colonized the Chickens. **Avian Diseases**, Minnesota, v. 47, p. 101-107, 2003.

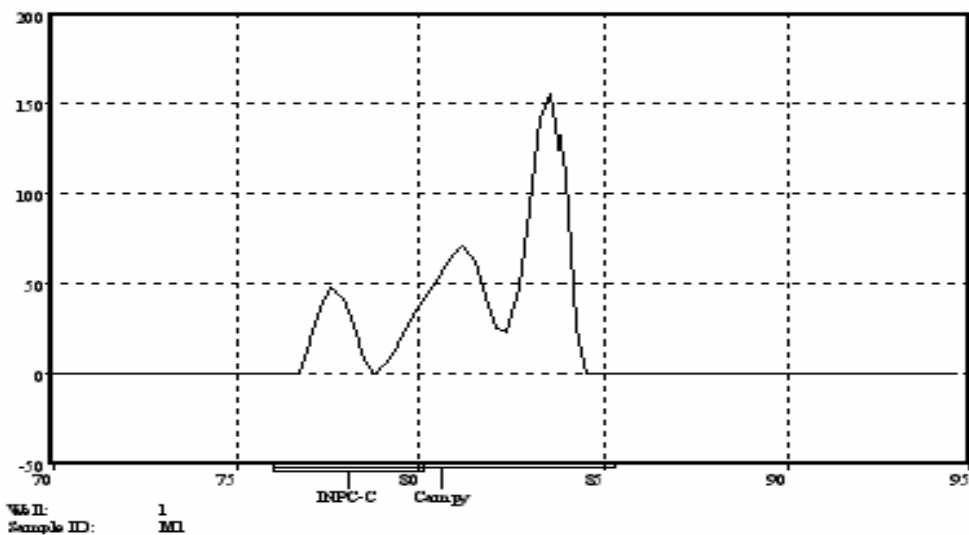
ZOONOSES Report, UK 2000, Department of Environmental. **Food and Rural Affairs**, Toronto, p. 7-9, 2002.

VIII) ANEXOS

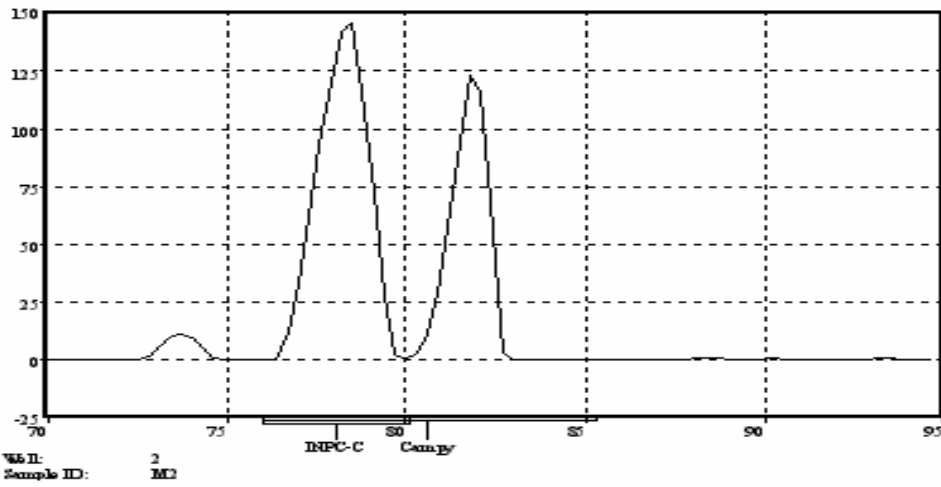
Anexo 1 - Perfil da curva de fusão do controle interno para *C. Jejuni* e *C. coli*.



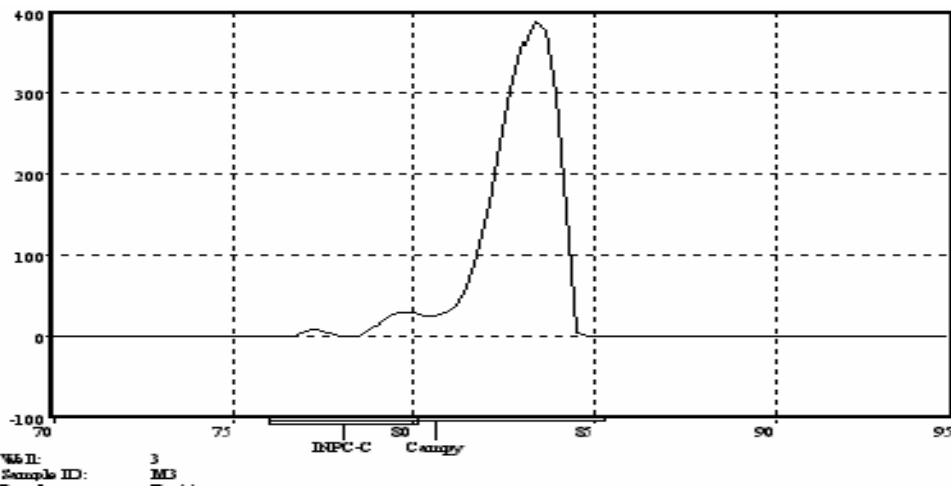
Anexo 2 - Perfil da curva de fusão das positivities encontradas para *C. jejuni* e *C. coli* nas amostras de mecônio e swab cloacal de galinhas



