

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**MÉTODOS DE CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO POR *CAMPYLOBACTER* spp.
EM FRANGOS DE CORTE NA GRANJA AVÍCOLA.**

JESSICA MOREIRA CANNAVON

**PORTO ALEGRE
2014/2**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**MÉTODOS DE CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO POR *CAMPYLOBACTER* spp.
EM FRANGOS DE CORTE NA GRANJA AVÍCOLA.**

Autor: Jessica Moreira Cannavon

Orientador: Vladimir Pinheiro do Nascimento

Coorientadora: Rafaela Bom Morgan

Monografia apresentada à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para obtenção
da Graduação em Medicina Veterinária

**PORTO ALEGRE
2014/2**

DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus grandes amores:
Meus pais, meu irmão e ao meu amor e parceiro
na vida, Gelson.
Obrigada pelo apoio de vocês!!!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Ceres e Gerson, pelo apoio, confiança, dedicação e a motivação de vocês.

Agradeço ao Gelson, meu amor, pelo apoio e ajuda para que eu pudesse desenvolver este trabalho e, principalmente, agradeço a tua paciência perante a minha impaciência, ansiedade e mau-humor, que diversas vezes me acompanharam no decorrer da realização deste trabalho.

Agradeço ao meu orientador, Vladimir Nascimento, por ter aceitado me orientar, me dando, desta forma, um voto de confiança. Para mim é uma honra ter uma pessoa tão importante na área da avicultura e no mundo acadêmico, uma pessoa que tanto entende do assunto que trata este trabalho, como meu orientador. Obrigada!!

E, obviamente, não poderia deixar de agradecer, de forma especial, a pessoa que me ajudou a escrever, mas, mais do que isso, me “ensinou” a escrever. A minha coorientadora Rafaela Bom Morgan. Obrigada pela tua ajuda, paciência e, principalmente, tua dedicação em me auxiliar no decorrer deste trabalho. Certamente, a tua ajuda, os teus conselhos e as tuas dicas foram essenciais no desenvolvimento deste trabalho. Aprendi contigo mais do que tu podes imaginar, foste um verdadeiro mestre, e a bagagem de conhecimento que obtive contigo, levarei para sempre. Obrigada!!

RESUMO

As bactérias termofílicas do gênero *Campylobacter* spp., principalmente as da espécie *C. jejuni* e *C. coli*, são reconhecidas como importantes enteropatógenos humanos, pois causam uma infecção conhecida como campilobacteriose. Trata-se de uma zoonose caracterizada por causar uma gastroenterite aguda, sendo esta infecção transmitida ao homem, mais comumente, pelo consumo de carne de frango mal cozida e pela contaminação cruzada através da manipulação de alimentos contaminados. Devido a sua importância em saúde pública, o controle deste agente é necessário, principalmente, pelo fato de que este patógeno está amplamente distribuído na indústria avícola. *Campylobacter* spp. coloniza o trato intestinal dos frangos de corte, convivendo com estes de forma praticamente comensal. Por isso, o controle da contaminação por este patógeno é importante em todo o processo de produção, assim como, nos processos de comercialização e preparação da carne de frango. Entretanto, o controle da contaminação e da colonização por *Campylobacter* spp. nas granjas avícolas tem uma importância bastante significativa, pois nesta fase é possível a redução da bactéria no trato intestinal das aves o que, conseqüentemente, acarretará na redução da contaminação do produto final. Assim sendo, o objetivo desse trabalho visa realizar uma revisão bibliográfica elucidando de forma clara e objetiva os principais métodos de controle e monitoramento do *Campylobacter* spp. que podem ser utilizados durante o período de criação dos frangos de corte na granja avícola. O presente trabalho não abordará apenas medidas de biossegurança, barreiras sanitárias e práticas de higiene e sanitização que devem ser realizadas nas granjas avícolas, mas também, técnicas emergentes e promissoras no controle desta bactéria, que prometem melhorar a sanidade avícola no que diz respeito à *Campylobacter* spp. durante o período de criação.

Palavras chaves: *Campylobacter*; campilobacteriose; zoonose; saúde pública; controle

ABSTRACT

Thermophilic bacteria of the genus Campylobacter spp. mainly the species C. jejuni and C. coli are recognized as important human- gastrointestinal infection called campylobacteriosis. This zoonosis is characterized for causing an acute gastroenteritis and the infection is most commonly transmitted to man by undercooked chicken meat and by the cross-contamination through the manipulation of contaminated food. Given its importance in public health the control of this agent is necessary primarily given the fact that this pathogen is widespread in the poultry industry. The Campylobacter spp. colonizes the intestinal tract of broiler chickens establishing a commensal relation. Because of it, the control of the contamination of this pathogen is important during all the production process as so it is in the process of commercialization and preparation of the chicken meat. However, the control of the contamination and colonization by Campylobacter spp. in poultry farms has a significative importance because during this phase it is possible to reduce the values of the bacteria in the intestinal tract of the chicken which consequently will result in a reduction of the contamination in the final product. Therefore, the aim of this work is to perform a bibliography revision with the intention of elucidate in a clear and objective way the main monitoring and control methods of the Campylobacter spp. bacteria that can be used throughout the period of raising the broiler chicken in poultry farms. This study will not only talk about biosecurity measures, sanitary barriers and practices of hygiene and sanitization which must be carried out in poultry farms but also bring promising emergent techniques in the control of this bacteria which promise to improve poultry health when it comes to Campylobacter spp. during the period of raising chicken.

Keywords: *Campylobacter; campylobacteriosis; zoonosis; public health; control*

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

%	Porcentagem
/	“por” (p.e.: /g significa “por grama”)
°C	Graus Célsius
µm	Micrometro
ALF	Alimentação Líquida Fermentada
CDT	Toxina Citoletal Distensiva
G	Gramma
GBS	Síndrome de Guillain-Barré
IgG	Imunoglobulinas G
IgY	Imunoglobulinas Y
LOG	Logaritmo
PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase
Ph	Potencial hidrogeniônico/ Potencial de hidrogênio
UBABEF	Associação Brasileira de Proteína Animal
UFC	Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	<i>CAMPYLOBACTER</i> spp.....	10
2.1	<i>C. jejuni</i> e <i>C. coli</i> e as aves de produção.....	12
3	CAMPILOBACTERIOSE.....	15
4	EPIDEMIOLOGIA DA CAMPILOBACTERIOSE.....	19
5	PRINCIPAIS MÉTODOS DE CONTROLE DA COLONIZAÇÃO E DA CONTAMINAÇÃO POR <i>CAMPYLOBACTER</i> spp. NA GRANJA AVÍCOLA.....	21
5.1	Ocorrência de <i>Campylobacter</i> spp. em granjas avícolas.....	21
5.2	Medidas para o controle de <i>Campylobacter</i> spp. em granjas avícolas.....	22
5.2.1	Barreiras sanitárias.....	22
5.2.2	Pessoas e atividades.....	24
5.2.3	Vazio sanitário.....	25
5.2.4	Sistemas <i>all in/ all out</i>	26
5.2.5	Manejos com a cama.....	27
5.2.6	Água e ração.....	28
5.2.7	Reservatórios e vetores.....	30
5.2.8	Estrutura do aviário.....	31
5.3	Técnicas emergentes no controle de <i>Campylobacter</i> spp.....	32
5.3.1	Utilização de ácidos orgânicos.....	32
5.3.2	Utilização de probióticos e prebióticos.....	36
5.3.3	Vacinação.....	40
5.3.4	Imunização passiva.....	42
5.3.5	Uso de bacteriófagos.....	43
5.3.6	Utilização de bacteriocinas.....	45
6	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

O consumo *per capita* da carne de frango no Brasil, desde o ano 2000, aumentou de 29,91 kg/pessoa para 41,80 kg/pessoa no ano de 2013 (UBABEF, 2014). Além disso, o Brasil é o maior exportador de carne de frango do mundo. Em 2013, exportou mais de três mil toneladas desta proteína animal, porém, apesar da posição de destaque que ocupa no *ranking* de exportação mundial, 68,4% da carne de frango produzida no Brasil é destinada para o mercado interno (UBABEF, 2014).

O consumo mundial da carne de frango vem crescendo rapidamente, cerca de 2,5% ao ano, e deverá ultrapassar o consumo da carne suína, atualmente a mais consumida no mundo, antes do ano de 2020 (BEEFPOINT, 2013). Estes valores demonstram que esse tipo proteína animal cada vez mais compõe a mesa do consumidor, não apenas no Brasil mas no mundo. Desta forma, é dever de quem produz a carne de frango produzir um produto inócuo aos consumidores, através do controle e monitoramento de patógenos que são transmitidos por alimentos.

Um dos patógenos emergentes, que é capaz de causar infecção através do consumo de alguns alimentos é o *Campylobacter* spp. Esta bactéria vem sendo reconhecida como a maior causadora de doenças transmitidas por alimentos nos países desenvolvidos (DASTI *et al.*, 2010). As espécies de maior importância são a *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, pois correspondem mais de 90% das infecções associadas a doenças transmitidas por alimentos (BUTZLER, 2004; HUMPHREY *et al.*, 2007; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009; DASTI *et al.*, 2010).

Campylobacter spp. coloniza os frangos de corte, a partir da segunda semana de vida, e mantém com estes uma relação quase comensal, com baixa resposta inflamatória, não gerando doença clínica (JOENS, 2002; YOUNG *et al.*, 2007; GHAREEB *et al.*, 2013; GOMES, 2013). Em humanos, este patógeno causa a campilobacteriose, uma zoonose que é caracterizada por uma gastroenterite aguda (SKIRROW, 1977; MOORE *et al.*, 2005; HUMPHREY *et al.*, 2007; DASTI *et al.*, 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). O patógeno é transmitido ao homem, mais comumente, através do consumo de produtos avícolas, principalmente a carne de frango mal cozida e por contaminação cruzada (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2014).

Estima-se que na Europa ocorram cerca de 200 mil casos de campilobacteriose em humanos todos os anos, já nos Estados Unidos a estimativa é de ocorram mais de dois milhões de casos de pessoas acometidas com a infecção por ano (ALTEKRUSE *et al.*, 1999;

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2014). Devido à importância que esta bactéria possui em saúde pública, e devido aos gastos que a mesma gera para os sistemas de saúde, gerou-se, também, a necessidade de estudos e pesquisas que tornassem possível o controle da disseminação e da contaminação deste agente na produção avícola.

Alguns países do norte da Europa, como Dinamarca, Noruega, Suécia e Islândia, por exemplo, já colocam em prática, a partir de um programa oficial de controle e monitoramento de *Campylobacter* spp., algumas estratégias já estabelecidas e eficientes contra este patógeno (ROSENQUIST, 2009). Sendo assim, o controle e o monitoramento do *Campylobacter* spp. são essenciais e devem ser realizados desde a granja até o produto final que chegará na mesa do consumidor, objetivando desta forma, um produto inócuo ao mesmo (HALD *et al.*, 2001).

