

**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

JOCASTA RODRIGUES IASBECK

**PREVALÊNCIA E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE
Campylobacter ISOLADAS DE CARCAÇAS DE FRANGOS
COMERCIALIZADAS NO BRASIL**

UBERLÂNDIA

2016

JOCASTA RODRIGUES IASBECK

**PREVALÊNCIA E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE
Campylobacter ISOLADAS DE CARCAÇAS DE FRANGOS
COMERCIALIZADAS NO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de Concentração: Saúde Animal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daise Aparecida Rossi

UBERLÂNDIA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

111p
2016

Iasbeck, Jocasta Rodrigues, 1988
Prevalência e resistência aos antimicrobianos de *Campylobacter* isoladas de
carcaças de frangos comercializadas no Brasil / Jocasta Rodrigues Iasbeck. -
2016.
51 f. : il.

Orientadora: Daise Aparecida Rossi.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. *Campylobacter* - Teses. 3. Saúde pública -
Teses. 4. Epidemiologia - Teses. I. Rossi, Daise Aparecida. II.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

**PREVALÊNCIA E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE
Campylobacter ISOLADAS DE CARCAÇAS DE FRANGOS
COMERCIALIZADAS NO BRASIL**

Dissertação aprovada para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, da Universidade Federal de Uberlândia, pela banca examinadora formada por:

Uberlândia, 29 de Agosto de 2016.

Prof^a. Dr^a. Daise Aparecida Rossi (Orientadora) – FAMEV/UFU

Prof. Dr. Marcus Vinícius Cossi – FAMEV/UFU

Profa. Dra. Aline Teodoro de Paula – UNITRI

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

JOCASTA RODRIGUES IASBECK, nascida em 13/09/1988, natural de Uberlândia-MG. Filha de Eduardo de Assis Iasbeck e Sônia Rodrigues Iasbeck. Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Uberlândia (2013). Estagiária no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada (LABIO) durante o mestrado. Atualmente reside em Brasília - DF onde atua como veterinária dando assistência técnica em granjas de frango de corte na empresa JBS Foods.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu amado e inesquecível tio Marco Aurélio lasbeck, que nos deixou há alguns dias, mas sei que onde estiver está orgulhoso assistindo este momento, pois era um tio amoroso, professor dedicado e apaixonado pela ciência.

AGRADECIMENTOS

Mais uma fase chegou ao fim, o mestrado. Que não é fácil todo mundo já sabe, mas eu não imaginava que seria tão produtivo como foi. Não só na parte científica e profissional, mas também na parte pessoal. Foram dois anos e meio de crescimento, aprendizado e amadurecimento em todos os aspectos. Isso envolve muitas pessoas que devem ser lembradas aqui.

Agradeço imensamente ao LABIO, em especial à professora Daise que me aceitou e acolheu desde o primeiro momento com toda sua paciência e carinho comigo e dedicação com a pesquisa. Aos colegas do LABIO: Guilherme, Eliane e Roberta, muito obrigada por toda a ajuda desde o primeiro dia até nos momentos finais. Aos colegas de projeto: Marcela, Edson, Phelipe e Luiza, com vocês eu vivenciei o verdadeiro significado de trabalho em equipe e juntos colhemos bons resultados. A toda equipe do LABIO em geral eu agradeço pela ajuda no cotidiano de laboratório e pelo companheirismo, vocês alegraram meus dias durante o mestrado.

Agradeço a Bia que me ajuda e acompanha desde a graduação, pelo exemplo de pessoa e profissional, pelos conselhos (sempre diretos), pela amizade, paciência, disposição, por me ajudar a crescer e enxergar mais longe. À Patrícia, minha ex-colega de mestrado que hoje se tornou amiga, obrigada pelas boas risadas, foi bom dividir essa fase com você.

Aos amigos, que sempre me socorreram mesmo que apenas com palavras nos momentos de desespero que sempre surgiam. À Bruna Ferreira, sempre disposta a ajudar em qualquer hora do dia! Ao Cláudio e Sheyla que surgiram no final mas presenciaram toda a angústia vivida nestes últimos três meses, foram muito companheiros, me deram força e tranquilidade.

Agradeço também às faxineiras do bloco 2D pela limpeza no laboratório, a sujeira não era pouca e sem elas seria impossível o projeto ter andamento.

Aos meus tios Luiz Carlos e Neide por terem me acolhido como filha na casa deles nesses últimos meses e me dado todo apoio necessário após a mudança de cidade, assim pude finalizar a redação da dissertação em um ambiente tranquilo.

Por fim, agradeço à minha mãe Sônia pelo apoio em todos os momentos da minha vida, por me mostrar que o mundo é muito maior do que imaginamos e pelo amor incondicional. Ao meu pai Eduardo pelo grande exemplo e incentivo. Ao meu irmão Yuri, por simplesmente existir. Amo vocês!

RESUMO

Campylobacter é o agente zoonótico mais envolvido na gastroenterite humana de causa bacteriana nos países desenvolvidos. Além do quadro diarreico, consequente da infecção por esse micro-organismo, algumas complicações graves podem acometer indivíduos infectados como sepse, aborto, meningite, abscessos e a Síndrome de Guillain-Barré (SGB). Esse dado é de importância significativa na saúde pública, sendo este micro-organismo reconhecido como patógeno emergente, amplamente distribuído pela carne de aves. A alta incidência de enfermidades relacionadas a este micro-organismo em humanos na Europa e nos Estados Unidos da América remete à necessidade de conhecimento mais amplo referente à importância desse agente como patógeno alimentar no Brasil. O primeiro capítulo apresenta considerações gerais e suporte teórico para o melhor entendimento do segundo capítulo. O segundo capítulo objetivou determinar a prevalência de *Campylobacter* em carcaças de frango comercializadas no Brasil. Foram analisadas 246 carcaças de frango, congeladas e resfriadas, representativas das marcas comercializadas no país, sob diferentes tipos de inspeção sanitária, habilitadas para o comércio interno e/ou exportação. Os isolados do gênero foram identificados como *C. jejuni*, *C. coli* ou *Campylobacter* spp., e após, verificada a suscetibilidade aos antimicrobianos e discutido o perigo potencial que representam à saúde pública. Os resultados obtidos foram utilizados para criação de perfis de resistência e para estabelecer determinantes para a alta positividade de *Campylobacter* nas carcaças de frango analisadas.

Palavras chave: campilobacteriose, *C. jejuni*, saúde pública, epidemiologia.

ABSTRACT

Campylobacter is the most involved zoonotic agent in human bacterial gastroenteritis in developed countries. Besides diarrheal framework, resulting from infection by this microorganism, some serious complications can affect population as sepsis, abortion, meningitis, abscesses and Guillain-Barré syndrome (GBS). This information is significant in public health, and this micro-organism is recognized as an emerging pathogen, widely distributed by poultry. The high incidence of diseases related to this micro-organism in humans in Europe and at United States refers to the broader need for knowledge concerning the importance of this agent as a foodborne pathogen in Brazil. The first chapter presents general considerations and theoretical support for understanding the second chapter. The second chapter aimed to determine the prevalence of *Campylobacter* in poultry carcasses commercialized in Brazil. We analyzed 246 carcasses, frozen and chilled, representative of brands made in the country by different types of sanitary inspection, qualified to internal trade or export. Isolates of gender were identified as *C. jejuni*, *C. coli* or *Campylobacter* spp. The antimicrobial susceptibility was checked and discussed the potential they represent to public health. The results were used to create profiles and resistance determinants to establish a higher positivity of *Campylobacter* in analyzed poultry carcasses.

Keywords: campylobacteriosis, *C. jejuni*, public health, epidemiology.

LISTA DE TABELAS E QUADROS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1.** Isolamento de *Campylobacter* em 246 carcaças de frango congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016). 39
- Tabela 2.** Resistência aos antimicrobianos de *Campylobacter* isolados de carcaças de frangos congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016). 43

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Isolamento de *C. jejuni*, *C. coli* e *Campylobacter* spp. em carcaças de frangos de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016). As barras significam diferença estatística. 38
- Figura 2.** Positividade de *Campylobacter* em carcaças de frango congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016) produzidas sob diferentes tipos de inspeção sanitária. 41
- Figura 3.** Positividade de *Campylobacter* em carcaças de frango congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016), produzidas por empresas exportadoras e aquelas que comercializam seus produtos apenas dentro do país. 41
- Figura 4.** Multiresistência aos antimicrobianos de *Campylobacter* isolados de carcaças de frango congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016). 42

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	13
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 <i>Campylobacter</i> e campilobacteriose	16
3.2 Epidemiologia	17
3.3. Reservatórios e fontes de infecção: A importância das aves	18
3.4 Histórico e Taxonomia: Sobrevivência a temperaturas	20
3.5 Resistência aos principais antimicrobianos utilizados na avicultura	21
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO 2 – Prevalência e susceptibilidade aos antimicrobianos de <i>Campylobacter</i> spp. isolados de carcaças de frango brasileiros	31
ANEXOS	
Normas do periódico Brazilian Journal of Microbiology	

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES GERAIS

1- INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira está em constante ascensão desde as últimas três décadas. Segundo dados do relatório de 2016 da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), o país se destaca como o maior exportador e segundo maior produtor mundial de carne de frango. Em 2015 o país produziu 17.966 milhões de toneladas de carne de frango, sendo 67,3% desse valor destinado ao consumo interno e 32,7% destinado à exportação. Os estados que se destacam pela produção de frango no Brasil são: Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais e Goiás, respectivamente. Em relação ao consumo de frango no Brasil, estima-se em 43,25 kg de consumo per capita no país.

Dentre os principais patógenos para humanos associados ao consumo de carne de frango, destacam-se os pertencentes ao gênero *Campylobacter*, e apesar do elevado consumo e da produção em constante ascensão deste alimento, o Brasil não possui legislação específica para detecção e controle desse micro-organismo.

Os micro-organismos do gênero *Campylobacter* spp. são hospedeiros naturais do intestino de grande variedade de animais, principalmente aves, sendo frequentemente apontados como patógenos para humanos. A incidência e prevalência da campilobacteriose têm aumentado nos últimos 10 anos, tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento (KAKOUSH et al. 2015).