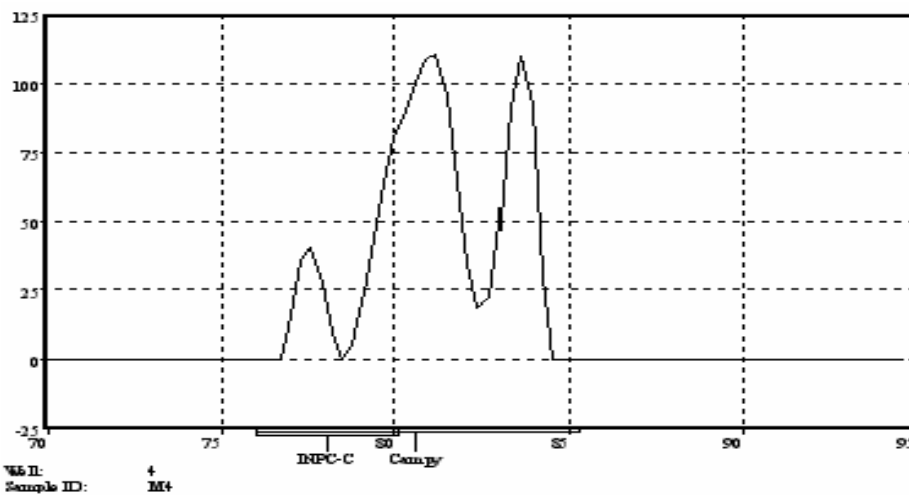
Mecônio 1 - Positivo



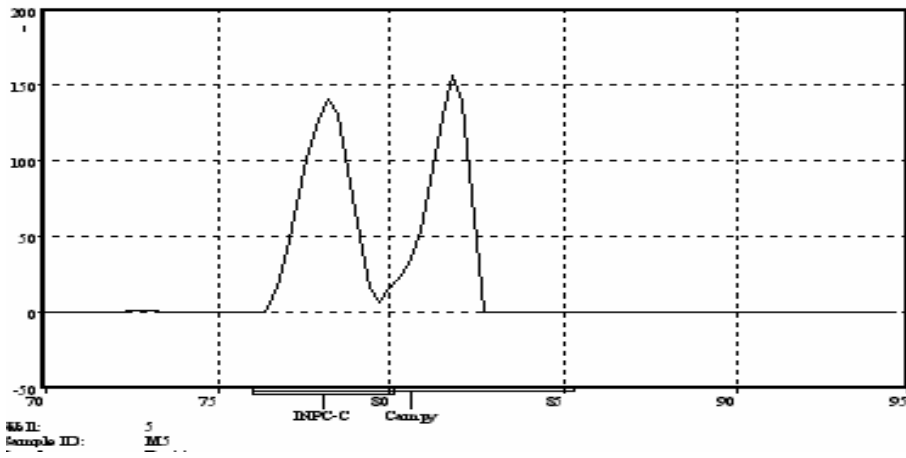
Mecônio 2 - Positivo



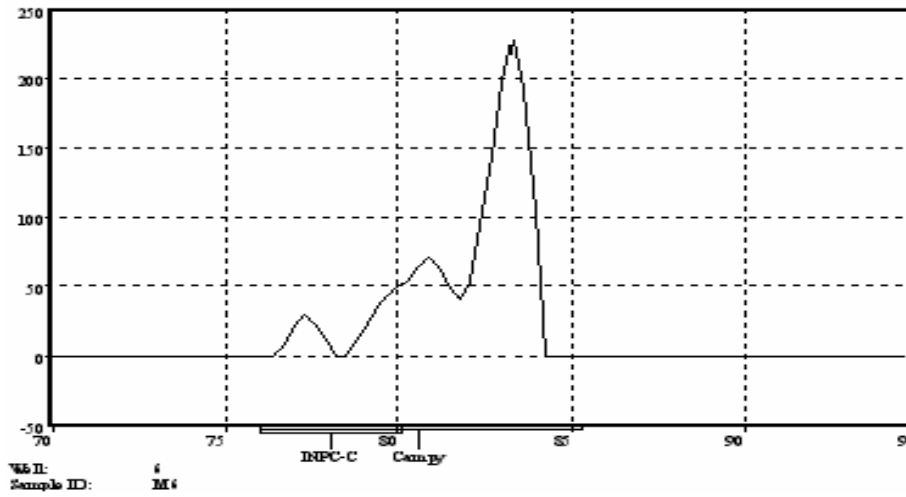
Mecônio 3 - Positivo



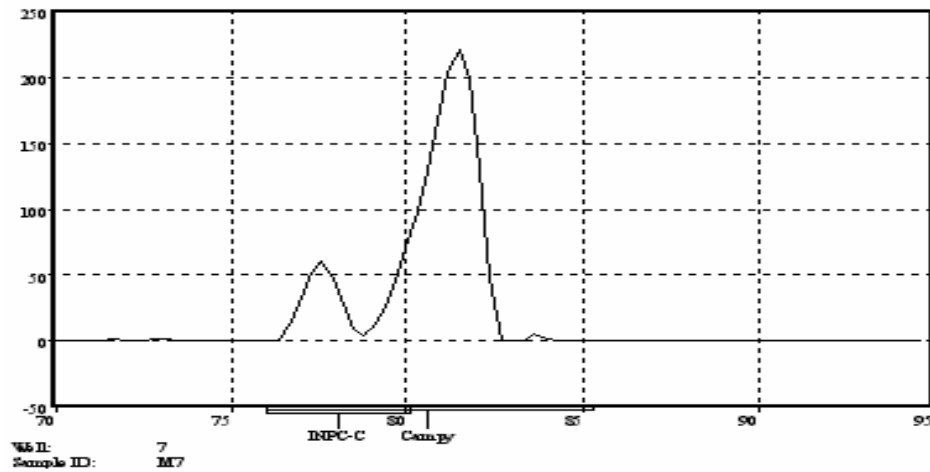