A partir destes fatos, é necessário compreender que o principal, porém, não único, foco no controle de *Campylobacter* spp. é na granja avícola, pois esta fase da produção da carne de frango, é a fase onde é possível conseguir a redução da prevalência da colonização e da contaminação pela bactéria no trato intestinal das aves, diminuindo a carga da infecção no momento do abate (EVANS; SAYERS, 2000).

Assim sendo, este trabalho visa elucidar, de forma clara e objetiva, uma série de métodos de prevenção e controle da contaminação e disseminação de *Campylobacter* spp. durante o período de criação dos frangos de corte na granja avícola, para que se consiga, no final do processo, quando os animais forem para o abate, que os mesmos cheguem nessa etapa da produção com o mínimo possível de carga de colonização, reduzindo assim o risco ao consumidor.

O presente trabalho trará uma revisão bibliográfica acerca das principais barreiras higiênicas e técnicas de limpeza e desinfecção, assim como ações de biossegurança, que devem ser realizadas na granja avícola, e também retratará as principais técnicas emergentes de controle desta bactéria que ainda estão em fase de pesquisas e estudos, mas que visam auxiliar o controle deste patógeno.

2 *CAMPYLOBACTER* spp.

O gênero *Campylobacter* pertence à família *Campylobacteriaceae* (HUMPHREY *et al.*, 2007; DASTI *et al.*, 2010), que compreende pequenos bastonetes delgados, Gram negativos. Essas bactérias apresentam-se em forma de bastonetes curvos, espiralados, ou em forma de “S” e anelados. Além disso, não são formadoras de esporos e podem medir cerca 0,5 a 0,9µm de largura e 0,2 a 5,0µm de comprimento (FORSYTHE, 2002; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005; HUMPHREY *et al.*, 2007; GOMES, 2013).

Campylobacter spp. são microrganismos móveis, que realizam movimentos de “sacarrolha”, pois possuem flagelos polares, localizados em uma ou nas duas extremidades de sua forma morfológica (CORRY *et al.*, 1995; GUERRY, 2007; GOMES, 2013). Estas estruturas estão sendo cada vez mais estudadas a respeito de sua importância na patogênese da doença em humanos (GUERRY, 2007).

Em cultivos velhos, ou em condições adversas que causem estresse ao microrganismo, como a presença de oxigênio, baixas temperaturas ou falta de nutrientes, o mesmo pode mudar sua morfologia, apresentando-se na forma filamentosa ou cocóide (FORSYTHE, 2002; GOMES, 2013). Nesta apresentação morfológica, o microrganismo encontra-se em um estado conhecido como viável, mas não cultivável (*Viable but non-culturable*-VBNC), que nada mais é do que um mecanismo de sobrevivência do microrganismo, pois, nesta forma, ele é incapaz de crescer em meios seletivos. Entretanto, quando se encontra em condições favoráveis, pode voltar à sua forma original e causar infecções (CORRY *et al.*, 1995; ALTEKRUSE *et al.*, 1999; FORSYTHE, 2002).

As espécies desse gênero necessitam de condições específicas e ideais para seu crescimento, sendo as principais a temperatura e o ambiente de microaerofilia, que consiste em uma atmosfera, com cerca de 5% de oxigênio, e 10% de gás carbônico e 85% de nitrogênio (ALTEKRUSE *et al.*, 1999; HUMPHREY *et al.*, 2007).

As diversas espécies de *Campylobacter* spp. possuem uma temperatura de crescimento ótimo em torno de 25°C, 37°C e 42°C (GOMES, 2013). As espécies *C. jejuni* e *C. coli*, são termofílicas, crescendo em uma temperatura de 42°C (ALTEKRUSE *et al.*, 1999; HUMPHREY *et al.*, 2007; CORRY *et al.*, 2003 *apud* FREDERICK; HUDA, 2011).

Estes microrganismos são bastante sensíveis ao pH ácido, menor que 5,0, e crescem apenas em uma faixa de pH de 5,5 a 8,0, com valor ótimo próximo à neutralidade (pH 6,5-7,5) (BRASIL, 2008). Possuem sensibilidade à secagem, pois não crescem em ambientes com atividade de água menor que 0,9, e a concentrações elevadas de oxigênio. São sensíveis

também ao congelamento e ao calor, podendo ser destruído por cocção em temperaturas maiores que 55°C, e à salinidade (ALTEKRUSE *et al.*, 1999; FORSYTHE, 2002; SILVA *et al.*, 2011).

Pode ser recuperado de fezes de animais contaminados, principalmente de amostras oriundas de aves, que são reservatórios do agente (CORRY *et al.*, 1995; JACOBS-REITSMA *et al.*, 1995; CARVALHO *et al.*, 2001; BUTZLER, 2004; MOORE, *et al.*, 2005; CHAVES *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2014). Para realizar o isolamento, as amostras devem ser semeadas em meios seletivos contendo antimicrobianos e devem ser incubadas por 48 horas em uma temperatura de 42°C, em uma atmosfera de microaerofilia (SKIRROW, 1977; BOLTON *et al.*, 1984; CORRY *et al.*, 1995). O uso de meios seletivos para este agente, assim como a temperatura adequada e um ambiente de microaerofilia, são fundamentais para o isolamento da bactéria (TOTTEN *et al.*, 1987).

A identificação da bactéria pode ser realizada através da visualização em microscópio de contraste de fase ou em campo escuro, onde as características de motilidade e de morfologia podem ser facilmente observadas (BRASIL, 2008; PERDONCINI, 2012). A coloração de Gram pode ser utilizada como identificação indireta e presuntiva do microrganismo. Carbofucsina é a coloração recomendada para a evidenciação da bactéria (BRASIL, 2008).

Campylobacter jejuni (*C. jejuni*) e *Campylobacter coli* (*C. coli*) possuem metabolismo respiratório, enzima oxidase e podem possuir ou não a enzima catalase. Não fermentam nem oxidam carboidratos, sendo sua energia obtida pela utilização de aminoácidos ou de ácidos intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico (JAY *et al.*, 2005; BRASIL, 2008; CORRY *et al.*, 2003 *apud* FREDERICK; HUDA, 2011; GOMES, 2013).

A diferenciação das espécies *C. jejuni* e *C. coli* pode ser realizada pelo teste bioquímico da hidrólise do hipurato, já que *C. coli* não possui a enzima hipuricase, sendo, então, hipurato negativa, diferentemente de *C. jejuni* que é hipurato positiva (TOTTEN *et al.*, 1987). Totten *et al.* (1987) em estudo realizado, encontraram cepas de *C. jejuni* que eram hipurato negativo, assim como, já identificaram *C. coli* positivas. Portanto, testes bioquímicos para a identificação do gênero e classificação das espécies tornam-se muito subjetivos. Assim, a utilização de técnicas moleculares se faz necessária para que a diferenciação das espécies possa ser realizada com maior confiabilidade no resultado (BRASIL, 2008).

Testes moleculares, como a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR), e suas variantes, estão disponíveis para a identificação de *Campylobacter* spp, pois são capazes de detectar o DNA do microrganismo (HUMPHREY *et al.*, 2007), podendo, desta forma, ser

considerada uma prova fidedigna e efetiva na identificação das espécies da bactéria (SILVA *et al.*, 2011). Esta técnica pode ser usada como uma alternativa aos métodos bioquímicos, pois ela também é capaz de realizar a diferenciação entre *C. jejuni*, *C. coli* e outras espécies, além de permitir o diagnóstico da presença da bactéria em amostras de alimentos contaminados e de detectar baixos números da mesma em uma amostra contaminada. A PCR também é capaz de detectar a bactéria em sua forma viável mas não cultivável (MOORE *et al.*, 2005).

A técnica de Eletroforese em Gel de Campo Pulsado (PFGE), também é bastante eficiente para detectar a bactéria, principalmente em surtos alimentares e análises epidemiológicas. Além destas, existem uma variedade de técnicas moleculares capazes de auxiliar no estudo mais aprofundado destes microrganismos, como mecanismos de virulência e resistência (SILVA *et al.*, 2011; PENDLETON *et al.*, 2013).

2.1 *C. jejuni* e *C. coli* e as aves de produção

C. jejuni e *C. coli* possuem uma relação comensal com as aves e, desta forma, não geram doença nestes animais. Acredita-se que a temperatura das aves favoreça esta relação comensal, pois a predileção destas bactérias pelo trato intestinal das aves pode estar relacionada ao fato das mesmas possuírem temperatura maior que 40°C, tornando esse local um nicho para seu desenvolvimento e multiplicação (YOUNG *et al.*, 2007). Além disso, existem outros mecanismos de interação entre hospedeiro e bactéria que auxiliam para que as aves não desenvolvam a infecção, porém estes mecanismos ainda não foram totalmente elucidados (EVANS; SAYERS, 2000; JOENS, 2004; YOUNG *et al.*, 2007; GHAREEB *et al.*, 2013; GOMES, 2013).

O local primariamente colonizado pela bactéria é a mucosa do trato intestinal das aves (ALLEN; NEWELL, 2005), sendo o seu local de predileção os cecos destes animais. Aves contaminadas possuem uma alta colonização intestinal, que podem variar entre 10⁵ a 10⁹ UFC/g, que serão excretados nas fezes (JACOBS-REITSMA *et al.*, 1995; CORRY; ATABAY, 2001; JOENS, 2004), podendo ser um potencial risco para introdução e disseminação do agente para dentro do aviário (JACOBS-REITSMA *et al.*, 1995; EVANS; SAYERS, 2000).

A contaminação primária entre os frangos de corte ocorre através da transmissão horizontal, pelo contato entre aves e pelo ambiente, como por exemplo, ração, cama, água, pessoas que circulam na granja e, até mesmo, pela contaminação cruzada oriunda de utensílios e equipamentos, como caixas de transporte. O hábito de coprofagia de muitos

animais também pode estar envolvido na introdução da bactéria no lote (JACOBS-REITSMA *et al.*, 1995; NEWELL; FEARNLEY, 2003).

A transmissão aérea de *Campylobacter* spp. é uma forma de disseminação da bactéria que, aos poucos, vem sendo estudada quanto a sua viabilidade na transmissão do agente. Esta suspeita ocorre baseada em estudos que recuperaram *Campylobacter* spp., passíveis de serem submetidos à cultura, do ar e das partículas de poeira em suspensão, em plantas de processamento de frangos de corte (NEWELL; FEARNLEY, 2003; BERRANG *et al.*, 2004; ZHAO *et al.*, 2011).