A carne de frango é considerada um importante veículo para infecção humana, sendo que o manejo, o preparo e o consumo deste alimento são responsáveis por 20 a 30% dos casos de campilobacteriose (EFSA, 2010).

Frequentemente são documentados elevados gastos por órgãos internacionais de saúde com pessoas infectadas com esse agente, tais dados inferem na necessidade de concentrar esforços para intensificar intervenções políticas de monitoramento de *Campylobacter* no país.

O conhecimento da prevalência do agente, sua relação com os alimentos historicamente envolvidos na sua transmissão e resistência aos antimicrobianos permitirão ações para garantir a segurança alimentar e/ou verificar a necessidade de instauração de uma legislação específica para controle deste agente, que pode inclusive, transformar-se em uma barreira sanitária à exportação.

2- OBJETIVO GERAL

Determinar a prevalência das espécies de *Campylobacter* veiculada pela carne de frango produzida no Brasil e disponível no comércio, estabelecendo perfil de resistência aos antibióticos e sua relevância para a saúde pública.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar em carcaças de frango produzidas pelos principais matadouros-frigoríficos brasileiros, disponíveis para a comercialização em açougues e supermercados:

- a prevalência de *Campylobacter* spp.;
- as espécies circulantes;
- a influencia na positividade entre empresas que produzem somente para o mercado interno e as exportadoras;
- se a comercialização na forma congelada ou resfriada influencia na positividade;
- a influência do congelamento caseiro na positividade;
- o perfil de resistência aos antimicrobianos.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. *Campylobacter* spp. e campilobacteriose

O gênero *Campylobacter* pertence à família Campylobacteriaceae, sendo considerado um comensal de animais domésticos (VANDAMME, 2000). Os representantes deste gênero possuem estrutura delgada, com cerca de 0,2-0,8µm de largura e 0,5-5,0µm de espessura. São bacilos gram-negativos, não esporulados e quando agrupados podem formar um “S” ou “V”, semelhante ao formato de uma asa de gaivota (DEBRUYNE et al., 2005). Geralmente possuem um único flagelo polar ou um flagelo em cada extremidade (GOODWIN, 1985).

Dentre os representantes do gênero, as espécies termotolerantes são capazes de infectar o homem causando gastroenterite, principalmente via consumo de alimentos contaminados. As espécies mais envolvidas na doença humana são *C. jejuni* e *C. coli* (MOORE et al, 2005).

As doenças transmitidas por alimentos são um importante problema de saúde pública e constituem um fardo significativo na sociedade, afetando a qualidade de vida e gerando elevados custos na área da saúde (WHYTE et al., 2004). A campilobacteriose é uma das principais doenças bacterianas transmitidas por alimentos que atinge os humanos e causa gastroenterite em todo o mundo, tanto nos países em desenvolvimento quanto nos desenvolvidos causando mais diarreias do que a salmonelose (WHO, 2011).

O elevado número de casos de campilobacteriose são frequentemente associados com altos custos tanto para a saúde pública quanto para as indústrias, sendo eles: despesas médicas, *recalls* de produtos, custos legais e outras despesas indiretas (CAST, 1994).

A baixa dose infectante de *Campylobacter*, cerca de 400 a 500 células, pode contribuir como uma das causas determinantes da alta prevalência da infecção (AMRI et al., 2007; IVANOVIC, 2012).

As infecções por *Campylobacter* em humanos geralmente se desenvolvem a partir de um a cinco dias após o contato com o agente, sendo caracterizada por diarreias que às vezes podem ser sanguinolentas, com dores abdominais, febre e vômitos, com duração entre cinco a sete dias (ESCALLAN, 2015), ocorrendo principalmente em crianças, idosos e imunodeprimidos (STRACHAN et al, 2013).

Além dos casos clínicos clássicos de gastroenterite, a campilobacteriose pode apresentar complicações graves, como a evolução para a Síndrome de Guillain Barré (SGB). A campilobacteriose prévia é responsável por 32% dos casos dessa síndrome, que é a maior causa de paralisia flácida generalizada no mundo, com incidência anual de um a quatro acometidos por 100.000 habitantes, e pico entre 20 e 40 anos de idade (VUCIC, et al 2009).

A SGB trata-se de uma doença de caráter autoimune que acomete primordialmente a mielina da porção proximal dos nervos periféricos de forma aguda/subaguda. Aproximadamente 60% a 70% dos pacientes com SGB apresentam alguma doença aguda precedente, sendo a infecção por *Campylobacter jejuni* a mais frequente (BRASIL, 2009). Essa síndrome ocorre em cerca de 20% dos casos de campilobacteriose e as taxas de letalidade variam entre 3 e 10% nos países desenvolvidos (WHO, 2013).

3.2 Epidemiologia

Campylobacter é o patógeno bacteriano gastrointestinal que mais acomete humanos desde 2005 na União Europeia, onde estima-se que existem cerca de 9 milhões de casos de campilobacteriose humana por ano e uma média de 2,4 bilhões de euros sejam gastos com tratamentos. É considerada a doença transmitida por alimentos que mais causa prejuízos na Europa e Oceania (MANGEN et al, 2015).

Nos Estados Unidos, *Campylobacter* também é a principal causadora de diarreias, sendo que a maioria dos casos ocorre isoladamente em surtos esporádicos e a maioria não é reconhecida oficialmente. Segundo a FoodNet, cerca de 14 casos são diagnosticados por ano para cada 100.000 pessoas, sendo que muitos outros não são diagnosticados e declarados. É estimado cerca de 1,3 milhões de pessoas infectadas e 76 mortes anualmente (CDC, 2014).

Dados a respeito de campilobacteriose em outras regiões fora da Europa e América do Norte são escassos e demonstram a baixa taxa de detecção de casos em amostras humanas (SKARP et al. 2016).

A campilobacteriose é uma das doenças infecciosas mais comuns do século passado. A incidência e prevalência aumentaram tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento ao longo dos últimos 10 anos. O aumento dramático na América do Norte, Europa e Austrália é alarmante e dados de partes da

África, Ásia e Oriente Médio indicam que campilobacteriose é endêmica nessas áreas, especialmente em crianças (KAAKOUSH et al, 2015)

A ausência de programas nacionais de vigilância que verifiquem a incidência da campilobacteriose no Brasil tornam os dados muito escassos (LOPES, 2009). As pesquisas relacionadas às infecções por *Campylobacter* sp. ainda são poucas e não há dados estatísticos definidos. Porém, alguns estudos vêm demonstrando a prevalência da *C. jejuni* e *C. coli* em alimentos no país (GONÇALVES et al., 2012; MELO et al., 2013).

3.3 Reservatórios e fontes de infecção: A importância das aves

Dentre os alimentos envolvidos na transmissão de *Campylobacter* para humanos, a carne de frango e seus derivados são considerados os principais veículos (EFSA, 2014). Devido à elevada incidência de deste micro-organismo nas aves, estes têm merecido atenção especial nas pesquisas.

Campylobacter está presente no intestino de diversas espécies animais tanto domésticos como selvagens, sendo que as aves são os principais reservatórios (LIN, 2009), que abrigam estes micro-organismos, geralmente sem o desenvolvimento de sinais clínicos (HORROCKS et al., 2009).

A temperatura corporal dos frangos é de aproximadamente 40°C, que é considerada ideal para o crescimento de *Campylobacter*. O número de células necessário para infecção destes hospedeiros é baixa, sendo necessária uma dose estimada de aproximadamente 500 células para uma probabilidade de 50% de infecção (LINE et al., 2008).

Populações de *Campylobacter* spp. podem aumentar rapidamente no intestino das aves colonizadas, e, portanto as fezes destes animais contém um grande número deste micro-organismo. O material fecal contaminado pode ser fonte de inóculo de alto nível para outras aves. Um estudo da transmissão de *Campylobacter* em granjas de frangos comerciais estimou que um lote colonizado de 20.000 aves teria um aumento de prevalência de 95% entre quatro a sete dias após a contaminação da primeira ave (VAN GERWE et al, 2009).

A produção de aves engloba frangos, perus, patos e galinhas poedeiras, sendo que os frangos (*Gallus gallus*) são as espécies predominantes entre as carnes de aves comercializadas, representando de 70 a 80% destas. A produção global de carne de

aves aumentou de 58,5 milhões de toneladas em 2000 para 95,5 milhões de toneladas em 2014 de acordo com o Poultry site. É esperado que em 2023 atinja cerca de 130,7 milhões de toneladas e se torne o maior setor de produção de carnes no mundo (OECD, 2015).

Embora todas as espécies de aves comerciais possam estar ligadas a casos de campilobacteriose, o risco de o frango ser o causador é maior, devido às grandes quantidades consumidas (HUMPHREY et al., 2007).

A carne de frango é rica em aminoácidos essenciais, juntamente com vitaminas e minerais e contém mais proteína quando comparada a mesma quantidade de carne de outros animais, além de preços mais baixos que os de carne de vaca ou de porco. Além disso, os derivados de frango são consumidos amplamente devido ao seu baixo preço, sabor especial, e curto período de tempo necessário para a preparação.

O consumo de frango e seus subprodutos, no entanto, tem sido implicado nos últimos anos em um grande número de focos de campilobacteriose aguda para humanos no mundo todo, tanto em países industrializados e em desenvolvimento, e especialmente em crianças, idosos e imunodeprimidos (TAUXE, 1997; SKIRROW, 1998; e ATABAY CORRY, 2001).

A maioria dos casos estão associados com a manipulação de carne de aves crua, ingestão de carne de aves crua ou malcozida ou contaminação cruzada de matérias-primas (NADEAU et al., 2002).

O trato intestinal do frango, especialmente o ceco e o cólon, pode abrigar um grande número de *Campylobacter* spp.; durante o processamento, o trato intestinal pode extravasar por rompimento e o conteúdo pode ser transferido para a pele da carcaça, contaminando-a (BERRANG et al., 2001).