Mecônio 4 - Positivo



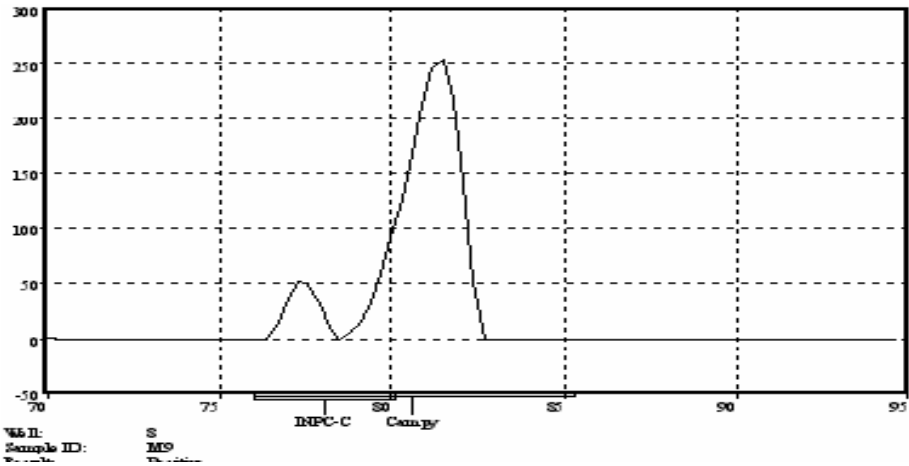
Mecônio 5 –Positivo



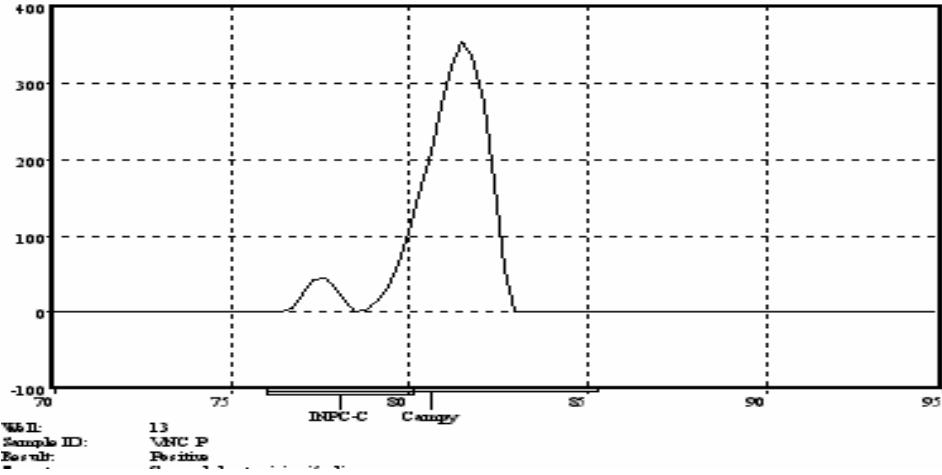
Mecônio 6 – Positivo



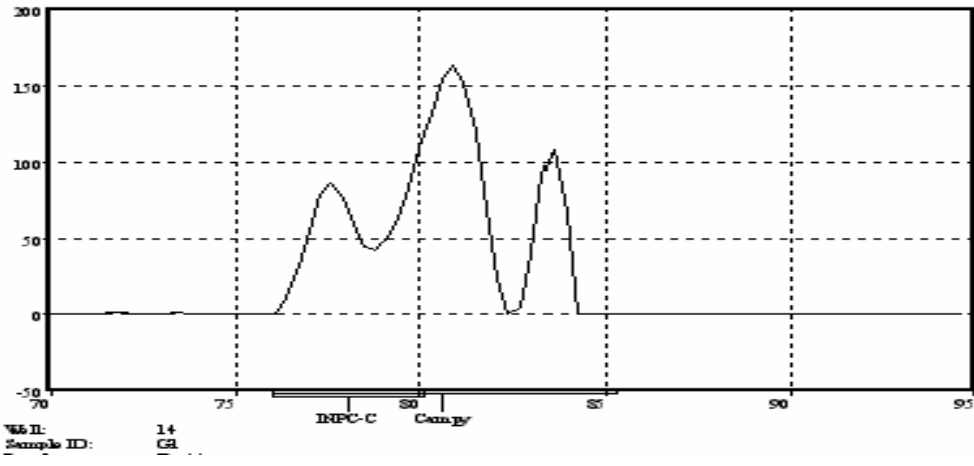
Mecônio 7 - Positivo