Muitos pesquisadores têm estudado formas de detectar bactérias transmitidas pelo ar com amostras de bioaerossóis, pois, se comprovada esta rota de transmissão do agente, será possível incluí-la em um programa de controle da bactéria. Porém, ainda não houveram estudos que demonstrassem a viabilidade de utilizar amostras de bioaerossóis para detectar *Campylobacter* spp. através do ar. Por enquanto, pode-se deduzir que a infecção através do ar ocorre quando animais saudáveis, porém suscetíveis, são infectados com o patógeno por animais infectados, estando estes separados fisicamente dos animais saudáveis, mas, o fluxo de ar do ambiente, é o mesmo para todos os animais (ZHAO *et al.*, 2011).

A maioria das técnicas realizadas para amostragem de microrganismos transmitidos pelo ar possuem limitações quanto a sua eficácia quando utilizadas em ambientes com baixa concentração do microrganismo. Assim sendo, mais estudos que comprovem esta via de transmissão na granja avícola devem ser realizados, para que seja possível avaliar métodos de detecção do agente via ar (ZHAO *et al.*, 2011).

Animais de produção, como o gado, o suíno, o ovino, pássaros selvagens, animais domésticos, como cães e gatos, e insetos e pragas podem ser reservatórios de *Campylobacter* spp. e contaminar o ambiente externo, podendo ser carregado para dentro das granjas (KAPPERUD *et al.*, 1992; HALD *et al.*, 2000; CORRY; ATABAY, 2001; HUMPHREY *et al.*, 2007)

Hald *et al.* (2008), demonstraram em um estudo que as moscas, principalmente a *Musca domestica*, pode servir como um vetor na transmissão de *C. jejuni* no lote, podendo ser considerada como um risco de infecção. A mesma preocupação é necessária com os roedores que também podem servir como transmissores desta bactéria, visto que alguns estudos já relataram a presença do microrganismo no trato intestinal destes animais.

Em um estudo, Gerwe *et al.* (2009), demonstraram que a maioria dos lotes se tornam infectados dentro de alguns dias após uma primeira ave ser colonizada. Uma ave contaminada pode, em média, transmitir o patógeno para mais de duas aves por dia. Isto representa que a

prevalência será de 95% de contaminados dentro de uma semana, demonstrando o quão rápida pode ser a disseminação do agente entre as aves.

Evans e Sayers (2000), demonstraram, em estudo feito no Reino Unido, que quando um lote é positivo, conseqüentemente todos os *swabs* cloacais realizados serão positivos dentro de uma semana, o que demonstra a rápida disseminação do patógeno no lote. Estas informações concordam com outros estudos que relatam a extrema rapidez na contaminação de um lote, que ocorre em um período entre duas e quatro semanas (JACOBS-REITSMA *et al.*, 1995; GERWE *et al.*, 2009).

Atualmente não existem indícios da transmissão vertical, sendo esta forma de transmissão ainda não aceita. Apesar da presença desta bactéria no trato reprodutivo das aves de produção, a transmissão via ovo parece não ocorrer. (PEARSON *et al.*, 1993; JACOBS-REITSMA *et al.*, 1995; ALTEKRUSE *et al.*, 1999).

3 CAMPILOBACTERIOSE

Desde a década de 70, quando foi desenvolvido os meios seletivos que permitiram que os laboratórios isolassem *Campylobacter* spp., conseguiu-se isolar amostras oriundas de pacientes com doenças entéricas, desta forma, esta bactéria foi reconhecida como um potencial patógeno em humanos (ALTEKRUSE *et al.*, 1999).

Campylobacter jejuni e *Campylobacter coli* são as espécies de maior importância em saúde pública, pois correspondem a mais de 90% das infecções causadas por *Campylobacter* spp. associados a doenças transmitidas por alimentos (BUTZLER, 2004; HUMPHREY *et al.*, 2007; WHO, 2009; DASTI *et al.*, 2010). O *C. jejuni* é a espécie mais frequentemente isolada em humanos que tiveram a infecção, sendo responsável por mais de 90% das infecções causadas por alimentos e, em menor porcentagem outras espécies como *C. coli* e *C. lari* (HALD *et al.*, 2000; BUTZLER, 2004; JOENS, 2004; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2005; MOORE *et al.*, 2005; DASTI *et al.*, 2010; GHAREEB *et al.*, 2013).

Evans e Sayers (2000), em estudo realizado no Reino Unido, isolaram 88,8% de *C. jejuni* nos lotes estudados, contra apenas 3,4% de *C. coli*. Os autores relatam que isolaram ambos os agentes em 7,9% dos lotes examinados neste mesmo estudo, o que concorda com a afirmação que a espécie *C. jejuni* é a mais prevalente, tanto em lotes de frango, quanto em humanos que tiveram a doença.

Kuana *et al.* (2009), demonstraram que há possibilidade de outras espécies de *Campylobacter* spp. estarem associadas à infecção humana. Estes autores isolaram as espécies *C. jejuni* subsp *doylei*, *C. upsaliensis* e *C. fetus* subsp *fetus*, em menor porcentagem que as mais comuns, a partir de pontos de abate de frangos e também em carcaças.

A transmissão da bactéria para o homem ocorre através do consumo de produtos avícolas, principalmente carne de frango mal cozida (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2014). Porém, a forma mais comum de infecção é pela contaminação cruzada, que ocorre através da manipulação dos alimentos e pela contaminação de utensílios e superfícies.

Diversos tipos de alimentos já foram descritos como responsáveis pela infecção em uma menor prevalência, como a água não tratada e o leite cru. Qualquer alimento que sofrer manipulação pouco higiênica é passível de contaminação pela bactéria, principalmente se este não sofrer tratamento térmico ao ser consumido (ALLOS, 2001, JOENS, 2004; WHO, 2011).

É importante destacar que, para a ocorrência da manifestação clínica da doença, uma pequena dose infecciosa é necessária, apenas 500- 800 células. Isto pode explicar o fato do

número de casos aumentando e superando, até mesmo, os casos de salmonelose que eram os de maior prevalência em doenças transmitidas por alimentos (FORSYTHE, 2002).

Animais de companhia, como os gatos e os cachorros podem ser implicados na transmissão da campilobacteriose aos humanos, pois eles podem estar contaminados com a bactéria. Caso as fezes contaminadas destes animais entrem em contato com uma pessoa, a mesma pode adquirir a doença. Isto foi relatado por Skirrow (1977), em um estudo, onde três casos de campilobacteriose foram associados com o contato entre humanos e cachorros que estavam ou tinham estado com diarreia causada pelo agente em questão. A transmissão da bactéria entre animais domésticos e humanos parece ser mais comum em crianças, devido à forma com que as mesmas brincam e se relacionam com seus animais (JOENS, 2004).

Animais de produção, como gado, ovelha e suíno também podem ser carreadores da bactéria (FRANCHIN *et al.*, 2005), e, portanto podem estar associados na aquisição da infecção em humanos, pela contaminação da carne.

A campilobacteriose é uma doença de caráter zoonótico (WHO, 2000), que é caracterizada por uma gastroenterite aguda. Tendo como principais sinais clínicos diarreia que pode apresentar sangue, dores abdominais, febre, mal-estar, náuseas e, mais raramente, vômitos (SKIRROW, 1977; MOORE *et al.*, 2005; HUMPHREY *et al.*, 2007; DASTI *et al.*, 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011;). O período de incubação da infecção pode ser de dois a dez dias (FORSYTHE, 2002), ou até mesmo de horas, 24-72 horas (JOENS, 2004). Os sinais clínicos da doença podem variar entre pacientes e, em pessoas imunocompetentes, trata-se de uma doença autolimitante (WHO, 2011).

Normalmente os sintomas duram entre três a seis dias, e o tratamento da infecção, geralmente, não se faz necessário. A conduta médica mais comum em pacientes com campilobacteriose é a reposição hídrica e de eletrólitos. O tratamento com antimicrobianos é recomendado apenas em casos mais graves da apresentação da doença, onde a febre é persistente e a fezes são acompanhadas com sangue e, principalmente, se os sintomas perdurarem por mais de sete dias. Os antimicrobianos mais utilizados são a eritromicina, tetraciclina e as quinolonas (BUTZLER, 2004; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Existem relatos da existência de resistência da bactéria perante alguns antimicrobianos. Esta descoberta é um importante problema em saúde pública, devido ao fato de que a utilização de drogas pouco sensíveis no tratamento da doença pode comprometer o mesmo, prolongando a doença e os sintomas clínicos (ALTEKRUSE *et al.*, 1999).

Fluoroquinolonas, como a ciprofloxacina, por exemplo, eram bastante usadas no tratamento da campilobacteriose, entretanto, a partir da década de 80 a resistência bacteriana por esta classe de antimicrobianos foi relatada na Europa, Ásia e América Latina.

Nos Estados Unidos os relatos de resistência surgiram na década de 90, onde de 1990 a 1998, a incidência de cepas resistentes à fluoroquinolonas aumentou 18% (BUTZLER, 2004). É importante ressaltar que o surgimento de resistência em algumas cepas da bactéria contra fluoroquinolonas, coincidiu com a introdução do uso destes medicamentos no exercício da medicina veterinária nestes países (ALTEKRUSE *et al.*, 1999; BUTZLER, 2004; MOORE, *et al.*, 2005).

Este fato concorda com os relatos de muitos pesquisadores que sugerem que o uso de antimicrobianos, como as fluoroquinolonas, tem que ser extremamente prudente na cadeia de produção animal (ALTEKRUSE *et al.*, 1999), assim como no tratamento de doenças em humanos. Para isso, é importante que seja realizado um antibiograma para avaliar a quais antimicrobianos a bactéria é sensível, quando o tratamento com os mesmos for necessário, evitando assim a utilização de medicamento os quais a bactéria é resistente (MOORE *et al.*, 2005).

A patogenicidade da bactéria é multifatorial. Um dos principais fatores de patogenicidade da bactéria, que está associado à sintomatologia clínica em humanos, é a toxina citoletal distensiva (CDT). A ação dessa toxina é interferir em alguma fase do ciclo de divisão celular. Para que a toxina possa penetrar na célula, causando lesões e, conseqüentemente, a sintomatologia, é necessário a expressão dos três genes, *cdtA*, *cdtB* e *cdtC*, que codificam a produção da toxina. Sabe-se que mutações nos genes *cdt* podem causar perda de função, impedindo, assim, as lesões celulares que causam a sintomatologia clínica (YOUNG *et al.*, 2007).

Em uma pequena porcentagem dos casos de campilobacteriose podem ocorrer algumas complicações após a infecção. São elas a Síndrome de Guillain-Barré (GBS), a Síndrome de Miller- Fisher e a Síndrome de Reiter. A espécie *C. jejuni* está mais associada à ocorrência destas síndromes (HUMPHREY *et al.*, 2007; FREDERICK; HUDA, 2011).