A atividade de água (a_w) de carne de frango é de cerca de 0,98-0,99. O pH do músculo do peito de frango é 5,7 a 5,9 e a do músculo da perna é 6,4 a 6,7, portanto, tanto o músculo quanto a pele de aves são excelentes substratos com condições favoráveis para o crescimento de uma vasta variedade de micro-organismos (ICMSF, 1986).

O controle de *Campylobacter* em frangos de corte é um processo multifatorial que envolve todas as etapas da cadeia, incluindo a produção primária (HERMANS et al, 2012). As orientações do *Codex Alimentarius* para o controle de *Campylobacter* e *Salmonella* em carne de frango recomenda que a lavagem da galinha crua na cozinha deve ser realizada de modo a minimizar a possibilidade de contaminação de outros

alimentos e as superfícies que entram em contato com alimentos e outros seres humanos (CODEX, 2011).

3.4 Histórico e Taxonomia: Sobrevivência a temperaturas

O gênero *Campylobacter* pertence ao filo das Proteobacterias que consiste em mais de 200 gêneros e representa o maior e mais diversificado grupo de organismos Gram negativos (GUPTA, 2000). Estes grupos contem espécies como *C.jejuni*, *C.coli* e *C.lari* que crescem preferencialmente entre 37 e 42°C, mas que não se proliferam abaixo de 30°C (PENNER, 1988).

Estudo na Nova Zelândia sobre o impacto do congelamento relacionado com a sobrevivência de *Campylobacter* têm demonstrado que este tratamento diminui as concentrações de *Campylobacter* em carcaças de frango sob um conjunto de circunstâncias (MCINTYRE, 2009). Estas constatações sugerem que quanto maior o período de armazenamento, resfriamento e congelamento, melhor será a redução deste micro-organismo. Dessa forma, acredita-se que a população de *Campylobacter*, assim como de outros patógenos alimentares sofrem drásticas flutuações relacionadas a temperatura durante seu ciclo de vida devido à intensa manipulação que os alimentos passam durante o processo de produção do campo até a mesa do consumidor.

O resfriamento e congelamento induz as células bacterianas ao estresse devido à desidratação intracelular. É comprovado que parte dos danos causados pelo resfriamento resultam da liberação de radicais superóxido. Diante disso, a expressão de proteínas SOD (superóxido desmutase), presentes em situações de estresse, auxilia na sobrevivência de *Campylobacter* sob essas condições (STEAD; PARK, 2000). O aumento na expressão de SOD está relacionado à proteção de componentes celulares, incluindo várias enzimas citoplasmáticas, DNA e os fatores de membrana (STINTZI; WHITWORTH, 2003).

A tolerância a baixas temperaturas em espécies de *Campylobacter* é cepa-dependente. Além disso, a manutenção desses micro-organismos sob essas condições extremas favorece a formação de células viáveis não cultiváveis (VNC) que reduzem o processo de transcrição de características de virulência (MOURA, 2013). Porém, o retorno ao estado cultivável pode ser reestabelecido através da passagem por um hospedeiro (SAMPERS et al., 2009).

3.5 - Resistência aos principais antimicrobianos utilizados na avicultura

As mudanças na alimentação animal nas últimas décadas demonstram a eficácia da utilização de antibióticos para fins não terapêuticos, porém esta associação em larga escala resultou em resistência aos mesmos. Apesar de evidências relacionadas aos perigos causados pelo seu uso indevido, os antibióticos continuam sendo utilizados rotineiramente na criação animal como promotores de crescimento, aumento da eficácia alimentar e prevenção de doenças (HOLLIS, AHMED, 2013).

Quando os antimicrobianos são utilizados para fins subterapêuticos podem aumentar a eficácia alimentar e promover o crescimento animal por meio de alterações na microbiota intestinal dos animais, suprimindo bactérias comensais prejudiciais na absorção, e assim, garantir uma absorção mais eficaz e efetiva, gerando melhor retorno em relação ao ganho de peso sem nenhum custo adicional com alimentação. Além disso, também atuam como preventivos para infecções (SOULSBY, L. 2007).

Vários fatores intrínsecos e extrínsecos estão relacionados com a capacidade de um agente etiológico causar doença no hospedeiro, assim como, com a gravidade e dificuldade no tratamento. Dessa forma, a capacidade de causar doença pode ser relacionada às características que aumentam a susceptibilidade do hospedeiro à infecção por micro-organismos do gênero *Campylobacter*, como a idade, a ocorrência de doenças concomitantes e a competência do sistema imunológico (OGLE, M, 2013). Porém, as características intrínsecas do agente também possuem importante influência, que podem ser avaliadas pelo seu aparato genético. Entre os fatores que podem dificultar e complicar o tratamento está a resistência aos antimicrobianos.

A possível transferência de material genético de bactérias resistentes aos antimicrobianos, de animais para os humanos é um tema de grande importância e que tem mobilizado esforços de controle por parte de várias instituições internacionais, incluindo WHO (*World Health Organization*), OIE (*World Organization for Animal Health*) e Codex Alimentarius. Nesse sentido, as duas principais preocupações são: a transferência de genes de resistência entre os micro-organismos que podem, assim, causar infecções de difícil controle que ameacem a saúde pública (BRASIL, 2008).

Como *Campylobacter* spp. é considerado um patógeno zoonótico, a resistência aos antimicrobianos entre isolados no reservatório animal tem graves implicações para o tratamento de campilobacteriose em seres humanos (MOORE et al., 2006).

Segundo um estudo realizado em reunião da FAO/WHO/OIE em 2007, três classes de antimicrobianos foram consideradas como prioritárias para o desenvolvimento de medidas e estratégias para manejo da resistência bacteriana, pois apareciam em ambas as listas, sendo eles: cefalosporinas de 3ª e 4ª gerações, as quinolonas (incluindo as fluorquinolonas) e os macrolídeos.

As taxas de resistência aos antimicrobianos em bactérias isoladas de humanos, especialmente às fluoroquinolonas, subiram acentuadamente nos últimos 20 anos, e estas elevadas taxas de resistência são observadas em muitas regiões do mundo. Para o tratamento de quadros de campilobacteriose, as drogas de primeira escolha são aquelas pertencentes à classe das fluoroquinolonas. Quando a resistência a esta droga é comprovada, a azitromicina (macrolídeo) é geralmente a próxima escolha de tratamento, embora a resistência aos macrolídeos também já tenha sido relatada (CDC, 2013).

O desenvolvimento de resistência aos macrolídeos e fluorquinolonas é particularmente preocupante uma vez que o uso destes antimicrobianos é defendido como terapia de primeira e de segunda linha para o tratamento de infecções de *Campylobacter*.

Sabendo que a campilobacteriose é transmitida pelo consumo de alimentos, o papel do uso indiscriminado desses antibióticos nas diferentes etapas da cadeia produtiva de frangos pode promover a disseminação de cepas resistentes. Vários relatórios em todo o mundo associam infecções por *Campylobacter* resistentes a fluorquinolonas com a aprovação do uso desse antimicrobiano na produção de aves (ENGBERG et al., 2001; GE et al., 2003; GUPTA et al., 2004; KINANA et al., 2006; SERICHANTALERGS et al., 2007). Para combater o surgimento de cepas resistentes a fluorquinolonas nos Estados Unidos, a *Food and Drug Administration* (FDA) retirou a aprovação para o uso de fluorquinolonas em aves desde 2005 (ZHAO et al., 2010).

Nos EUA, em 2010, 1% de *C. jejuni* isoladas de humanos foram resistentes à eritromicina (macrolídeo), 43% a tetraciclina (tetraciclina) e 22% a ciprofloxacina (fluoroquinolona) (CDC, 2012). Para *C. jejuni* isoladas de carne de frangos de corte, os valores comparáveis foram de 1% para eritromicina, 36% para a tetraciclina e 22% para a ciprofloxacina (FDA, 2011). Na União Europeia, em isolados de carne de

frangos, os números foram de 2%, 22% e 50%, respectivamente para eritromicina, tetraciclina e ciprofloxacina (EFSA, 2012).

Considerando os dados de resistência nos EUA e UE, a resistência foi geralmente maior em *C. coli* do que em *C. jejuni* (CDC, 2012; EFSA, 2012). Estudo desenvolvido na UE em 2011 mostrou percentuais um pouco maiores aos encontrados em 2010. Na Europa, resistência extremamente alta à ciprofloxacina (fluoroquinolona) foi comumente observada em *C. coli* isoladas de frangos de corte e carne de frango (76,6% e 77,7%, respectivamente), com níveis um pouco mais baixos em *C. jejuni* (57,2% e 59,2%, respectivamente).

A resistência à eritromicina foi detectada em porcentagens baixas em isolados de *Campylobacter* de frangos de corte e carne de frango (1,6% e 9,8%), com exceção de *C. coli* em frangos de corte, em que foi detectada resistência moderada (15,5%).

A multi-resistência (resistência a pelo menos três classes de antimicrobianos), de acordo com valores de corte epidemiológico, foi geralmente baixa em *C. jejuni* isolados de frangos e carne de frango, e a co-resistência aos antimicrobianos de importância clínica, ciprofloxacina e eritromicina, foi, nos mesmos isolados, ou não detectada ou registrada em valores baixos.

Níveis de multi-resistência e co-resistência foram geralmente maiores em *C. coli* isoladas de frangos de corte (EFSA, 2013). Melo (2012), ao analisar *Campylobacter* sp. isolados de carcaça de frangos resfriadas e congeladas provenientes dos Estados de Minas Gerais, Distrito Federal e Goiás (Brasil), encontrou 43,6% de resistência à norfloxacina (fluoroquinolona), 36,2% à eritromicina (macrolídeo) e tetraciclina (34,0%). Determinou também que a resistência conjunta ao macrolídeo e à fluoroquinolona, foi uma característica partilhada por 19,1% (18/94) das cepas, sendo seis *C. jejuni*, seis *C. coli* e seis *Campylobacter* spp. O surgimento de resistência antimicrobiana em *Campylobacter* spp. tem sido uma preocupação crescente na saúde pública mundial.