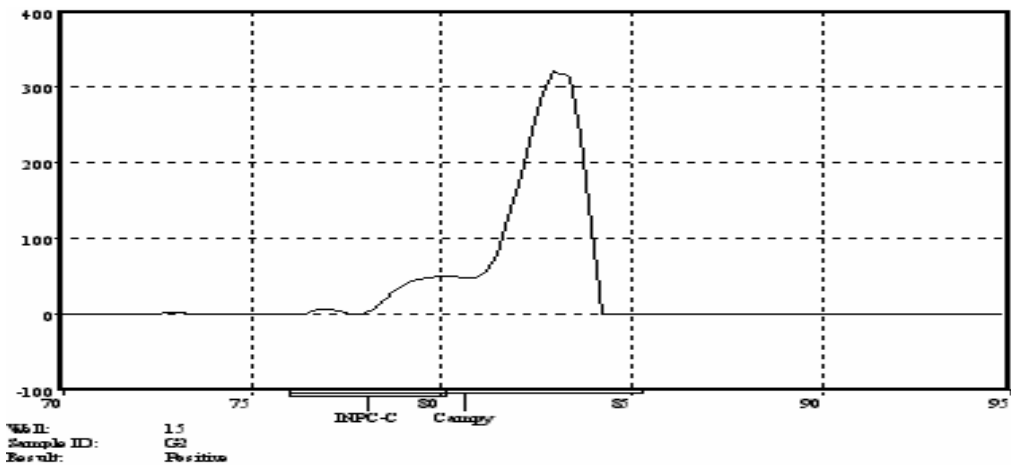
Mecônio 9 – Positivo



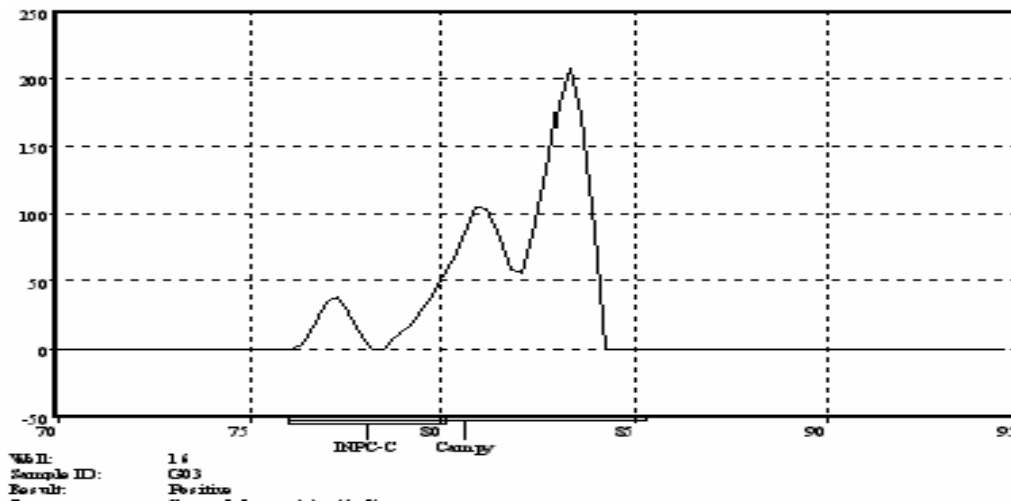
Mecônio VNC –



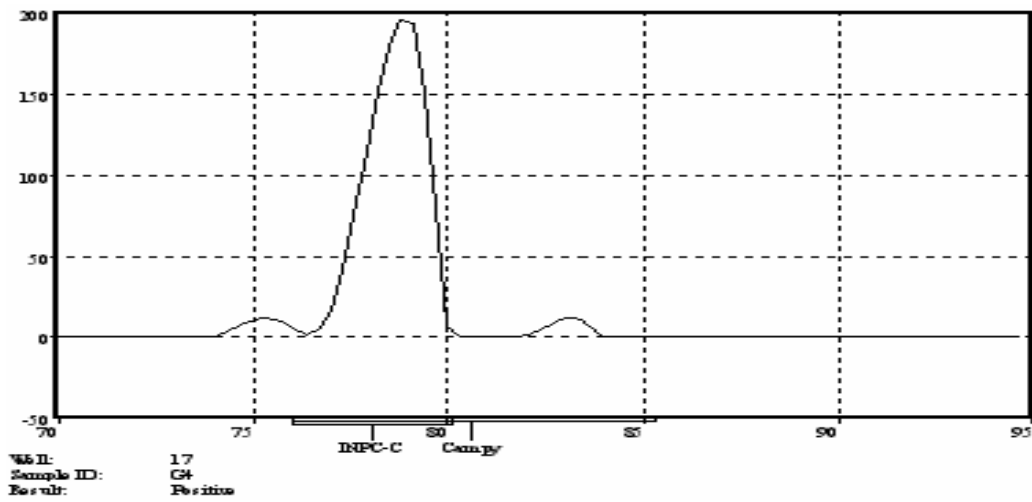
Galinha 1 - Positivo



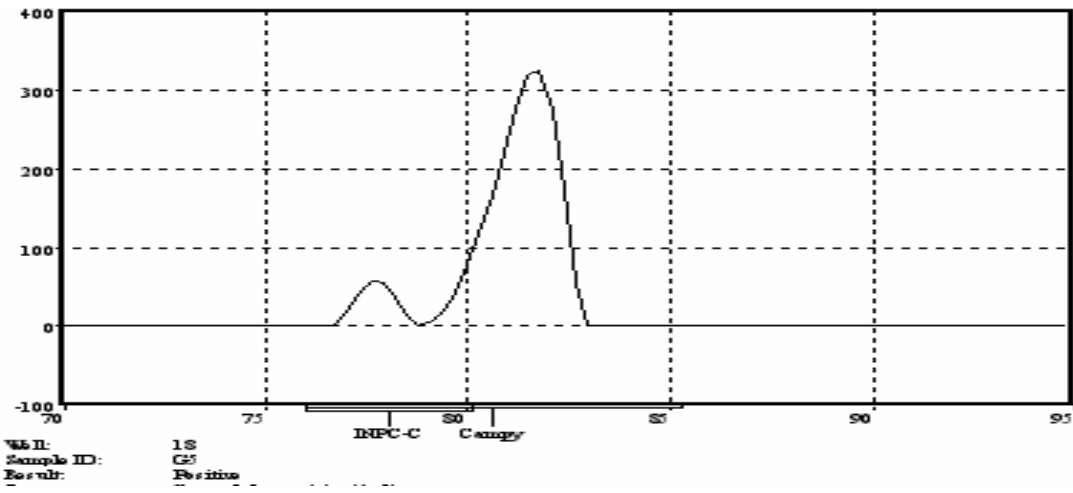