A GBS, que ocorre em cerca de 0,1% dos casos, é uma doença neuromuscular aguda, causada pela desmielinização de nervos periféricos, gerando no indivíduo acometido uma paralisia flácida. Estima-se que a incidência seja entre uma ou duas pessoas a cada 100.00 habitantes afetados com a infecção nos Estados Unidos. Tal distúrbio ocorre cerca de uma a três semanas após a gastroenterite e envolve mecanismos imunológicos (ALLOS, 2001). A síndrome de Miller- Fisher trata-se de uma artrite reativa generalizada, enquanto que a

síndrome de Reiter é caracterizada por artrite, uretrite e conjuntivite. Todas estas síndromes são reconhecidas como sequelas raras da campilobacteriose (HUMPHREY *et al.*, 2007; FREDERICK; HUDA, 2011).

4 EPIDEMIOLOGIA DA CAMPILOBACTERIOSE

Nos últimos anos *Campylobacter* spp. vem sendo reconhecida como um patógeno emergente, de grande importância em saúde pública. Segundo dados do *Centers of Disease Control and Prevention* (2014), este agente é um dos maiores causadores de gastroenterites causados por alimentos. Nos Estados Unidos, cerca de 14 casos são diagnosticados a cada 100.000 pessoas na população, sendo que existem casos que não são notificados. A estimativa é de que ocorram cerca 2.1 a 2.4 milhões de casos de pessoas com campilobacteriose nos Estados Unidos por ano (ALTEKRUSE *et al.*, 1999), com 13.000 hospitalizações por causa da doença e, mesmo o óbito devido à infecção sendo incomum, pelo menos 100 mortes em decorrência da infecção ocorrem por ano (SILVA *et al.*, 2011, CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2014).

Nos Estados Unidos, um estudo em laboratórios hospitalares foi realizado durante quinze meses em diferentes partes do país. Os resultados demonstraram que *Campylobacter* spp. foi recuperado em 4,6% das amostras analisadas, seguido por *Salmonella* spp. (2,3%) e *Shigella* spp. (1%) (JAY *et al.*, 2005).

A população de risco em relação à doença envolve crianças, idosos e principalmente imunocomprometidos (MOORE *et al.*, 2005; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011), devido aos riscos de desidratação e convulsões (MOORE *et al.*, 2005). Em países desenvolvidos a doença é mais comum em crianças com menos de cinco anos e jovens e adultos com idade entre 15 e 44 anos (BUTZLER, 2004). Segundo a *World Health Organization* (2009), a doença possui uma incidência significativa em crianças, onde de 100.000 pessoas de uma população, cerca de 40.000 a 60.000 casos ocorrem em crianças com menos de cinco anos, demonstrando uma alta morbidade, porém uma baixa taxa de mortalidade.

Dados da *European Food Safety Authority* (2014), indicam que ocorrem cerca de 200.000 casos a cada ano da infecção, sendo a campilobacteriose a doença transmitida por alimentos mais frequentemente relatada na União Europeia. O custo da campilobacteriose para os sistemas de saúde pública e a perda de produtividade na União Europeia é estimado em cerca de 2.4 bilhões de euros por ano.

Adak *et al.* (2002), relataram que no Reino Unido, de todos os pacientes hospitalizados por doenças de origem alimentar, 82% estavam hospitalizados devido à campilobacteriose. Os autores relataram ainda, que no ano 2000 ocorreram cerca de 360.000 casos de campilobacteriose apenas na Inglaterra e País de Gales.

Na União Europeia os relatos de surtos envolvendo *Campylobacter* spp. são limitados, pois não são comuns, e a maioria dos casos da infecção ocorre de forma esporádica (SILVA *et al.*, 2011). Nos últimos anos, alguns surtos associados à infecção foram relatados em muitos locais no mundo, mesmo assim os relatos não são grandiosos quando comparados a outras doenças transmitidas por alimentos como, por exemplo, a salmonelose.

Em 2005, em Copenhagem, na Dinamarca, houve um relato de surto envolvendo *Campylobacter jejuni* em alimentos que continham carne de frango, em mais de 70 pessoas (MAZICK *et al.*, 2006). Em 2010, no Reino Unido, cerca de 24 pessoas tiveram gastroenterite após a recepção de um casamento, onde 13 casos foram confirmados como sendo campilobacteriose. O alimento em questão foi um patê de fígado de frango, contaminado com a bactéria (INNS *et al.*, 2010). Em 2007, em Roros, na Noruega, houve um surto de *Campylobacter* spp., onde 105 casos foram identificados. A fonte da bactéria foi o consumo de água não tratada de uma fonte subterrânea (JAKOPANEC *et al.*, 2008).

Apesar do grande número de casos de campilobacteriose, e do relato de alguns surtos, a *Salmonella* continua sendo a causa mais frequente de surtos com origem conhecida, porém, a *Campylobacter* é a causa mais frequentemente relatada de doenças de origem alimentar de ocorrência esporádica, mas o menos frequentemente relatado em surtos.

Em países em desenvolvimento, como o Brasil, a taxa de infecção humana não é tão esclarecida quanto nos países desenvolvidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

Pela importância que *Campylobacter* spp. possui em saúde pública, medidas devem ser tomadas para diminuir a colonização intestinal deste patógeno durante a produção na granja, no processamento da carne em abatedouros frigoríficos até chegar à mesa do consumidor, a fim de reduzir as taxas de contaminação em humanos (ALTEKRUSE *et al.*, 1999; HERMANS *et al.*, 2010).

5 PRINCIPAIS MÉTODOS DE CONTROLE DA COLONIZAÇÃO E DA CONTAMINAÇÃO POR *CAMPYLOBACTER* spp. NA GRANJA AVÍCOLA

5.1 Ocorrência de *Campylobacter* spp. em granjas avícolas

O controle e o monitoramento do *Campylobacter* spp. são essenciais e devem ser realizados desde a granja até o produto final que chegará à mesa do consumidor (HALD *et al.*, 2001). Isto ocorre devido ao fato de que a colonização intestinal dos frangos de corte pela bactéria durante a criação é responsável pela contaminação da carcaça no final do processamento dos frangos de corte (KAPPERUD *et al.*, 1993; ALTEKRUSE *et al.*, 1999; REICH *et al.*, 2008). Desta forma, diminuir a colonização na etapa primária, ou seja, dentro das granjas, resulta em uma menor contaminação entre lotes dentro dos abatedouros-frigoríficos.

Além disso, como já foi citada anteriormente, a origem da contaminação dentro das granjas avícolas é multifatorial, com rápida disseminação dentro do aviário, portanto, é necessária a implementação de medidas preventivas que objetivam a redução da probabilidade da colonização de *Campylobacter* spp. no trato intestinal das aves e, também, medidas que visem à redução da colonização já estabelecida, a fim de alcançar um menor número de bactérias colonizando as aves antes do abate, diminuindo, desta forma, a contaminação das carcaças nos abatedouro-frigorífico (EVANS; SAYERS, 2000; HUMPHREY *et al.*, 2007; HERMANS *et al.*, 2011).

Evans e Sayers (2000), relataram a incidência de 81,6% de *Campylobacter* spp. nos 100 aviários estudados no Reino Unido. Estes dados são semelhantes aos dados de Jacobs-Reitsma *et al.* (1995), que isolaram a bactéria em mais da metade dos lotes examinados na Holanda. Gibbens *et al.* (2001), na Grã-Bretanha, recuperaram *Campylobacter jejuni* de 25 dos 26 lotes de frango de corte que participaram desta pesquisa e, em dois lotes, recuperaram *Campylobacter coli*, sendo um deles positivos para ambas as espécies de *Campylobacter* spp.

No Brasil, Franchin *et al.* (2005), detectaram *Campylobacter* termofílicos em 22 dos 24 lotes avaliados que seriam designados á abatedouros- frigoríficos, enquanto Chaves *et al.* (2010), em outro estudo também realizado no Brasil, recuperaram *C. jejuni* em 82,5% das três granjas avícolas pesquisadas, sendo identificado *Campylobacter* spp. em vários pontos da granja, como a cama, fezes e até a água.

Em estudo similar, Carvalho *et al.* (2001), isolaram *Campylobacter jejuni* de amostras de zaragatoas cloacais, camas, ração e das fezes encontradas sob a cama. Tais estudos

concordam também com os achados de Silva *et al.* (2014), que isolaram a bactéria em 61% das amostras de fezes de 17 dos 20 aviários em que foi pesquisado a presença do patógeno, todos na região sul do Brasil. Importante destacar que seis aviários examinados neste estudo obtiveram todas as amostras positivas para *Campylobacter* spp.

Também na região Sul do Brasil, Kuana *et al.* (2007), encontraram 81,8% de contaminação em frangos de uma granja avícola, o que significou que 18 dos 22 lotes estudados eram positivos. Todos estes dados comprovam o fato de que a bactéria está amplamente distribuída em aviários no mundo inteiro, e o Brasil não foge às estatísticas.

Assim como estes, diversos outros estudos relatam alta prevalência do patógeno em granjas avícolas, demonstrando a necessidade do emprego de métodos de controle do *Campylobacter* spp. durante o período de criação dos frangos de corte, dada a importância desta bactéria em saúde pública.

5.2 Medidas para o controle de *Campylobacter* spp. em granjas avícolas

5.2.1 Barreiras sanitárias

Medidas de higiene e de biossegurança dentro da granja avícola têm se mostrado determinantes no controle de *Campylobacter* spp. na produção de frangos de corte. Isso porque, tais medidas resultam na melhoria da sanidade das aves, prevenindo e reduzindo a transmissão de doenças (PASQUALI *et al.*, 2011).

O aviário deve possuir barreiras sanitárias a fim de conseguir a redução dos níveis de infecção por este patógeno nas aves. Estas barreiras, quando usadas de forma correta, são importantes medidas de biossegurança para obtenção de lotes com a menor contaminação possível (HALD *et al.*, 2000). Entretanto, para que se possa adotar medidas eficientes de higiene e biossegurança nos aviários, é necessário possuir conhecimento sobre os mecanismos de introdução do *Campylobacter* spp. para que assim seja possível estimar a taxa de transmissão do patógeno dentro do lote (GERWE *et al.*, 2009).

Estudos epidemiológicos afirmam que as medidas rigorosas de higiene diminuem a carga intestinal de bactérias em animais de produção (ALTEKRUSE *et al.*, 1999), pois estas medidas contribuem para redução do número de aves positivas. Tais estudos concordam com a conclusão de Hald *et al.* (2000), que afirmam que as barreiras sanitárias são medidas efetivas na prevenção de *Campylobacter* spp. em frangos de corte, e a quebra das mesmas é

um risco potencial para a introdução e, conseqüentemente, disseminação do patógeno dentro granja avícola.