O isolamento em humanos e animais, de cepas de *Campylobacter* resistentes aos antimicrobianos, aumenta a dificuldade de tratamento das infecções humanas. Alguns autores associam a resistência de *Campylobacter* aos antimicrobianos ao uso indevido destes na produção animal de aves para a terapia e prevenção de doenças (DECKERT et al., 2010; BARDON et al., 2011). Além disso, estudos também têm mostrado que os seres humanos infectados com *Campylobacter* spp. resistentes a

antimicrobianos têm uma maior duração da diarreia quando comparadas com as cepas suscetíveis (NELSON et al., 2004; HELMS et al., 2005).

REFERÊNCIAS

Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) **Relatório anual 2016**. Disponível em:

<http://abpabr.com.br/storage/files/versao_final_para_envio_digital_1925a_final_abp_a_relatorio_anual_2016_portugues_web1.pdf>. Acesso: 07/03/2016

AMRI, A.; SENOK, A.; ISMAEEL, A.; AL-MAHMEED, A.; BOTTA, G. Multiplex PCR for direct identification of *Campylobacter* spp. in human and chicken stools. **Journal of Medical Microbiology**, v. 56, n. 10, p. 1350 - 1355, 2007

ATABAY, H. I. and CORRY, J. E. The isolation and prevalence of *Campylobacter* from dairy cattle using a variety of methods. **J. Appl. Microbiol.** v. 84, p. 733–740, 1988.

BARDON, J.; KOLA, R. M.; KARPI, S.; KOVA, R.; HRICOVA, K. Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* spp. in broilers at retail in the Czech Republic and their antibiotic resistance. **Food Control**, v. 22, n. 2, p. 328–332, 2011.

BERRANG, M. E., BUHR, R. J., CASON, J. A., and DICKENSI, J. A. Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. **J. Food Prot.** v. 64, p. 2063–2066, 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Relatório do Monitoramento da Prevalência e do Perfil de Suscetibilidade aos Antimicrobianos em Enterococos e Salmonelas Isolados de Carcaças de Frango Congeladas Comercializadas no Brasil. **Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango (PREBAF)**. p.186 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas**. Síndrome de Guillain-Barré. Portaria SAS/MS nº 497, de 23 de dezembro de 2009.

CAST. Foodborne Pathogens: Risk and Consequences. **The Council for Agricultural Science and Technology**, n. 122, 1994

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). *Campylobacter* investigation Guideline. **Kansas Disease Investigation Guidelines**. 2012.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Justification of Estimates for Appropriation Committees, 2014.

CODEX Guidelines for the control of *Campylobacter* and *Salmonella* in chicken meat. 2011. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.net/input/download/standards/11780/CXG_078e.pdf>

DEBRUYNE, L., GEVERS, D., VANDAMME, P., **Taxonomy of the family Campylobacteraceae**, *Campylobacter*, v. 3 p. 3–27, 2005.

DECKERT, A.; VALDIVIESO-GARCIA, A.; REID-SMITH, R.; TAMBLYN, S.; SELISKE, P.; IRWIN, R.; DEWEY, C.; BOERLIN, P.; MCEWEN, S. A. Prevalence and antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. isolated from retail chicken in two health units in Ontario. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 7, p. 1317 - 1324, 2010.

EFSA - European Food Safety Authority – Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008, **The EFSA Journal**. Italy, v. 8, n. 3, p. 1503, 2010.

EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2012. The European Union Summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2010. **EFSA Journal**. 2012;

EFSA – EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. **EFSA Journal**, v.11, n. 4, p. 3129, 2013.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. **EFSA Journal**. v. 12, n. 2, p.35-47, 2014.

ENGBERG, J.; AAERSTRUP, F. M.; TAYLOR, D. E.; GERNER-SMIDT, P.; NACHAMKIN, I. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. **Emerging Infectious Diseases**, v.7, n. 1, p. 24 - 32, 2001.

ESCALLAN, R. M. HOEKSTRA, B. E. MAHON, T. F. JONES and P. M. GRIFFIN. An assessment of the human health impact of seven leading foodborne pathogens in the United States using disability adjusted life years. **Epidemiology and Infection**, v.143, p. 2795-2804, 2015.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA. Retail Meat Report - National Antimicrobial Resistance Monitoring System. **Food and Drug Administration**, 2011.

GOODWIN, C.S., MCCULLOCH,R.K., ARMSTRONG, J.A., WEE, S.H. Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. **J Med Microbiol**. v.2 p. 257–267, 1985.

GONÇALVES, K. O.; YAMANAKA, E. H. U.; ALMEIDA, A. P. I.; CHANO, L. J.; RIBEIRO, A. B. Pesquisa de *Campylobacter* spp. em carnes de frango comercializados na cidade de Campo Mourão-PR. **Alim. Nutr.**, v. 23, n. 2, p. 211 - 216, 2012.

GUPTA. The phylogeny of proteobacteria: relationships to other eubacterial phyla and 535 eukaryotes. **Microbiol Rev** v. 24 p. 367–402, 2000.

GUPTA, A.; NELSON, J. M.; BARRETT, T. J.; TAUXE, R. V.; ROSSITER, S . P.; FRIEDMAN, C. R.; JOYCE, K. W.; SMITH, K. E.; JONES, T. F.; HAWKINS, M. A.; SHIF-ERAW, B.; BEEBE, J. L.; VUGIA, D. J.; RABATSKYEHR, T.; BENSON, J. A.; ROOT, T. P.; ÂNGULO, F. J. Antimicrobial resistance among *Campylobacter* strains,

United States, 1997–2001. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n.6, p.1102 – 1109, 2004.

HELMS, M., SIMONSEN, J., OLSEN, K. E., MOLBAK, K. Adverse health effects associated with antimicrobial drug resistance in *Campylobacter* species: a registry-based cohort study. **Journal of Infectious Diseases**, v.191, n.7, p. 1050 -1055, 2005.

HERMANS, D., F. PASMANS, W., MESSENS, A., MARTEL, F. VAN IMMERSEL, G. RASSCHAERT, M., HEYNDRIKX, K., VAN DEUN, HAESEBROUCK, F. Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni*. **Vector Borne Zoonotic Dis.** v.12 p.89–98, 2012.

HOLLIS, A., AHMED, Z. Preserving antibiotics, rationally. **Engl J Med.** v.26, 2013.

HORROCKS, S.M., R.C. Anderson, D.J. Nisbet, and S.C. Riche. Incidence and ecology of *Campylobacter jejuni* and coli in animals. **Anaerobe** v. 15, p. 18–25, 2009.

HUMPHREY, T., O'BRIEN, S., MADSEN, M. *Campylobacter* as zoonotic pathogens: a food production perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v. 117, n. 3, p. 237–257, 2007.

ICMSF - INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS -. Microorganisms in Foods. **Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications.** v.2, p. 181-186. 2005.

IVANOVIC, S. *Campylobacter* as a cause of gastroenteritis in humans and animals. **African Journal of Microbiology Research**, v.6, n.8, p.1651 - 1657, 2012.

KAAKOUSH, N.O., CASTAÑO-RODRIGUEZ, MITCHELL, H.M., MAN, S.M., Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. **Clinical Microbiology**, v. 28 p.687–720, 2015.

KINANA, A. D.; CARDINALE, E.; TALL, F.; BAHOUN, I.; SIRE, J. M.; GARIN, B.; BREUREC, S.; BOYE, C. S.; PERRIER-GROS-CLAUDE, J. D. Genetic diversity and quinolone resistance in *Campylobacter jejuni* isolates from poultry in Senegal. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 72, n.5, p.3309 – 3313. 2006.

LAKE AND CRESSEY, 2013 Risk profile: *Campylobacter jejuni/coli* in Poultry, 2013.

LIN, J. Novel approaches for *Campylobacter* control in poultry. **Foodborn pathogenes and diseases**, v.6, p.755-765, 2009.

LINE, J., HIETT, K. L., CONLAN A. Comparison of challenge models for determining the colonization dose of *Campylobacter jejuni* in broiler chicks. **Poultry Science**; v.87, p.1700-1706, 2008.

LOPES, G. V. *Campylobacter* spp. no abate e varejo: ocorrência em carcaças de bovinos para exportação e em cortes refrigerados de aves e bovinos. 2009. 103 f.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MANGEN, M. J. J., BOWKNEGT, M, FRIESEMA, I. H. M., JAAGSMA, J. A., KORTBEEK, L. M., TARIQ L. Cost of illness and disease burden of related pathogens in the Netherlands. **Int Food Microbiology** v. 196 p. 84-93, 2015.

MCINTYRE, L. Quantifying the reduction of *Campylobacter jejuni* on skin-on chicken breasts frozen and stored for up to 10 weeks at -12°C. **ESR**. 2009.

MELO, R.T. Fatores de Patogenicidade e Potencial Risco à Saude em *Campylobacter* spp. Isolados de Carcaças de Frangos. 2012. 134 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

MELO, R. T., NALEVAIKO, P. C., MENDONÇA, E. P., BORGES, L. W., FONSECA, B. B., BELETTI, M. E., ROSSI, D. A. *Campylobacter jejuni* strains isolated from chicken meat harbour several virulence factors and represent a potential risk to humans. **Food Control**, v. 33, p. 227 – 231, 2013.

MOORE, J.E., CORCORAN, D., 2005. *Campylobacter*. **Veterinary Research** v.3 p.351-382, 2005.

MOURA, M. S. Influência de Crioprotetores e Pré-Adaptação na Viabilidade e Produção de Transcritos por Cepas *Campylobacter jejuni* Mantidas a -20 °C. 2013. 74 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

NADEAU, E., MESSIER, S., and QUESSY, S. Prevalence and comparison of genetic profiles of *Campylobacter* strains isolated from poultry and sporadic cases of campylobacteriosis in humans. **J. Food Prot.** v. 65, p. 73–78, 2002.

NELSON, J.; CHILLER, T.; POWERS, J.; ANGULO, F. Fluoroquinolone resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry; a public health success story. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, p. 977 - 980, 2007.

OECD/FAO, OECD-FAO Agricultural outlook 2016-2025, **OECD Publishing**. 2015 <http://www.oecd-ilibrary.org/agriculture-and-food/oecd-fao-agricultural-outlook_19991142>

OGLE, M. In meat we trust: an unexpected history of Carnivore America. New York, NY: **Houghton Mifflin**; 111; 2013.