Galinha 2 - Positivo



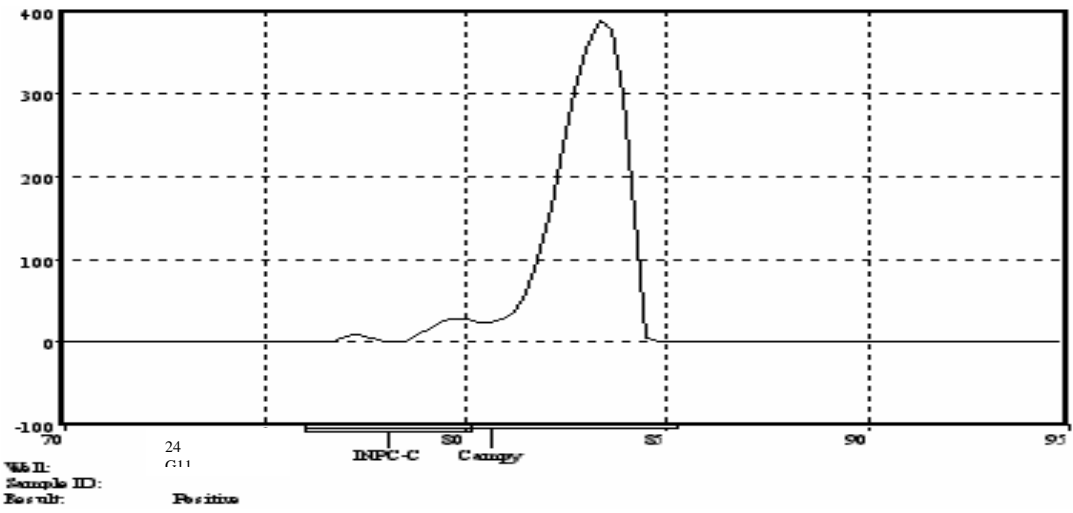
Galinha 3 - Positivo



Galinha 4 - Positivo

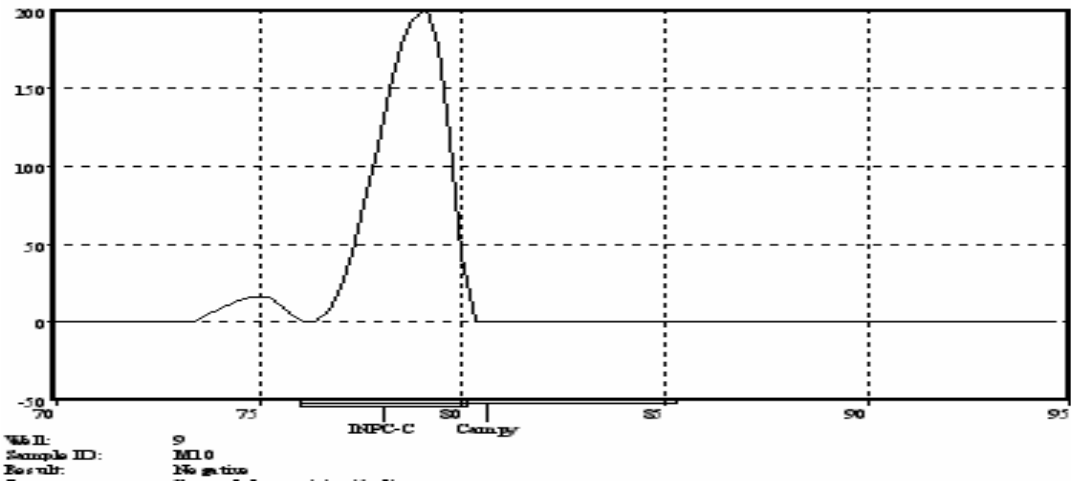


Galinha 5 – Positivo

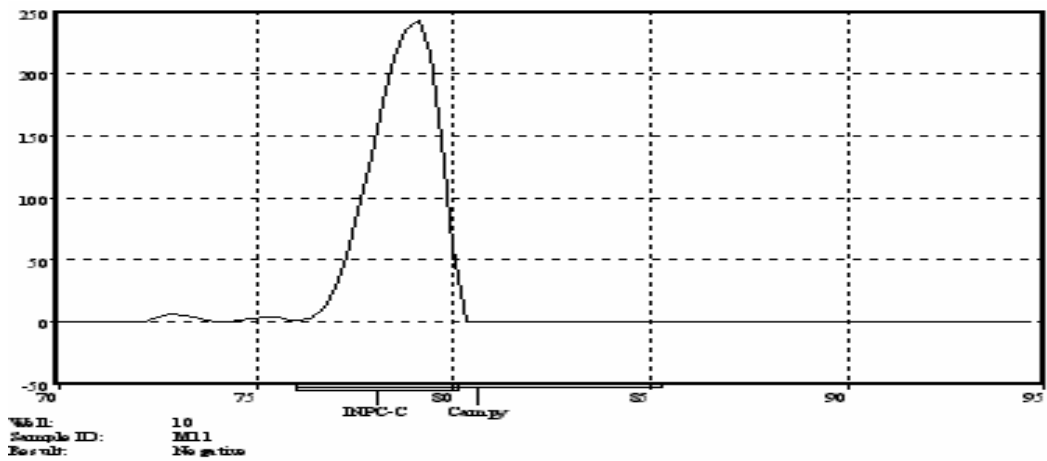