Em alguns países escandinavos, principalmente a Suécia e Noruega, o controle de *Campylobacter* spp. na granja avícola é baseado nas medidas de biossegurança, e esta abordagem vem demonstrando ser bastante efetiva, pois as taxas de infecção dos lotes apresentam-se baixas, cerca de 7% por ano (HUMPHREY *et al.*, 2007).

O uso do pedilúvio é uma barreira sanitária de extrema importância para o controle da disseminação de *Campylobacter* spp. e da contaminação cruzada entre galpões com lotes de frangos de corte. A solução desinfetante utilizada no pedilúvio deve ser trocada, pelo menos, uma vez por semana a fim de evitar acúmulo de matéria orgânica e a diluição da solução, diminuindo sua eficácia. A inadequada utilização dos pedilúvios, como a demora na realização da troca da solução desinfetante dos mesmos, ou o uso do pedilúvio de forma eventual, assim como mergulho parcial dos pés na solução do pedilúvio ou passagem muito rápida pelo mesmo, irá acarretar em um aumento no risco de infecção (BERNDTSON *et al.*, 1996; EVANS; SAYERS, 2000).

Estudos realizados em diversos países têm mostrado que granjas que não seguem um padrão de medidas de controle e de biossegurança são as que mais produzem lotes infectados por *Campylobacter* (HUMPHREY *et al.*, 2007). Isto pode ser verificado no estudo de Berndtson *et al.* (1996), onde foi realizado, meses antes do início dos estudos dentro das granjas avícolas, um encontro com os avicultores, em que foram dadas a estes instruções para manter adequadas barreiras de higiene, como por exemplo, a troca de sapatos frequente para entrada em cada galpão. Após a avaliação dos lotes um questionário foi aplicado aos avicultores.

Os pesquisadores relataram que as taxas de infecção por *Campylobacter* spp. de lotes que seguiram de forma inadequada as medidas de higiene foi de 39%, enquanto que os lotes que cumpriram corretamente as medidas de higiene, tiveram uma taxa de infecção de 22%, sendo uma diferença estatística considerável (BERNDTSON *et al.*, 1996). Isto comprova a importância da implementação destes protocolos para que o objetivo, de produzir animais com o mínimo de contaminação por *Campylobacter* spp., seja alcançado efetivamente (HUMPHREY *et al.*, 2007).

A diminuição na colonização por *Campylobacter* spp. nos aviários após a introdução de protocolos de medidas de higiene e biossegurança, têm demonstrado maior efetividade destas ações quando tomadas em conjunto (HERMANS *et al.* 2011; GHAREEB *et al.*, 2013), sendo possível diminuir o nível de infecção por esta bactéria, no momento do abate, de 80%

para menos de 40% (GIBBENS *et al.*, 2001). Em alguns países da Europa, por exemplo, já foram implementadas algumas estratégias de controle e monitoramento a nível oficial (ROSENQUIST *et al.*, 2009).

Portanto, a existência de um padrão de higiene e biosseguridade corretamente seguidos associado com uma baixa lotação dos lotes, são fatores que contribuem para que a prevalência de *Campylobacter* spp. possa diminuir na granja avícola (KAPPERUD, *et al.*, 1993), reduzindo, conseqüentemente, a prevalência da bactéria no momento do abate (EVANS; SAYERS, 2000), produzindo, desta forma, um produto inócuo para ser consumido.

5.2.2 Pessoas e atividades

Organismos que habitam ou que sobrevivem no ambiente externo da granja avícola, o que inclui o *Campylobacter* spp., podem facilmente ser transportados para dentro dos aviários e galpões através de atividades humanas, que estão associadas ao avicultor, aos funcionários da granja, aos visitantes, aos médicos veterinários que visitam os lotes de frango de corte e que, muitas vezes, passam por mais de uma granja no dia, assim como aos transportes e aos equipamentos que chegam à granja, vindos de fora da mesma. Por isso é muito importante que existam na granja barreiras que evitem a entrada do patógeno neste ambiente (NEWELL; FEARNLEY, 2003; HUMPHREY *et al.*, 2007).

Bull *et al.* (2006), recuperaram a *Campylobacter* spp. do ambiente ao redor da granja avícola de seis dos sete lotes infectados por esta bactéria. Em todos os casos, o ambiente foi avaliado e classificado como positivo antes, assim como durante todo o período de criação dos frangos. O local de onde mais se recuperou esta bactéria foram poças d'água, provavelmente porque nestes locais a bactéria se protege da dessecação (BULL *et al.*, 2006).

O patógeno em questão pode ser carregado através de sapatos, roupas, equipamentos e, até mesmo, pneus de automóveis que entram na granja avícola nos momentos de lotação e despopulação da mesma. Estas formas de introdução do *Campylobacter* spp. dentro da granja, ocorrem devido a uma quebra na biosseguridade e, geralmente, esta é uma forma de disseminação da bactéria que é subestimada (HALD *et al.*, 2000; NEWELL; FEARNLEY, 2003, HUMPHREY *et al.*, 2007).

Portanto cuidados e regras de movimentação, as quais incluem o controle da entrada e saída de pessoas e automóveis pelos portões da granja, a lavagem dos meios de transporte ao entrar na granja, incluindo a lavagem dos pneus dos automóveis, assim como, os banhos dos funcionários, lavagens de mãos antes e após os manejos de animais, e sempre que necessário,

a utilização de roupas específicas devidamente higienizadas para os trabalhos dentro da granja, trocas de sapatos ou desinfecção dos mesmos, devem ser estabelecidas a fim de diminuir o risco de introdução do patógeno na granja (HALD *et al.*, 2000; ALLEN; NEWELL, 2005; HUMPHREY *et al.*, 2007; HERMANS *et al.*, 2011, PASQUALI *et al.*, 2011).

Kuana *et al.* (2007), apontaram a necessidade da troca ou sanitização dos sapatos utilizados dentro da granja avícola na entrada de cada lote, evitando, desta forma, a contaminação por *Campylobacter* spp. Berndtson *et al.* (1996), também relataram que, após a adoção de barreiras higiênicas que incluíam, principalmente, a troca de sapatos, os lotes estudados apresentaram uma melhora no *status* sanitário destes.

Jacobs-Reitsma *et al.* (1995), isolaram o mesmo sorotipo de *Campylobacter*, em lotes diferentes, na mesma granja avícola. Isso indica que houve transmissão através de fontes ambientais ou contaminação cruzada através de equipamentos, pessoas ou utensílios.

5.2.3 Vazio Sanitário

Sabe-se que um pequeno número de bactérias pode sobreviver aos procedimentos de higiene e limpeza durante o período de vazio sanitário. Porém, é possível encontrar um aviário sem patógenos sobreviventes depois de adequada limpeza e desinfecção (EVANS; SAYERS, 2000). Entretanto, para que isso seja possível, deve-se remover a cama que fora utilizada anteriormente, durante o período de criação, evitando, sempre que possível, a sua reutilização. Deve-se, também, realizar a limpeza e sanitização do galpão, de preferência, através de uma lavagem com água sob alta pressão, quente e sem detergentes (BERNDTSON *et al.*, 1996).

Após a secagem do galpão, o mesmo pode sofrer um processo de desinfecção com produtos químicos. Desta forma, a rotina de limpeza e desinfecção entre lotes será efetiva, evitando que a *Campylobacter* spp. seja perpetuada entre os ciclos da criação de frangos de corte (BERNDTSON *et al.*, 1996). Isto foi demonstrado em um estudo de Evans e Sayers (2000), em que os pesquisadores relataram que não houve isolamento da bactéria em aviários onde os procedimentos de higiene e desinfecção foram corretamente realizados. Entretanto, isolaram *Campylobacter* spp. de um bebedouro de plástico que não fora corretamente sanitizado.

A correta limpeza e desinfecção, durante o vazio sanitário, não deve ocorrer apenas no aviário, mas também nos utensílios e equipamentos que foram utilizados no ciclo anterior. O

sistema de alimentação automático, utilizado em algumas granjas, pode apresentar a bactéria em altos valores quando comparados com os sistemas tradicionais de alimentação, o que demonstra a probabilidade desse tipo de sistema colaborar com a incidência da bactéria no lote pela maior dificuldade de higienização e sanitização do mesmo (KUANA *et al.*, 2007). Portanto, equipamentos que não facilitam sua adequada sanitização, devem ser evitados de serem utilizados nos galpões.

A escolha do desinfetante a ser utilizado também é bastante importante, pois dependerá dele a eficácia do procedimento de desinfecção. Alguns desinfetantes utilizados em abatedouros-frigoríficos, restaurantes, laboratórios e, até mesmo, em aviários são relatados como eficientes contra *Campylobacter* spp. Os que possuem um bom efeito bactericida são os hipocloritos, o álcool etílico, os compostos iodóforos, quartenário de amônia, glutaraldeído, formalina e cloreto de benzalcônio (WANG *et al.*, 1983).

O uso de produtos químicos comprovadamente eficazes contra o patógeno é um diferencial para que uma maior eficácia do procedimento de sanitização seja obtida, devido ao fato da *Campylobacter* spp. ser sensível a inúmeros desinfetantes, detergentes e condições de baixa umidade (EVANS; SAYERS, 2000). A limpeza e higienização, realizadas de forma eficaz no período de vazio sanitário, podem prevenir o acúmulo de altos níveis de microrganismos patogênicos, reduzindo o risco de disseminação de patógenos entre lotes de uma mesma granja avícola (GIBBENS *et al.*, 2001).

Kapperud *et al.* (1993), demonstraram a importância da realização de um vazio sanitário em um período de tempo mais longo. Apesar de 97% das granjas examinadas neste estudo realizarem ações como a remoção da cama velha, a lavagem e sanitização dos equipamentos e utensílios utilizados durante o ciclo, o período de vazio sanitário, com uma média de 33 dias, ou seja, um período considerado longo, demonstrou ter colaborado significativamente na eficácia do procedimento, sendo eficiente e importante para promover o declínio dos números de *Campylobacter* spp.

Berndtson *et al.* (1996), relataram que as 18 granjas avícolas, examinadas em um estudo, tinham diferentes períodos de vazio sanitário, que variavam entre 10 a 210 dias, com uma média de 38 dias. O aumento da prevalência de lotes *Campylobacter* spp. positivos, foi associado com procedimentos de vazio sanitário de curtos períodos de tempo, demonstrando que existe efetividade na prática de vazio sanitário, quando esta é corretamente utilizada, respeitando um período mínimo de tempo.