PENNER, J. L., The genus *Campylobacter*. a decade of progress. **Clin Microbiol** v.1, p.157–172, 1998.

POULTRY SITE <http://www.thepoultrysite.com/focus/global-poultry-trends/2400/global-poultry-trends-region-select-track-poultry-trends-across-the-world>>

SAMPERS, I.; HABIB, I.; BERKVEN, D.; DUMOULIN, A.; ZUTTER, L. D.; UYTENDAELE, M. Processing practices contributing to *Campylobacter* contamination in Belgian chicken meat preparations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 128, n.2, p. 297 - 303, 2009.

SERICHANTALERGS, O.; DALSGAARD, A.; BODHIDATTA, L.; KRASAESUB, S.; PITARANGSI, C.; SRIJAN, A.; MASON, C. J. Emerging fluoroquinolone and macrolide resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates and their serotypes in Thai children from 1991 to 2000. **Epidemiology and Infection**, v. 135, n. 8, p. 1299 – 1306, 2007.

SOULSBY, L. Antimicrobials and animal health: a fascinating nexus. **J Antimicrob Chemother**, v.60 Suppl 1: i77–8, 2007.

SKARP, C. P. A., HANNINEN, M. L., RAUTELIN, H. I. K. Campylobacteriosis: the role of poultry meat. **Clin Microbiol and Infection**. v.22, p 103-109. 2016.

SKIRROW, M. B. John McFadyean and the centenary of the first isolation of *Campylobacter* species. **Clin. Infect. Dis.** v. 43, p. 1213–1217, 2006.

STRACHAN, N.J.C. Identifying the seasonal origins of human campylobacteriosis. **Epidemiology and Infection**, 2013.

STEAD, D.; PARK, S. F. Roles of Fe superoxide dismutase and catalase in resistance of *Campylobacter coli* to freeze-thaw stress. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n.7, p. 3110 – 3112, 2000.

STINTZI, A.; WHITWORTH, L. Investigation of the *Campylobacter jejuni* Cold-Shock Response by Global Transcript. **Genome Letters**, v. 2, n. 1-2, p. 18 - 27, 2003.

TAUXE, R., KRUSE, H., HEDBERG, C., POTTER, M., MADDEN, J., and WACHSMUTH, K. Microbial hazards and emerging issues associated with produce: a preliminary report to the National Advisory Committee on Microbiologic Criteria for Foods. **J. Food Prot.** v. 60, p.1400–1408, 1997.

VANDAMME, P., Microbiology of *Campylobacter* infections. **Taxonomy of the family Campylobacteraceae**, p.3–27, 2000.

VANGERWE, T., MIFLIN, J. K., TEMPLETON, J. M., BOUMA, A., WAGENAAR, J. A., JACOBS-REITSMA, W. F., STEGEMAN, A., KLINKENBERG, D. Quantifying transmission of *Campylobacter jejuni* in commercial broiler flocks. **Applied and Environmental Microbiology**. v.75 p.625-628, 2009.

VUCIC, S., KIERMAN, M. C., CORNBATH, D. R. Guillain-Barré syndrome: an update. **J Clin Neurosci**. v.6 p. 733-41, 2009.

WHYTE, P., MCGILL, K., COWLEY, D., MADDEN, R. H., MORAN, L., SCATES., CARROLL, C., O'LEARY, A., FANNING, S., COLLINS, J. D., MCNAMARA, E., MOORE, J. E., CORMICAN, M. Occurrence of *Campylobacter* in retail foods in Ireland. **Int. Journal of Food Microbiology.** v. 95. p. 111- 118, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO/FAO. Report of the Fourth Session of the Codex Ad Hoc Intergovernmental Task Force on Antimicrobial Resistance, p. 18-22, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. The global view of campylobacteriosis. 2013
Disponível em:
<https://extranet.who.int/iris/restricted/bitstream/10665/80751/1/9789241564601_eng.pdf> Acesso em: 27 mar. 2016

ZHAO, S.; YOUNG, S. R.; TONG, E.; ABBOTT, J. W.; WOMACK, N.; FRIEDMAN S. L.; MCDERMOTT, P. F. Antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates from retail meat in the United States between 2002 and 2007. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 76, n. 24, p. 7949 - 7956, 2010.

CAPÍTULO 2 - Prevalência e susceptibilidade aos antimicrobianos de *Campylobacter* spp. isolados de carcaças de frango brasileiros

JOCASTA RODRIGUES IASBECK¹, MARCELA FRANCO TIMOTEO¹, EDSON VALADARES TORRES JUNIOR², ROBERTA CAMPOS DE MELO³, ELIANE PEREIRA MENDONÇA⁴, GUILHERME PAZ MONTEIRO³, PHELIPE AUGUSTO BORBA MARTINS PERES⁵, DAISE APARECIDA ROSSI⁶

1. Estudante de Mestrado em Saúde Animal – LABIO/FAMEV – UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA. Rua Ceará s/n, Bloco 2D, Sala 43, Umuarama, Uberlândia, MG/Brasil.e-mail: iasbeck_jocasta@hotmail.com
2. Estudante de Medicina Veterinária – LABIO/FAMEV – UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA. Rua Ceará s/n, Bloco 2D, Sala 43, Umuarama, Uberlândia, MG/Brasil.
3. Estudante de Doutorado – LABIO/FAMEV – UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA. Rua Ceará s/n, Bloco 2D, Sala 43, Umuarama, Uberlândia, MG/Brasil.
4. Doutora - LABIO/FAMEV – UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA. Rua Ceará s/n, Bloco 2D, Sala 43, Umuarama, Uberlândia, MG/Brasil
5. Estudante de Biologia – LABIO/FAMEV – UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA. Rua Ceará s/n, Bloco 2D, Sala 43, Umuarama, Uberlândia, MG/Brasil.
6. Bióloga e Veterinária, Professora e Pesquisadora na UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA. Rua Ceará s/n, Bloco 2D, Sala 43, Umuarama, Uberlândia, MG/Brasil. e-mail: daiser@umuarama.ufu.br

Revista: Brazilian Journal of Microbiology

RESUMO

Objetivou-se determinar a prevalência de *Campylobacter* spp. em carcaças de frango comercializados congeladas ou resfriadas no Brasil, no momento da aquisição e após 30 dias de armazenamento em freezer doméstico, identificar as espécies e determinar a resistência aos antimicrobianos. Foram analisadas 246 carcaças de frango coletadas na cidade de Uberlândia sob as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) durante o período de Agosto/2014 a Fevereiro/2016. Os isolados confirmados como *Campylobacter* foram identificados quanto a espécie por PCR e submetidos ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de difusão em disco. *Campylobacter* spp. foi isolada de 18,29% (46/246) das carcaças de frango pesquisadas, havendo maior identificação de *C. jejuni* em comparação a *C. coli* e *Campylobacter* spp. A positividade foi maior em carcaças provenientes de indústrias que comercializam somente no mercado interno em relação às exportadoras. Houve um alto índice de isolados multirresistentes e foi observada uma alta porcentagem de resistência para todos os antimicrobianos testados, mas alguns índices de resistência se destacam devido à importância para sanidade avícola e para saúde pública, como aos macrolídeos e fluorquinolonas. A espécie mais isolada foi *C. jejuni*, que é também a mais envolvida na doença humana. Os altos índices de resistência aos antimicrobianos reforçam a necessidade de vigilância constante e reflexão sobre a necessidade deste patógeno ser incluído entre os obrigatoriamente analisados em carcaças de frango.

Palavras-chave: campilobacteriose, saúde pública, multirresistência, *C. jejuni*.

INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Campylobacter* são causadoras da campilobacteriose, que atualmente é a doença gastrointestinal mais reportada no mundo (WHO, 2015; EFSA, 2015). Das espécies termotolerantes que causam infecções gastrointestinais de origem alimentar em humanos, as mais importantes são *C. jejuni* e *C. coli* (EFSA, 2014).

Os sintomas gastrointestinais (diarreia, febre, vômito, dor de cabeça, náusea e vômito) podem durar até uma semana após a infecção, mas em alguns casos podem evoluir para complicações mais severas como as desordens auto-imunes Síndrome de Guillain-Barré (SGB) e Síndrome de Miller Fisher (WHO, 2015; Kaakoush et al. 2015).

As aves são hospedeiras naturais de *Campylobacter* spp. e os produtos de carne de aves contaminadas são as principais fontes de transmissão da bactéria para a população (Hermans et al., 2012). O Brasil é o maior exportador de carne de frango do mundo, exportando para mais de 150 países (ABPA, 2016), assim é importante que o país produza um alimento seguro ao consumidor, e nesse sentido, *Campylobacter* spp. não deve ser negligenciada, já que é a primeira causa de gastroenterite em países desenvolvidos.

Ainda há poucos estudos sobre a incidência dessa bactéria no Brasil e não há legislação no país que regulamente a análise de *Campylobacter* em carne de frangos destinados ao consumo interno. Para o mercado externo é realizada análises apenas quando o país importador exige. Essa ausência de legislação pode futuramente ser uma barreira sanitária na exportação de frango, caso os países importadores passem a exigir frangos livres de *Campylobacter*.

Mesmo sendo considerada uma infecção autolimitante em humanos, em alguns casos, infecções graves ou prolongadas podem ocorrer particularmente em crianças, idosos e em imunocomprometidos, e nestas circunstâncias, é necessária a intervenção

terapêutica (Moore et al., 2006). No entanto, a bactéria tem se mostrado cada vez mais resistente aos antibióticos, incluindo os clinicamente importantes para o seu tratamento, e essa resistência crescente é uma preocupação para a saúde pública (Luangtongkum et al., 2009; Lehtopolku et al., 2010; Fernandez 2011; Ge et al., 2013; Sierra-Arguello et al., 2016; Taylor et al., 2016)

O impacto da campilobacteriose na saúde pública mundial e o fato do Brasil ser grande produtor e maior exportador de carne de frango justificam estudos de prevalência nesta matriz alimentar.

Objetivou-se determinar a prevalência de *Campylobacter* spp. em carcaças de frango comercializados no Brasil, no momento da aquisição e identificar as espécies determinando a resistência aos antimicrobianos.