Galinha 11 - Positivo

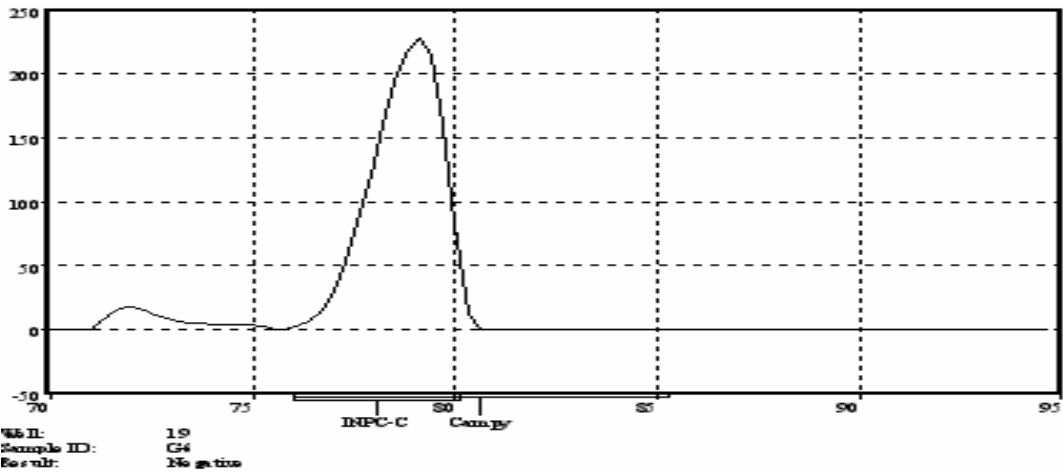
Anexo 3 - Perfil da curva de fusão das negatividades encontradas para *C. jejuni* e *C. coli* nas amostras de mecônio e swab cloacal de galinhas