5.2.4 Sistemas *all in/ all out*

O sistema *all in/ all out*, onde todos os animais entram e saem do aviário com a mesma idade de produção, é a base para a efetividade de todas as medidas de biosseguridade (PASQUALI *et al.*, 2011). Contudo, uma granja que não utilize este tipo de sistema, ou seja, que realiza uma despopulação parcial do lote, retirando antecipadamente parte dos frangos de um lote, acaba gerando um fator de risco significativo de contaminação por *Campylobacter* spp. devido à quebra na biossegurança, aumentando a incidência do patógeno e o risco de infecção nas aves que restaram no aviário (HALD *et al.*, 2001; NEWELL; FEARNLEY, 2003; EFSA, 2010). Segundo Hald *et al.* (2001), o risco de lotes com positividade para *Campylobacter* spp. no abate é maior em lotes que foram divididos.

5.2.5 Manejos com a cama

A cama das aves geralmente é feita de material absorvente, como casca de arroz, lascas de madeira, amendoim, entre outros materiais e, desta forma, ela pode introduzir patógenos dentro do aviário (PASQUALI *et al.*, 2011). Por isso, a cama limpa e seca não permite que *Campylobacter* spp. sobreviva nestas condições, pois cria-se um ambiente seco e rico em oxigênio, do qual a bactéria é sensível (NEWELL; FEARNLEY, 2003).

A reutilização da cama, prática comumente utilizada pelos avicultores em geral, aumenta a probabilidade de incidência de *Campylobacter* spp. no lote, devido à possibilidade de perpetuação desta bactéria. O tratamento da cama, como a fermentação e aeração, em caso de reutilização, e a correta secagem e limpeza devem ser realizadas a fim de diminuir a probabilidade de contaminação do lote. (MONTROSE *et al.*, 1984; KUANA *et al.*, 2007).

Um período longo de vazio sanitário corretamente realizado, associado com limpeza e desinfecção do aviário, assim como a correta limpeza e tratamento da cama, pode garantir a redução de *Campylobacter* spp. que ainda estejam neste local, ofertando um ambiente com menor probabilidade de contaminação por esta bactéria no novo lote que irá residir no galpão (HALD *et al.*, 2000).

Berndtson *et al* (1996), relataram que frangos de corte expostos à camas com maior umidade durante o período de crescimento, foram mais frequentemente positivos para *Campylobacter* spp., concordando com o que já foi citado anteriormente, que a cama limpa e seca pode não ser um fator de risco na transmissão desta bactéria. (NEWELL; FEARNLEY, 2003).

Pearson (1993), detectou que *Campylobacter* spp. não foi isolado da cama exposta ao patógeno, provavelmente pela interferência de outros microrganismos existentes neste local

ou pela produção de produtos de degradação produzidos pela compostagem da cama. Entretanto, Bull *et al.* (2006), recuperaram *Campylobacter* spp. da cama dos frangos de corte, em lotes que eram positivos para esta bactéria. Embora a cama possa ser contaminada com as fezes das aves, esta dificilmente pode ser considerada como um vetor na transmissão do patógeno caso a correta limpeza e desinfecção, associada com o vazio sanitário, tenha sido feita entre os lotes, assim como, a substituição da cama (GHAREEB *et al.*, 2013).

Montrose *et al.* (1985), em contrapartida, concluíram, após realizar estudos experimentais em frangos de 14 dias de idade, alocados em gaiolas isoladoras do tipo *Horsfall*, que a cama pode ter um papel significativo na perpetuação e transmissão de *Campylobacter* spp. dentro do galpão. Estes autores relataram que os frangos *Specific pathogen-free* (SPF), que foram colocados em camas contaminadas previamente, excretaram a bactéria em questão por até 46 dias. Além da contaminação da cama, houve também a contaminação da água ofertada aos animais através de unidades da cama que foram levadas aos bebedouros pelos animais, demonstrando a contribuição que a cama e a contaminação ambiental podem ter na rota de transmissão e perpetuação desta bactéria. Porém, mais estudos devem ser realizados para detectar a real potencialidade da cama na transmissão horizontal de *Campylobacter* spp.

5.2.6 Água e ração

Uma das fontes de contaminação horizontal por *Campylobacter* spp. na granja avícola incluem a água oferecida aos animais (KAPPERUD *et al.*, 1993; PEARSON *et al.*, 1993; CHAVEERACH *et al.* 2002), principalmente se esta não sofreu tratamento, pois a mesma pode ser contaminada com matéria fecal e outros contaminantes, como partes da cama, por exemplo, (CHAVEERACH *et al.*, 2002; HUMPHREY *et al.*, 2007). Portanto, é muito importante que os lotes recebam água tratada, com os níveis de cloro dentro dos padrões permitidos e com controle de qualidade (HUMPHREY *et al.*, 2007).

Diferentemente da água, a ração não é considerada uma fonte potencial de contaminação devido a sua baixa umidade, pois *Campylobacter* spp. não poderia sobreviver nessas condições devido sua sensibilidade à baixa umidade e presença de oxigênio (BERNDTSON *et al.*, 1996; ALTEKRUSE *et al.*, 1999; NEWELL; FEANRLEY, 2003; PASQUALI *et al.*, 2011).

Frangos de corte provenientes de lotes positivos para *Campylobacter* spp., podem ser associados aos lotes que não recebem água tratada em comparação com os lotes livres da

bactéria. A utilização de água não tratada, pode ser associada com o aumento do risco de colonização pela bactéria (KAPPERUD *et al.*, 1993). Assim sendo, a oferta de água não clorada aos animais é implicada como uma fonte de transmissão horizontal da contaminação dentro do lote (PEARSON *et al.*, 1993; KAPPERUD *et al.*, 1993), já que *Campylobacter* spp. é altamente sensível a cloração e ao tratamento da água (BLASER *et al.*, 1986), e esta deve ser realizada a fim de prover uma adequada desinfecção da mesma (WANG *et al.*, 1983; KAPPERUD *et al.*, 1993), diminuindo o crescimento deste agente (BLASER *et al.*, 1986).

Evans e Sayers (2000), demonstraram em um estudo, que mais de 80% dos lotes estudados utilizavam água clorada, e por isso era improvável que a água fosse uma fonte de transmissão primária do patógeno, o que reforça a ideia que a cloração da água pode ser útil no controle da colonização de *Campylobacter* spp.

A correta limpeza e desinfecção do tanque de fornecimento de água, assim como dos materiais que serão utilizados para ofertar água às aves, possui um efeito de proteção considerável. Portanto, a garantia da higienização da água realizada com a frequência adequada e a higiene dos equipamentos de fornecimento da mesma, são ações que diminuem o risco de contaminação pelo patógeno dentro do lote de frangos de corte (KAPPERUD, *et al.*, 1993; PEARSON, *et al.*, 1993; EVANS; SAYERS, 2000; GIBBENS *et al.*, 2001). Evans e Sayers (2000), apontaram a inadequada limpeza e desinfecção do tanque principal de água do aviário como um risco de infecção para o lote, visto que a matéria orgânica presente na água diminui a efetividade da ação do cloro pela alteração do pH da água (WANG *et al.*, 1983).

A taxa de infecção de lotes onde os bebedouros são diariamente e corretamente higienizados é menor em relação aos bebedouros que não são limpos adequadamente (BERNDTSON *et al.*, 1996). Porém, a cloração da água ofertada aos animais não parece ser efetiva como medida única de controle na contaminação de frangos de corte, demonstrando que outras medidas, como a limpeza dos tanques e dos bebedouros, por exemplo, devem ser empregadas em conjunto (STERN *et al.*, 2002).

O tipo de sistema bebedouro também deve ser analisado a fim de evitar que as aves consigam depositar matéria orgânica na água, como fezes e partes da cama, diminuindo assim, o efeito bactericida do cloro sobre os microrganismos. (WANG *et al.*, 1983; BERNDTSON *et al.*, 1996). Bebedouros que permitam o acesso direto das aves à água, como os do tipo pendular, podem ter papel importante na transmissão da bactéria (HUMPHREY *et al.*, 2007).

Bebedouros do tipo *nipple*, são preferidos devido a sua estrutura, pois evitam o acúmulo de água em bandejas e, desta forma, evitam a deposição de fezes, partes da cama e penas na água, desfavorecendo a contaminação por *Campylobacter* spp. (VAZ, 2008).

Em estudo realizado, foi comparado os dois tipos de bebedouros mais comumente utilizados em granjas avícolas, *nipple* e pendular (*bell drinkers*), quanto à qualidade microbiológica da água em relação à presença de coliformes fecais e totais, aeróbios mesófilos, bolores e leveduras. Os resultados obtidos indicaram que os bebedouros *nipple* apresentaram índices de contaminação da água inferiores aos apresentados pelos bebedouros pendulares, apesar de ambos estarem com a contaminação acima do limite neste estudo (VALIAS; SILVA, 2001). Isto demonstra que, por não permitir o acúmulo de água, os bebedouros *nipple* colaboram com a melhor qualidade da água, pois evitam as sujidades e contaminantes ambientais.

Portanto, para evitar que água seja uma fonte de transmissão horizontal de *Campylobacter* spp. dentro da granja avícola, ações como o tratamento da água apenas não são suficientes, deve-se incluir a limpeza de tanques e bebedouros, além da escolha de bebedouros mais adequados.

5.2.7 Reservatórios e vetores

Roedores podem carrear *Campylobacter* spp. em seu trato intestinal e excreta-lo pelas fezes, por isso devem ser evitados a fim de diminuir o risco de colonização dos frangos de corte dentro do aviário (KAPPERUD et al., 1993; BERNDTSON et al., 1996; SAHIN et al., 2002). Portanto, é importante que o aviário tenha um programa efetivo de controle de roedores. Evan e Sayers (2000), demonstraram que roedores não foram uma fonte importante de infecção por *Campylobacter* spp. na população estudada, e isso pode ter sido devido ao fato de que todos os locais de estudo tinham um programa de controle de roedores que foi efetivo, demonstrando a importância da realização destes programas de controle de roedores.

A presença de animais domésticos, de produção, animais selvagens e, até mesmo, animais invertebrados, como besouros e outros, no entorno do aviário, também pode representar um risco para a contaminação do frango de corte (HALD et al., 2000; REFRÉGIER-PETTON et al., 2001; HUMPHREY et al., 2007). Deste modo, é necessário evitar que diferentes espécies de animais tenham contato com os frangos de corte dos lotes da granja, pois estes animais podem agir como hospedeiros reservatórios da bactéria e, desta

forma, transmitir *Campylobacter* spp. para os frangos nos galpões, aumentando a prevalência deste patógeno na granja avícola (HUMPHREY *et al.*, 2007).