METODOLOGIA

Foram coletadas 246 carcaças de frango na cidade de Uberlândia em estabelecimentos comerciais fiscalizados pela Vigilância Sanitária sob as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) durante o período de Agosto/2014 a Fevereiro/2016. Eram amostras de diferentes marcas, representativas das comercializadas no Brasil, produzidas em estabelecimentos sob inspeção (municipal, estadual ou federal), oriundas de diferentes estados brasileiros. Com base nos níveis de prevalência encontrados em estudos anteriores, foram utilizadas as recomendações de Thrusfield (2004) e Brasil (2008) para calcular o número de 246 amostras para serem estudadas, com 95% de confiança.

No laboratório de Epidemiologia molecular da Universidade Federal de Uberlândia, assepticamente, cada amostra foi fracionada em duas partes similares e

receberam identificações idênticas para posterior rastreabilidade e imediatamente analisada. O processamento da alíquota amostral foi realizado por meio da técnica de rinsagem, com a metade da carcaça de frango colocada individualmente em saco plástico estéril contendo 225mL de água peptonada tamponada 0,1% (Difco®) estéril e submetida a um processo de agitação e massageamento durante 60 segundos.

Para o isolamento de *Campylobacter* spp. utilizou-se o protocolo descrito na ISO 10272-1:2006 (ISO, 2006) com modificações no pré enriquecimento. Um volume de 30 mL do produto das lavagens foi pipetado e adicionado a 30 mL de caldo Bolton (Oxoid®) em dupla concentração suplementado com 5% de sangue equino hemolisado e mistura antibiótica (10,0mg de cefoperazona, 10,0mg de vancomicina, 10,0mg de trimetoprim e 25,0mg de cicloheximida) incubadas em atmosfera de microaerofilia (Probac do Brasil®) a 37°C por 44 horas $\pm$ 4 horas.

Após incubação, uma alíquota de 300 μ L da amostra pré-enriquecida foi colocada em placas de ágar *Campylobacter* Blood-Free Selective Medium (Modified CCDA-Preston) (Oxoid®) adicionado do seu suplemento antibiótico (16mg de cefoperazona e 32mg de anfotericina B) (Oxoid®) encobertas por membrana filtrante de celulose com poros de 0,65 μ m (Millipore®). Após total absorção da amostra pelo ágar a membrana foi retirada, e as placas incubadas a 37°C por 44 horas $\pm$ 4 horas em atmosfera de microaerofilia.

A identificação das espécies *C. jejuni* e *C. coli* e do gênero *Campylobacter* spp. foi realizada por método genotípico. Para *C. jejuni* e *C. coli* foi utilizado PCR multiplex. Para *Campylobacter* spp foi realizado PCR.

Para extração do DNA genômico das colônias suspeitas foi utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega), seguindo protocolo fornecido pelo fabricante. O DNA foi quantificado em aparelho Nanodrop (Thermo Scientific®). A

amplificação do PCR multiplex foi realizada utilizando os conjuntos de primers I e II: (conjunto I - gene *flaA* – *C. jejuni* e *C. coli* - produto de 460pb - pg 3 e pg 50; conjunto II - sequência única de *C. jejuni* - 160pb - C1 e C4); 20ng de DNA e demais reagentes (Invitrogen), descritos por Harmon et al. (1997). O volume final para a reação de amplificação (50µL) foi composto por 20ng/µL da solução de DNA bacteriano e pelos reagentes: 10mM de Tris-HCL; 50mM de KCl; 200µM de cada deoxinucleotídeo trifosfatado (DNTP); 5,5mM de MgCl₂; 30 picomoles para cada primer e 1,25U de Taq DNA polimerase. Cada gene foi estudado separadamente nas reações. O controle positivo de *C. jejuni* (IAL) foi utilizado em todas as reações de amplificação, bem como um controle negativo composto por água ultrapura estéril.

Para *Campylobacter* spp., a reação foi feita com um volume final de 30µL, sendo composta por 30ng do DNA extraído, 10mM de Tris-HCL; 50mM de KCl; 2,5mM de MgCl₂ e 0,25U de Taq DNA polimerase; 200µM de cada deoxinucleotídeo trifosfatado (DNTP) e 40 picomoles do primer 16S rRNA (Invitrogen®).

Os componentes da reação foram amplificados no termociclador (Eppendorf), obedecendo aos seguintes ciclos: 1 ciclo inicial de desnaturação a 94°C por 4 minutos; 25 ciclos de amplificação, cada qual constituído de 3 etapas: desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento a 45°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto; completando com mais ciclo de extensão final a 72°C por 7 minutos (Harmon et al., 1997). Ao término da reação, os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%, corados com solução de *syber safe* (Invitrogen Brasil Ltda), submetidos a uma voltagem de aproximadamente 8V/cm e, posteriormente, visualizado por luz UV em um transiluminador (L.PIX Loccus biotecnologia).

Os isolados confirmados como *Campylobacter* foram submetidos ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de difusão em disco, utilizando protocolo

recomendado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2013) em ágar Mueller Hinton (MH) (Difco®) acrescido de 5% de sangue de carneiro desfibrinado. Foram testados os antimicrobianos: amoxicilina e ácido clavulânico (10µg), azitromicina (15µg), ciprofloxacina (5µg), eritromicina (15µg), gentamicina (10µg) e tetraciclina (30µg) (Oxoid), selecionados de acordo com a utilização no tratamento humano (CDC, 2013) e incubados em atmosfera de microaerofilia (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) (Probac do Brasil®) a 37°C por 48 horas. Após, foram classificados como sensível (S) ou resistente (R) ao antimicrobiano testado, seguindo os critérios de interpretação da *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Campylobacter spp. foi isolada de 18,6% (46/246) das carcaças de frango pesquisadas, havendo maior identificação ($p < 0,05$) de *C. jejuni* em comparação a *C. coli* e *Campylobacter* spp. (figura 1). Melo et al. (2012) também encontrou uma positividade maior de *C. jejuni* quando comparada a *C. coli*.

Na União Europeia apesar de se ter estabilizado os casos de campilobacteriose humana nos últimos anos, *Campylobacter* ainda é uma preocupação. Em média, 31,4% das amostras de carne de frango frescas são positivas para *Campylobacter*, mas as porcentagens variam entre os países da União Europeia (EFSA, 2015 e CDC, 2015).

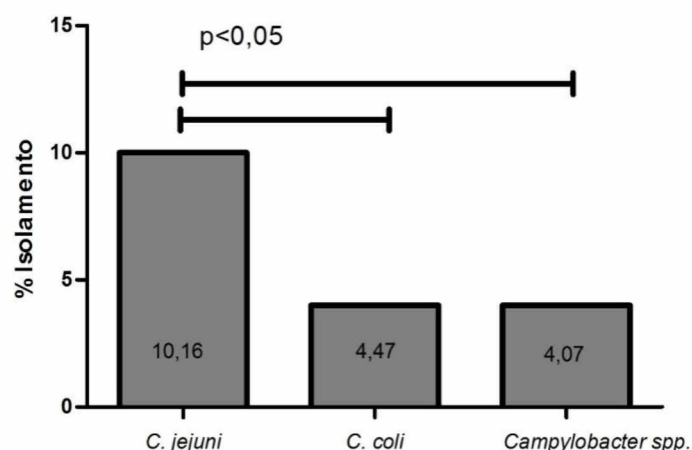


Figura 1. Isolamento de *C. jejuni*, *C. coli* e *Campylobacter* spp. em carcaças de frangos de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016). As barras significam diferença estatística.

Na América Latina, os índices de positividade em carne de frango ainda são basicamente divulgados por entidades de pesquisas, muitas vezes vinculadas a universidades. No Brasil entre os anos de 2002 a 2008, o índice de positividade era alto variando entre 60 a 99% (Aquino et al., 2002; Franchin et al., 2007; Kuana et al., 2008). Já um estudo mais recente mostra positividade menor, de 22,38% (94/420) em carcaças de frangos resfriados e congelados de uma empresa exportadora, porém produzido e beneficiado em três estados diferentes (Melo et al., 2012).

Não há um trabalho atual semelhante ao deste estudo, que avalia uma diversidade de marcas e regiões produtoras e não há padronização entre os métodos de análise utilizados. Assim, é difícil afirmar que a positividade vem diminuindo, porém, uma positividade de 18,6% ainda parece preocupante, já que o país é um importante exportador para mais de 150 países do mundo.

Não houve diferença ($p>0,05$) entre o índice de isolamento de *Campylobacter* entre carcaças comercializadas na forma congelada ou resfriadas (tabela 2).

Tabela 1: Isolamento de *Campylobacter* em 246 carcaças de frango congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016).

Forma de comercialização	Total n (%)	<i>C. jejuni</i> n (%)	<i>C. coli</i> n (%)	<i>Campylobacter</i> spp. n (%)
Congelado	36/166 (21,69)	19/166 (11,45)	9/166 (5,42)	8/166 (4,82)
Resfriado	10/80 (12,50)	6/80 (7,50)	2/80 (2,50)	2/80 (2,50)
Total	46/246 (18,69)	25/246 (10,16)	11/246 (4,47)	10/246 (4,07)

É relatado na literatura que o congelamento diminui a sobrevivência de *Campylobacter* (Georgsson et al., 2006; Hanel e Atanassova, 2007; Humphrey et al., 2007; Sampers et al., 2009; Huang et al., 2012; Ivic-kolevska; Milkovic-selimovic, Kocic, 2012, Harrison et al, 2013). Porém, neste estudo, o índice de positividade foi similar, o que representa um problema para a saúde pública, já que o congelamento poderia ser usado como uma alternativa para o controle de *Campylobacter*.