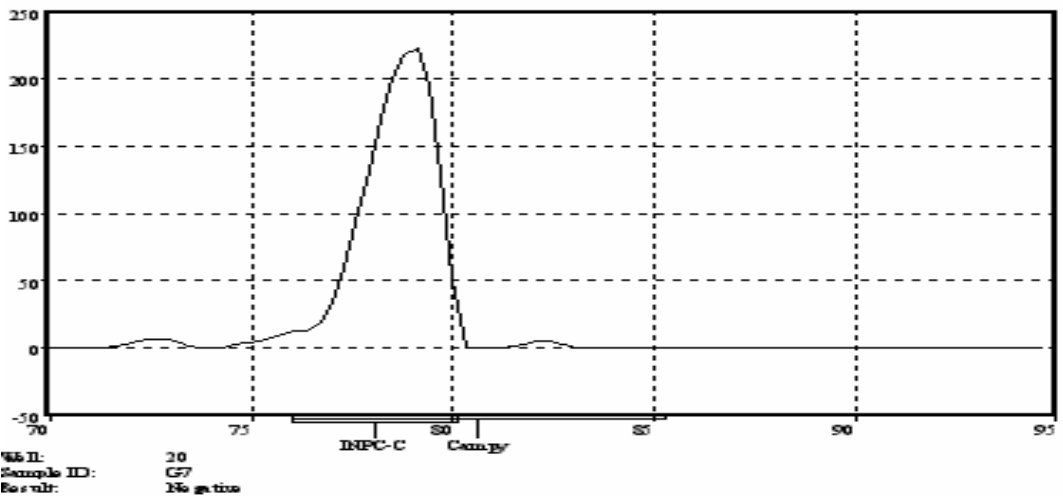
Mecônio 10 - Negativo



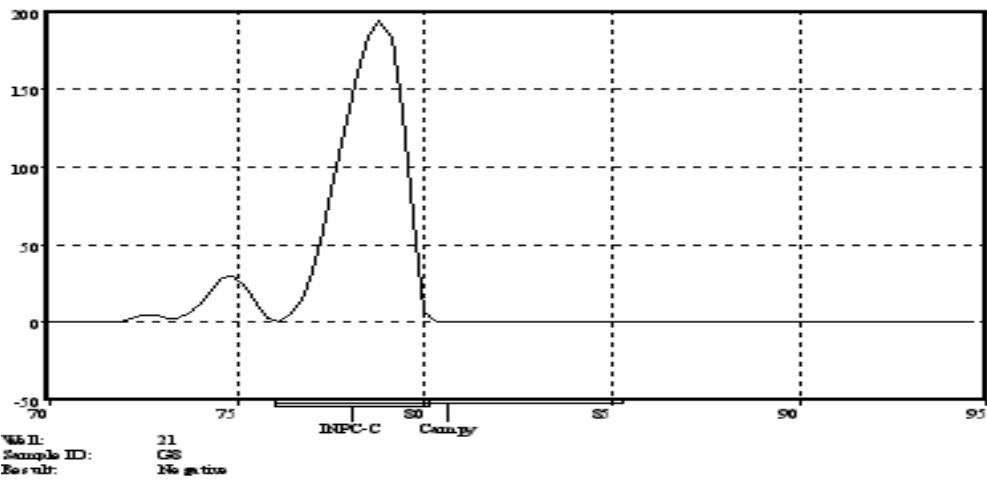
Mecônio 11 - Negativo



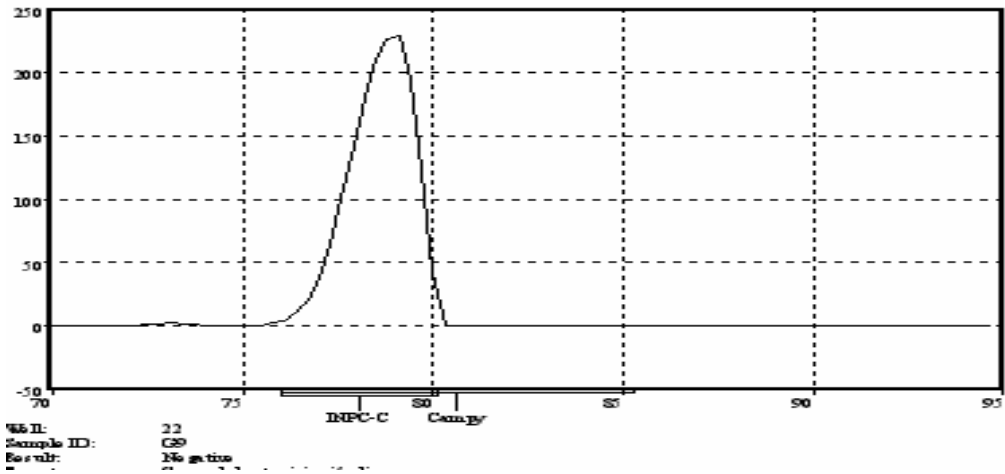