Os insetos podem agir como um vetor mecânico na transmissão da *Campylobacter* spp., podendo transmitir esta bactéria para os animais reservatórios do agente, como os animais de produção, domésticos e selvagens, que podem, por sua vez, transmitir o patógeno para os frangos de corte. Estes vetores podem, também, ter papel na transmissão da bactéria entre frangos de corte de diferentes lotes situados na mesma granja avícola (SAHIN *et al.*, 2002).

Insetos como as moscas, em especial a *Musca domestica*, apresentam-se como um risco de infecção, pois eles podem transmitir o patógeno através da ventilação de ar (HALD *et al.*, 2007; HALD *et al.*, 2008). O uso de telas de proteção em aviários contra estes insetos é efetivo, pois estas telas agem como uma barreira mecânica, evitando a entrada dos insetos dentro dos lotes, auxiliando, desta forma, na redução da prevalência de lotes positivos para *Campylobacter* spp (HALD *et al.*, 2007).

Ainda afirmando a importância dos insetos no papel da transmissão e perpetuação da bactéria, Jacobs-Reitsma *et al.* (1995), demonstraram em um estudo que *Campylobacter* spp. foi isolada de insetos, como besouros e cascudinhos, encontrados no aviário em diferentes ocasiões, mas sempre após o isolamento da bactéria em frangos ser positivo. Os mesmos autores ainda relataram que sorotipos idênticos foram isolados dos insetos e dos frangos de corte dentro do aviário que pertenciam à mesma granja, mas de lotes situados em galpões diferentes. Isto parece indicar a existência de uma rota de transmissão dos insetos para os frangos, não descartando a hipótese do contrário, que também parece ser verdadeiro.

A presença de insetos na cama, como os besouros e cascudinhos, também é um fator importante porque pode aumentar o risco de contaminação por *Campylobacter* spp (REFRÉGIER-PETTON *et al.*, 2001). Berndtson *et al.* (1996), associaram a presença de insetos (coleópteros, *Alphitobius* spp.), encontrados na cama, à lotes positivos para *Campylobacter* spp. Porém, apesar desta bactéria poder sobreviver nestes vetores e, apesar da persistência destes insetos entre os ciclos de produção dentro do galpão, *Campylobacter* spp. não poderia sobreviver às medidas e barreiras higiênicas, além da secagem da cama no período de vazio sanitário entre lotes e, desta forma, a possibilidade destes insetos servirem como vetores eficazes na transmissão da bactéria é diminuída, apesar de ser possível.

5.2.8 Estrutura do aviário

A estrutura do aviário e seu estado de conservação também podem influenciar na probabilidade da transmissão e disseminação da *Campylobacter* spp, aumentando o risco de ocorrer infecção por esta bactéria. Evans e Sayers (2000), afirmam que barreiras efetivas de higiene incluem diversos fatores, sendo um deles o estado de conservação das estruturas dos aviários. Estes mesmos autores demonstraram que metade de todos os aviários que se encontravam em um bom estado de reparação e conservação eram livres da infecção por *Campylobacter* spp. até os 35 dias de vida das aves quando comparados com menos de um quarto dos aviários que necessitavam de reparos.

O uso de concreto e outros materiais de fácil limpeza e rápida secagem, auxiliam a manutenção das práticas de higienização e sanitização no aviário (HALD *et al.*, 2000; HUMPHREY *et al.*, 2007) e, conseqüentemente, facilitam a manutenção dos protocolos de sanitização e o controle da disseminação do patógeno dentro da granja avícola. O sistema de ventilação do aviário também pode influenciar no risco de infecção, pois ventiladores de teto, por exemplo, são mais difíceis de limpar e higienizar, por isso, os mesmos representam um risco maior de infecção quando comparado com ventiladores laterais, que são mais acessíveis para a limpeza (GIBBENS *et al.*, 2001).

5.3 Técnicas emergentes no controle de *Campylobacter* spp.

5.3.1 Utilização de Ácidos orgânicos

Ácidos orgânicos são opções de aditivo alimentar, que também podem ser utilizados na água, que funcionam de forma preventiva com intuito de reduzir a prevalência de *Campylobacter* spp. nos frangos de corte (HERMANS *et al.*, 2011). Os ácidos orgânicos são amplamente utilizados para preservar produtos alimentícios em países da Europa, pois os mesmos são seguros e não deixam resíduos nos alimentos. Alguns produtos comerciais utilizam ácidos orgânicos, e estes podem ser adicionados na alimentação das aves em uma concentração de 0,2%, sendo capaz, desta forma, de reduzir os níveis de *Campylobacter* spp. abaixo dos limites de detecção (CHAVEERACH *et al.*, 2002).

Chaveerach *et al.* (2002), em um estudo *in vitro*, concluíram que a adição de ácidos orgânicos de cadeia curta tais como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico e o ácido hidrolórico, quando usados individualmente ou, preferencialmente, em combinação na água a ser fornecida às aves, a um pH 4.0- 4.5, possuem um forte efeito bactericida contra *Campylobacter* spp., podendo prevenir ou diminuir a transmissão deste patógeno dentro do

aviário. O uso de ácidos orgânicos, em sistemas de abastecimento de água nas criações de frangos de corte, pode ser uma forma efetiva de reduzir a contaminação horizontal oriunda da água contaminada dentro do lote de aves, mas apenas essa medida de controle da disseminação do patógeno não é suficiente para evitar a disseminação da bactéria dentro do aviário.

Em um estudo com frangos de corte de onze dias de idade, foi demonstrado que a acidificação da água através do uso de ácidos orgânicos, pode ser uma medida estratégica de biossegurança na redução da disseminação de *Campylobacter* spp., já que neste estudo o microrganismo não foi encontrado na água acidificada. Foram encontradas também, aves livres deste patógeno após mais de duas semanas do início do experimento. Este tipo de tratamento da água não pareceu causar danos nas células epiteliais do trato digestivo das aves (CHAVEERACH *et al.*, 2004b).

Byrd *et al.* (2001), demonstraram que a contaminação do papo de frangos de corte com a *Campylobacter* spp. foi significativamente reduzida através do tratamento com ácido láctico, em uma concentração de 0,5% na água durante o jejum hídrico pré-abate das aves. A adição de ácido láctico na água, evita que o papo seja colonizado por bactérias patogênicas, incluindo a *Campylobacter* spp., pois nesta fase da produção existe a tendência de crescimento microbiano neste local, seja pela privação de alimento, que pode levar a ave a ingerir materiais contaminados, ou pelo aumento do pH do papo que leva a um ambiente favorável ao desenvolvimento de muitos microrganismos (BYRD *et al.*, 2001).

Suplementar a alimentação das aves pode promover uma melhora na microflora do trato intestinal, contribuindo no controle de *Campylobacter* spp. (GHAREEB *et al.*, 2013). Gerwe *et al.* (2010), avaliaram o efeito da suplementação alimentar com ácidos graxos de cadeias curtas e médias, misturados na alimentação dos frangos de corte inoculados com a *Campylobacter* spp. Os resultados obtidos demonstraram que houve a redução da colonização do microrganismo a partir do quarto dia após a inoculação. Além disso, o número de patógenos requeridos para colonizar 50% dos frangos de corte inoculados foi, aproximadamente, 200 vezes maior nos frangos que receberam a suplementação na alimentação. Desta forma, a introdução desta ação nas granjas avícolas pode tornar-se uma forma de controle promissora para a redução da suscetibilidade de contaminação dos frangos de corte. Entretanto mais estudos e experimentos são necessários para definir a utilização desta técnica, apesar dos resultados positivos e motivadores.

A suplementação com ácido caprílico, um ácido graxo de cadeia média, possui efeito bactericida e tem seu uso caracterizado como seguro pela *Food and Drug Administration*

(FDG) na alimentação dos frangos de corte, podendo reduzir, significativamente, a colonização cecal por *C. jejuni* em frangos de corte, quando usado de forma profilática (SOLIS DE LOS SANTOS *et al.*, 2008).

Em estudo realizado por Solis de Los Santos *et al.* (2008), foi demonstrado que a dose de ácido caprílico a ser utilizada não deve ser alta, pois, desta forma, os animais tendem a diminuir o consumo de alimento e, conseqüentemente, o de ácido caprílico. A ação deste ácido na redução de *Campylobacter* spp. em frangos não é bem compreendida, mas acredita-se que exista um efeito antimicrobiano ou um efeito indireto, similar a ação de pré ou probióticos, onde o ácido caprílico é capaz de alterar as condições da microflora entérica tornando-a menos favorável à ação da *Campylobacter* spp.

Em trabalho semelhante, buscou-se analisar a eficácia da utilização de ácidos graxos de cadeia média como aditivo alimentar, administrados em frangos de 28 dias de idade, três dias antes da eutanásia destas aves, para o controle de *Campylobacter* spp. Os resultados obtidos foram que, apesar do efeito bactericida *in vitro* desses ácidos graxos terem demonstrado eficácia, a suplementação alimentar com os mesmos não demonstrou redução dos níveis de *Campylobacter* no ceco dos animais estudados (HERMANS *et al.*, 2010). Para os autores deste estudo, a concentração do ácido utilizado foi baixa, levando a resultados opostos ao encontrado no estudo de Solis de Los Santos *et al.* (2008). Isto pode ocorrer, pois a mucosa intestinal provavelmente tem efeito protetor para *Campylobacter* spp. no ceco das aves, por isso, a eficácia demonstrada *in vitro* não ocorreu *in vivo* (HERMANS *et al.*, 2010). Além disso, a falha no tratamento de ácido caprílico pode ter ocorrido devido à diferença na formulação do ácido na alimentação dos animais, onde, no experimento de Solis de Los Santos *et al.* (2008), as concentrações cecais obtidas eram maiores do que no estudo de Hermans *et al.* (2010). Outras diferenças como propriedades de *C. jejuni* cepa-específica, diferenças genéticas entre as aves utilizadas nos estudos de ambos autores e, até mesmo, diferenças na dieta, influenciando a bioquímica do ceco, podem ter levado aos diferentes resultados obtidos (HERMANS *et al.*, 2010).

O efeito da alimentação líquida fermentada (ALF), com alta concentração de ácido láctico e ácido acético produzido pela bactéria fermentadora *Lactobacillus plantarum*, nas aves de corte pode levar a uma resistência das aves à colonização por *Campylobacter* spp., ou seja, aves que recebem ALF levam mais tempo para tornarem-se contaminadas perante àquelas que recebem alimentação seca tradicional. A administração da ALF para os frangos de corte não evita a transmissão horizontal, apenas auxilia no aumento da resistência das aves à colonização pela bactéria, podendo ocorrer a colonização (HERES *et al.*, 2003).