Na União Europeia, o congelamento de frangos é considerado como um tratamento bem aceito pela população para redução de *Campylobacter* spp. (Macritchie, Hunter, Strachan, 2014). Seria razoável investigar que a alta percentagem de positividade em frangos congelados ocorreu por um curto período de tempo entre a fabricação do produto e a análise laboratorial, porém, esse período não foi diferente entre os frangos congelados negativos (média de 42,69 dias) e positivos (média de 50,36 dias). Nesse trabalho não foi monitorado a temperatura exata de armazenamento desses frangos, e assim, não se sabe se em algum momento essas carcaças foram submetidas à alta temperatura dentro dos estabelecimentos comerciais ou se os isolados desse estudo são cepas que adquiram durante o tempo, a capacidade de sobreviver mesmo em baixas

temperaturas e/ou condições adversas. O que pode se concluir, no entanto é que a aquisição de frango congelado no supermercado não garante um alimento livre de *Campylobacter* spp.

As carcaças de frango eram oriundas de um total de 14 marcas comerciais. Não houve diferença ($p>0,05$) na positividade de *Campylobacter* quando se comparou os tipos de inspeção: municipal, estadual ou federal (figura 2), mas a positividade das empresas que exportam seus produtos (28/169 – 16,58%) foi menor que naquelas empresas que realizam comercialização apenas regional ou no país (18/57 – 31,58%) (figura 3).

Nesse estudo não houve uma investigação sobre as causas da maior positividade nas carcaças produzidas por empresas que comercializam somente no mercado interno, porém, sabe-se que para atender ao mercado externo é necessário o cumprimento de normas sanitárias rígidas. A maior biossegurança nas granjas e o cumprimento de padrões sanitários mais rígidos pelas empresas exportadoras podem estar relacionados à menor positividade.

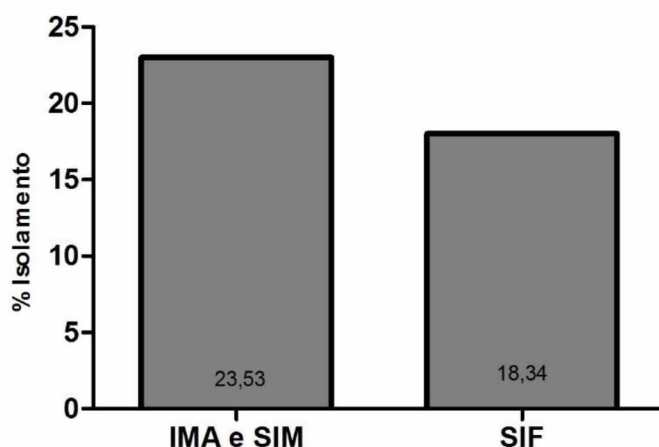


Figura 2. Positividade de *Campylobacter* em carcaças de frango congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016) produzidas sob diferentes tipos de inspeção sanitária.

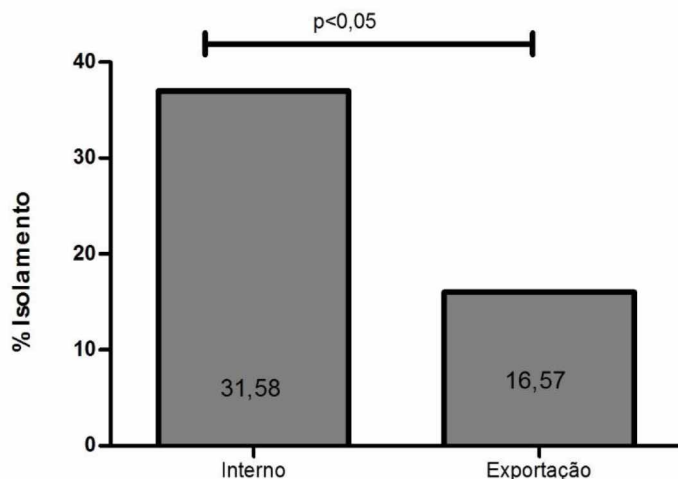


Figura 3. Positividade de *Campylobacter* em carcaças de frango congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016), produzidas por empresas exportadoras e aquelas que comercializam seus produtos apenas dentro do país.

As carcaças provenientes da região Sudeste foram procedentes dos estados de MG e SP, que são os dois principais estados dessa região e o quarto e quinto principais estados na produção de frangos do país (ABPA, 2015). É difícil avaliar o porquê de a região sudeste apresentar um maior índice de positividade para *Campylobacter* comparada às outras duas regiões. Estudos posteriores devem ser realizados considerando a intensidade de produção e a proximidade com outros tipos de criação como, por exemplo, (o estado de São Paulo e Minas Gerais que tem uma intensa produção de galinhas poedeiras e juntos, são responsáveis por 44,74% da produção de ovos do Brasil (APBA, 2015), geografia, o clima e normas de biossegurança.

Dentre os 46 isolados de *Campylobacter*, 44 foram resistentes a algum dos antimicrobianos testados (tabela 3) o que equivale a 95,65% de resistência a pelo menos um antimicrobiano. Houve um alto índice de isolados com multiresistência entre as espécies encontradas (figura 4).

Tabela 2. Resistência aos antimicrobianos de *Campylobacter* isolados de carcaças de frangos congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016).

Antimicrobiano	<i>C. jejuni</i> n =25	<i>C. coli</i> n =11	<i>Campylobacter</i> <i>spp.</i> n=10	Total n=46
CIP	14 (56%)	8 (72,7%)	6 (60%)	28 (60,9%)
AMC	11 (44%)	5 (45,5%)	4 (40%)	26 (56,5%)
GENT	11 (44%)	2 (18,2%)	4 (40%)	17 (36,9%)
ERIT	11 (44%)	6 (54,6%)	2 (20%)	19 (41,3%)
TETRA	11 (44%)	2 (18,2%)	8 (80%)	21 (45,6%)
AZM	6 (24%)	4 (36,4%)	3 (30%)	13 (38,3%)

CIP: Ciprofloxacina, AMC: Amoxilina e clavulanato, GENT: gentamicina, ERIT: Eritromicina, TETRA: Tetraciclina, AZM: Azitromicina

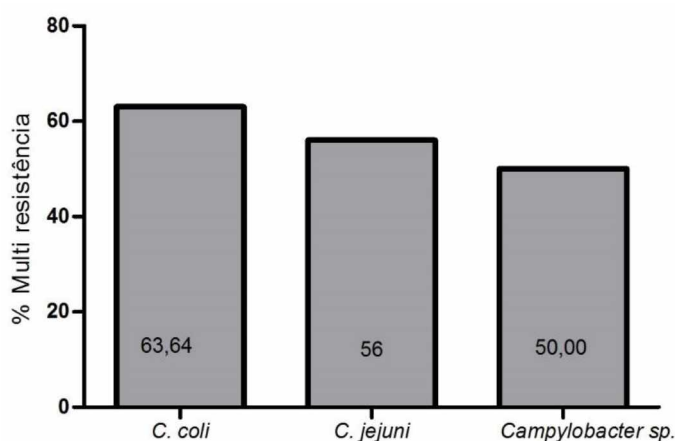


Figura 4. Multiresistência aos antimicrobianos de *Campylobacter* isolados de carcaças de frango congeladas e resfriadas de diferentes marcas comerciais e diferentes regiões do Brasil (08/2014 a 02/2016).

Foi observada uma alta porcentagem de resistência para todos os antimicrobianos testados, mas alguns índices de resistência se destacam devido à importância para sanidade avícola e para saúde pública. Chama atenção a resistência às classes dos macrolídeos e fluorquinolonas que são as drogas de eleição para o tratamento de enterite e/ou campilobacteriose humana (Aarestrup et al. 2008; Okada et al. 2008; Ge et al. 2013) e são considerados juntos com as cefalosporinas de terceira geração e trimethoprim/sulfamethoxazole como antibióticos criticamente importantes (FDA, 2013)

A ciprofloxacin (60,9%) é uma fluorquinolona e as bactérias utilizam como mecanismos de resistência a essa classe de antimicrobianos: a ligação de proteínas à DNA girase, que impossibilita a ação das quinolonas; bombas de efluxo; e a ação de uma acetiltransferase de aminoglicosídeos, que é capaz de reduzir a sua atividade (Poirel; Cattoir; Nordmann, 2012). A fluorquinolona é a segunda escolha para tratamento de enterite humana (Aarestrup et al., 2008; Ge et al., 2013) e desde a introdução desta classe de antimicrobianos na década de 80, a ciprofloxacin é ainda a droga mais comumente prescrita para humanos (Redgrave et al., 2014). Além disso, as fluorquinolonas (enrofloxacin e norfloxacin) são extensivamente utilizadas para o tratamento de diferentes infecções bacterianas em aves devido ao seu amplo espectro (Webber, Piddock, 2001; Cagnardi et al., 2014).

Dessa forma, os resultados desse estudo servem como alerta para a possibilidade de a resistência cruzada entre bactérias de frangos e de humanos. Também destaca que o uso de fluorquinolonas em aves pode deixar de ser uma alternativa em um futuro próximo. Outros estudos também têm demonstrado um alto índice de resistência de *Campylobacter* às quinolonas (Fernandez, 2011; Ge et al. 2013, Kim et al., 2016; Sierra-Arguello et al., 2016; Taylor et al., 2016).

Os macrolídeos são as drogas de escolha para o tratamento de campilobacteriose (Payot et al. 2006) e alguns estudos mostram que os índices de resistência a estes antimicrobianos são baixos (Cipars2012; Gonzalez-Hein et al., 2013; Sierra- Arguello et al., 2016). Porém, já houveram relatos de aumento de resistência aos macrolídeos, e isso é um alerta para saúde pública (Payot et al. 2006; Bester, et al. 2011; Kim et al. 2006). Nesse estudo houve uma resistência no mínimo preocupante para azitromicina e eritromicina, de 13/46 (38,3%) e 19/46 (41,3%), respectivamente. A eritromicina é proibida no Brasil como promotor de crescimento, mas as tilosinas, que são antibióticos

pertencentes à mesma classe, são utilizadas na avicultura para tratamento (MAPA, 2013; MAPA, 2014). É possível haver uma resistência cruzada entre os fármacos dessa classe, e sendo as eritromicinas consideradas antimicrobianos críticos para o uso humano (FDA, 2013), a pressão de seleção exercida pela tilosina pode ser um problema para a saúde pública.