Galinha 6 – Negativo



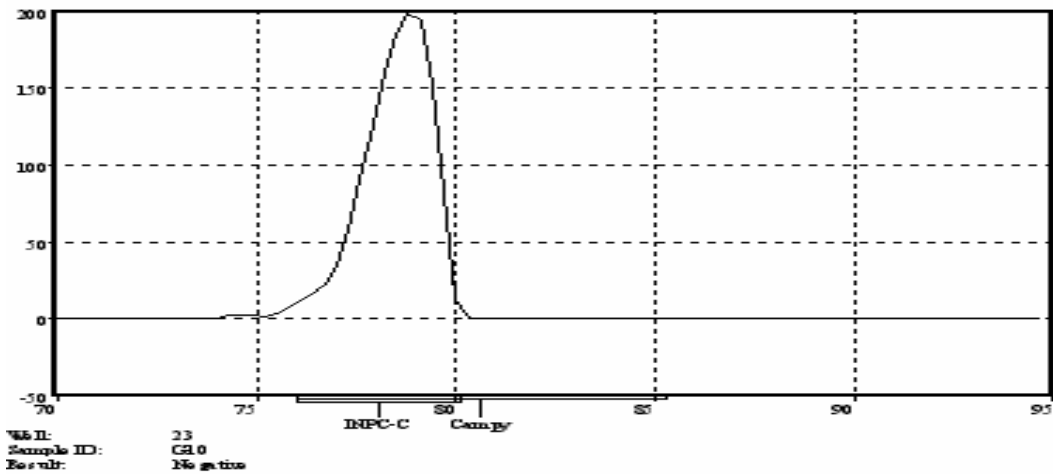
Galinha 7 – Negativo



Galinha 8 – Negativo



Galinha 9 – Negativo



Galinha 10 - Negativo