A amoxacilina é um beta lactâmico amplamente utilizada como tratamento animal, com vários registros de marcas comerciais pelo Ministério da Agricultura (MAPA, 2014). Este antimicrobiano é utilizado junto com a gentamicina ou mesmo cabarpenem e imipenem para o tratamento de humanos com sérias infecções sistêmicas (Okada et al., 2008). Nesse estudo, os isolados de carcaças de frangos demonstraram um índice relativamente alto de resistência a amoxilina, com média de 26 (56,5%) de resistência.

Para tetraciclina, a resistência foi de 21/46 (45,6%), com destaque para *Campylobacter* spp., com 8/10 (80%). A tetraciclina é atualmente proibida no país como promotor de crescimento, mas foi extensivamente usada no passado, o que pode ter selecionado cepas resistentes que se mantiveram circulantes. Esse resultado já era esperado, já que vários estudos têm demonstrado altos percentuais de resistência a estas drogas em diferentes partes do mundo (Franqueza et al., 2014; Simaluiza et al. 2015; Wieczorek et al., 2015).

CONCLUSÃO

A prevalência de 18,29% para *Campylobacter* em carcaças de frango comercializados no Brasil, com maior isolamento de *C. jejuni*, que é também a mais envolvida na doença humana, demonstra que há necessidade de monitoramento deste patógeno. A positividade associada aos altos índices de resistência aos antimicrobianos importantes para saúde pública, como os das classes das fluorquinolonas e macrolídeos reforçam a necessidade de vigilância constante e reflexão sobre a necessidade deste patógeno ser incluído entre os obrigatoriamente analisados neste alimento.

REFERÊNCIAS

- Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) (2016). Relatório anual de atividades 2015. Disponível em: http://abpabr.com.br/storage/files/versao_final_para_envio_digital_1925a_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web1.pdf.
- Aarestrup FM, Wegener HC, Collignon P (2008) Resistance in bacteria of the food chain: epidemiology and control strategies. *Expert Rev Anti Infect Ther* 6: 733-750.
- Aquino MHC, Pacheco APG, Ferreira MCS, Tibana A. (2002) Frequency of isolation and Identification of Thermophilic *Campylobacter* from Animals in Brazil. *The Veterinary Journal*, London, 159-161.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Relatório do Monitoramento da Prevalência e do Perfil de Suscetibilidade aos Antimicrobianos em Enterococos e Salmonelas Isolados de Carcaças de Frango Congeladas Comercializadas no Brasil. (2008) Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango (PREBAF). Brasília, 186.
- Center for Disease Control and Prevention – CDC. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED) (2013) – *Campylobacter*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/technical.html> Acesso em: 05 jul. 2016.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2013) Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline – Pennsylvania, CLSI document M45-A2.
- European Food Safety Authority (EFSA) (2014) The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. *The EFSA Journal*. Italy, 35-47.

European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2015) The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. EFSA Journal 2015;13(1):3991.

Fernández H (2011) *Campylobacter* and Campylobacteriosis: a view from South America. Rev Peru Med Exp Salud Publica 28: 121-127.

Franchin, PR.; Ogliari, P. J.; Batista, C. R. V. (2007) Frequency of thermophilic *Campylobacter* in broiler chickens during industrial processing in a Southern Brazil slaughterhouse. British Poultry Science, London, 127 – 132.

Franqueza M, Martins A, Borges A et al. (2014) Antimicrobial resistance among *Campylobacter* spp. strains isolated from different poultry production systems at slaughterhouse level. Poult Sci 93:1578–1586.

Ge B, Wang F, Sjölund-Karlsson M, McDermontt P (2013) Antimicrobial resistance in *Campylobacter*: susceptibility testing methods and resistance trends. J Microbiol Meth 95: 57-67.

Georgsson F, Thornorkelsson AE, Geirsdóttir M, Reiersen J, Stern NJ. (2006) The influence of freezing and duration of storage on *Campylobacter* and indicator bacteria in broiler carcasses. Food Microbiol. Oct;23(7):677-83.

González-Hein G, Cordero N, García P et al. (2013) Molecular analysis of fluoroquinolones and macrolids resistance in *Campylobacter jejuni* isolates from humans, bovine and chicken meat. Rev Chilena Infectol 30: 135-139.

Hänel CM, Atanassova V. (2007) Impact of different storage factors on the survivability of *Campylobacter jejuni* in turkey meat. FEMS Immunol Med Microbiol. Feb;49(1):146-8.

- Harmon KM, Ramsom GM, Wesley IV. (1997) Differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by polymerase chain reaction. Molecular and Cellular Probes, v. 11, n. 3, p. 195 – 200.
- Harrison D., Corry JE, Tchórzewska MA, Morris VK, Hutchison ML. (2013) Freezing as an intervention to reduce the numbers of *Campylobacter* isolated from chicken livers. Lett Appl Microbiol. Sep;57(3):206-13.
- Hermans D, Pasmans F, Messens W, Martel A, Van IF, Haesebrouck F, Rasschaert G, Heyndrickx M, Pasmans F (2012) Poultry as a host for the zoonotic pathogen *Campylobacter jejuni*. Vector Borne Zoonotic Dis 12:89–98.
- Huang J, Jiang F, Hu Y, Zhou X, Gu S, Jiao XA. (2012) An inactivation kinetics model for *Campylobacter jejuni* on chicken meat under low-temperature storage. Foodborne Pathog Dis. Jun;9(6):513-6.
- Humphrey T, O'Brien S, Madsen M. (2007) *Campylobacter* as zoonotic pathogens: a food production perspective. International Journal of Food Microbiology, 237–257.
- International Standards Organization ISO 10272-1: (2006) Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. – Part 1: detection method.
- Ivić-Kolevska S, Miljković-Selimović B, Kocić B. (2012) Survival of *Campylobacter jejuni* in chicken meat at frozen storage temperatures. Acta Microbiol Immunol Hung. Jun;59(2):185-98.
- Kaakoush NO, Castaño-Rodriguez N, Mitchell HM, Man SM (2015) Global epidemiology of 574 *Campylobacter* infection. Clin Microbiol Rev 28:687–719.
- Kim J, Carver D, Kathariou S (2006) Natural transformation-mediated transfer of erythromycin resistance in *Campylobacter coli* strains from Turkeys and swine. Appl Environ Microbiol 72: 1316-1321.

- Kim JS, Lee MY, Kim SJ, Jeon SE, Cha I, Hong S, Chung GT, Huh MJ, Kang YH, Yoo CK, Kim J. (2016) High-Level Ciprofloxacin-Resistant *Campylobacter jejuni* Isolates Circulating in Humans and Animals in Incheon, Republic of Korea. Zoonoses and Public Health.
- Kuana SL, Santos LR, Rodrigues LB, Borsoi A, Moraes HL. S. Salle, CTP, Nascimento, VP. (2008) Occurrence and Characterization of *Campylobacter* in the Brazilian Production and Processing Of Broilers. Avian Diseases Digest, v. 3, n. 4, p. e27.
- Lehtopolku M, Nakari U, Kotilainen P. et al (2010) Antimicrobial susceptibilities of multidrug-resistant *Campylobacter jejuni* and *C. coli* strains: in vitro activities of 20 antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother 54:1232–1236.
- Luangtongkum T, Jeon B, Plummer P et al (2009) Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. Future Microbiol 4:189–200.
- Macritchie LA, Hunter CJ, Strachan NJ. (2014) Consumer acceptability of interventions to reduce *Campylobacter* in the poultry food chain. Food Control. Jan; 35(1):260-266.
- Melo, RT. (2012). Fatores de patogenicidade e potencial de risco à saúde em *Campylobacter* spp, isolados de carcaças de frangos. Universidade Federal de Uberlândia. Dissertação de mestrado.
- Melo RT, Nalevaiko PC, Mendonça EP, Borges LW, Fonseca BB, Beletti ME, Rossi DA (2013). *Campylobacter jejuni* strains isolated from chicken meat harbour several virulence factors and represent a potential risk to humans. Food Control 33:227–231.
- Moore JE, Barton MD, Blair ID et al (2006) The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. Microbes Infect 8:1955–1966.
- Okada H, Kitazawa T, Harada S et al. (2008) Combined treatment with oral kanamycin and parenteral antibiotics for case of persistent bacteremia and intestinal carriage with *Campylobacter coli*. Intern Med 47: 1363-1366.

- Payot S, Avrian L, Magras C et al. (2006) An investigation of the molecular mechanisms contributing to high-level erythromycin resistance in *Campylobacter*. *Int J Antimicrob Agents* 27: 40-45.
- Redgrave LS, Sutton SB., Webber MA, Piddock LJ. (2014) Fluoroquinolone resistance: mechanisms impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol.* 22,438–445.
- Sierra-Arguello YM, Perdoncini G, Morgan RB1, Salle CT, Moraes HL1, Gomes MJ, do Nascimento VP. (2016) Fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* isolated from broiler slaughterhouses in southern Brazil. *Avian Pathol.* Feb;45 (1):66-72.
- Simaluiza RJ, Toledo Z, Ochoa S et al (2015) The prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in chicken livers used for human consumption in Ecuador. *J Anim Vet Adv* 14:6–9.
- Taylor NM, Wales AD, Ridley AM, Davies RH. (2016) Farm level risk factors for fluoroquinolone resistance in *E. coli* and thermophilic *Campylobacter* spp. on poultry farms. *Avian Pathol.* May 12:1-33.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and Zone diameters. Version 4.0, 2014. www.eucast.org
- Thrusfield M. *Epidemiologia Veterinária*. 2 ed. São Paulo: Rocca, 2004.
- U.S. Food and Drug Administration. (2013) Summary report on antimicrobials sold or distributed for use in food-producing animals. Available from <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/NewsEvents/CVMUpdates/ucm440585.htm>
- Wieczorek K, Denis E, Osek J (2015) Comparative analysis of antimicrobial resistance and genetic diversity of *Campylobacter* from broilers slaughtered in Poland. *Int J Food Microbiol* 210:24–32

530 World Health Organization (WHO) (2014) Antimicrobial Resistance: Global Report on
531 Surveillance, Geneva.

532

533 World Health Organization (WHO) (2015)

534 <<http://www.who.int/topics/campylobacter/en/>>

535

536

537

538

539

540