A eficácia da ALF já havia sido comprovada para *Salmonella* spp., pois o uso desse tipo de suplementação com ácidos orgânicos possui efeito bactericida e também diminui o pH do papo e da moela. Em conjunto tais ações mostraram-se eficazes para reduzir a suscetibilidade da colonização por *Salmonella enteritidis* e para *Campylobacter* spp. (HERES *et al.*, 2003).

A utilização da ração tradicional comercial umedecida, suplementada com *Lactobacillus plantarum* para obter uma alta concentração dos ácidos acético e lático, também é uma forma de utilização de ácidos orgânicos estudada, que visa a redução da suscetibilidade das aves perante o *Campylobacter* spp. e a *Salmonella* spp., sendo sua eficácia demonstrada por Heres *et al.* (2004).

Mudanças na composição do alimento oferecido às aves pode melhorar a microflora gastrointestinal destas. Aditivos alimentares com antimicrobianos derivados de plantas, por exemplo, podem ser administrados no primeiro dia de vida dos frangos de corte a fim de prevenir a colonização por *Campylobacter* spp. no aviário e, conseqüentemente, a transmissão dentro do lote (HERMANS *et al.*, 2011).

O ácido sórbico e alguns de seus sais, como o sorbato de potássio, são amplamente utilizados como agentes antimicrobianos na preservação dos alimentos (SKANSENG *et al.*, 2010). Assim como os sorbatos, o ácido fórmico também tem mostrado, em diversos estudos, que possui um efeito bactericida bastante considerável (CHAVEERACH *et al.*, 2002). Skanseng *et al.* (2010), testaram o efeito de várias combinações destes agentes antimicrobianos adicionados à ração peletizada, visando diminuir a colonização de *Campylobacter* spp. nos frangos de corte de um dia de vida. Os autores relataram que a combinação do ácido fórmico com o sorbato teve um bom efeito protetor contra a colonização por *C. jejuni*, diferentemente de quando foram usados individualmente. O efeito de diferentes concentrações de ácido fórmico com sorbato foram testados, sendo a elevada concentração desta combinação a que apresentou o melhor resultado na prevenção contra o patógeno no trato gastrointestinal dos frangos de corte. Um efeito significativo foi obtido quando foram utilizados 2% de ácido fórmico na alimentação das aves. Entretanto, os resultados deste trabalho demonstraram que o sorbato e o ácido fórmico devem ser utilizados em combinação e não individualmente, para que melhores resultados sejam obtidos.

Ainda neste mesmo estudo, foi observado que as aves que receberam alimentação suplementada com sorbato e ácido fórmico tiveram uma redução total dos números de *C. jejuni* no papo. Isto ocorreu porque a suplementação alimentar com ácido fórmico aumenta a concentração deste ácido no papo, reduzindo a concentração de ácido lático no mesmo local,

sendo esta redução atribuída à redução das bactérias ácido láticas do papo das aves. Não houve nenhuma mudança na composição da flora total do ceco das aves submetidas a este estudo, diferentemente do que se percebeu no papo das mesmas (SKANSENG *et al.*, 2010).

Muitos estudos demonstraram a existência de variadas opções de ácidos orgânicos que podem ser utilizados como aditivos, seja na água ou na alimentação dos frangos de corte, e que possuem capacidade de reduzir a colonização de *Campylobacter* spp. nos lotes. Entretanto, nenhum estudo mostrou ainda, uma completa inibição do patógeno (SKANSENG *et al.*, 2010).

Apesar dos resultados motivadores que diversos estudos vêm demonstrando, existe a necessidade de mais pesquisas para encontrar concentrações ótimas para a utilização dos ácidos orgânicos, além da necessidade do desenvolvimento de protocolos para os métodos de uso destes ácidos como suplemento na alimentação ou como tratamento da água, visando garantir o efeito preventivo da utilização desta técnica, e tornando-a viável para ser utilizada a campo (SKANSENG *et al.*, 2010; GHAREEB *et al.*, 2013).

5.3.2 Utilização de probióticos e prebióticos

Uma flora intestinal saudável e equilibrada é muito importante para o desenvolvimento da imunidade de todos os animais, incluindo os frangos de corte. A combinação de uma imunidade eficaz com uma flora intestinal benéfica protegerá os animais contra possíveis patógenos entéricos (HUMPHREY *et al.*, 2007).

Frente a este fato, existe outra consideração importante, que é a preocupação com o uso de antimicrobianos na produção de frangos de corte em muitos países, pelo fato da resistência de patógenos frente a alguns antimicrobianos utilizados em avicultura. Com isso, a diminuição do uso desses medicamentos na criação de frangos de corte vem ocorrendo e, por isso, formas de manter a saúde animal sem utilizar, ou utilizando o mínimo possível, estes agentes são bastante pesquisadas (HERMANS *et al.*, 2011; PASQUALI *et al.*, 2011).

O uso da exclusão competitiva através da administração de probióticos, e o uso de prebióticos, apesar de serem técnicas conhecidas, mas que ainda são novas na avicultura podem ser alternativas seguras para prevenir a colonização das aves pelo *Campylobacter* spp. A exclusão competitiva é uma medida profilática que vem sendo estudada quanto a viabilidade de uso. Baseia-se na administração de uma microflora entérica benéfica que tem como objetivo aumentar a resistência do animal perante as bactérias patogênicas, utilizando o

antagonismo bacteriano entre ambas as bactérias para que o objetivo seja alcançado (BHASKARAN *et al.*, 2011; GHAREEB *et al.*, 2013).

Tais microrganismos benéficos que são administrados aos frangos são derivados, na maioria das vezes, da flora intestinal de aves adultas e saudáveis (PASQUALI *et al.*, 2011), tendo como consequência uma competição com as bactérias patogênicas. A competição entre as bactérias não ocorre apenas pelos nutrientes mas também, pelos sítios de adesão na parede do intestinal (GHAREEB *et al.*, 2013).

As culturas a serem utilizadas nesse processo incluem um extenso número de microrganismos e uma diversidade de gêneros e espécies, variando de bactérias ácido láticas até bactérias anaeróbias estritas. A administração poderá ser realizada no primeiro dia de vida das aves, porém pode-se administrar em qualquer momento da vida do animal, priorizando aqueles momentos que são mais estressantes (JIN *et al.*, 1996; NURMI; RANTALA, 1973 *apud* PASQUALI *et al.*, 2011). As formas de administração podem ser através de pulverização (*spray*), no incubatório, que parece ser mais eficaz do que a administração através da água ofertada aos animais no aviário, geralmente no primeiro dia de vida (MEAD, 2000).

Bhaskaran *et al.* (2011), em estudo *in vitro*, obtiveram sucesso no desenvolvimento de uma técnica que visa pré selecionar microrganismos cecais, capazes de reduzir o crescimento de *Campylobacter* spp., para serem utilizados na exclusão competitiva. Através deste estudo, foi possível identificar 23 bactérias cecais que demonstraram consistente habilidade para reduzir o crescimento de *Campylobacter* spp, o que motiva maiores estudos acerca desta técnica.

De modo geral, os mecanismos de ação dos probióticos e prebióticos incluem competição por substratos, produção de compostos tóxicos capazes de inibir patógenos e competição por sítios de ligação no intestino do hospedeiro. As maiores pesquisas e utilização comercial destes suplementos ocorrem no Japão e na Europa e, em menor quantidade, nos Estados Unidos (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003), demonstrando que mais estudos devem ser realizados a fim de comprovar a eficácia do uso destas técnicas.

Probióticos são utilizados para exercer a exclusão competitiva e podem ser compreendidos como sendo um suplemento alimentar microbiano vivo que afeta o animal que irá fazer consumo do mesmo de forma benéfica, a fim de melhorar o equilíbrio microbiano da flora intestinal deste animal e inibindo o crescimento de bactérias patogênicas, por competição, principalmente (FULLER, 1989; JIN *et al.*, 1996).

Chaveerach *et al.* (2004a), em estudo *in vitro*, demonstraram que bactérias nativas isoladas de animais adultos podem prevenir, em animais jovens, a colonização por *Campylobacter* spp. A cepa *Lactobacillus* (P93) demonstrou propriedades probióticas perante *Campylobacter* spp. que, provavelmente, se dão pela combinação da produção de ácidos orgânicos e a provável produção de peptídeos antimicrobianos. A criação de um ambiente fisiológico restritivo ou a produção de substâncias semelhantes a antimicrobianos por exclusão competitiva, pode ter um papel bastante significativo na prevenção da colonização de *Campylobacter* spp. em frangos de corte (CHAVEERACH *et al.*, 2004a). Ainda assim, existem poucos estudos que demonstram um possível papel dos probióticos na prevenção da colonização por *C. jejuni*, sendo necessário mais estudos sobre o mecanismo e a eficácia destas técnicas (GHAREEB *et al.*, 2013).

Schoeni e Wong (1994), demonstraram em estudo *in vivo* que a combinação de *Citrobacter diversus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, que ocupam o mesmo nicho que *C.jejuni* na camada de muco das criptas cecais das aves, quando expostas a exclusão competitiva, foram fortemente eficazes em prevenir ou reduzir a colonização de *C. jejuni* em aves recentemente inoculadas com o patógeno. Carboidratos também parecem melhorar a eficácia da exclusão competitiva, pois inibem a aderência da bactéria à parede intestinal e diminuem o pH cecal, influenciando a população bacteriana intestinal.

Desta forma, estes autores associaram o uso de carboidratos como a manose, com o uso da exclusão competitiva e foi concluído que essa combinação protege muito mais do que quando a exclusão competitiva foi utilizada sozinha. Além disso, a manose, quando utilizada sozinha, também reduziu a colonização de *C. jejuni*, porém quando este carboidrato é utilizado em combinação os resultados são mais eficientes. O uso da lactose, outro carboidrato, *ad libitum*, começando no primeiro dia de vida do pintinho, aumenta a eficácia da exclusão competitiva e pode ser adicionado à técnica para melhores resultados (SCHOENI e WONG, 1994).

A utilização de probióticos, em uma formulação contendo uma cultura mista de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium* e *Bifidobacterium thermophilus*, em uma quantidade de $1.0^4 \times 10^8$ ufc/g, também parece ser efetiva na redução dos valores de *C. jejuni*, quando suplementados na alimentação dos frangos de corte. Esta dieta não parece interferir na performance de crescimento das aves, o que demonstra o potencial que esta técnica possui no controle da bactéria em questão (WILLIS; REID, 2008).

A cepa PCB 133 da *Bifidobacterium longum*, oriundo do trato gastrointestinal humano, possui uma interessante atividade antimicrobiana contra cepas de *C. jejuni* (LMG

8842 e 221/05) *in vitro* e *in vivo*, podendo ser empregado como aditivo na alimentação de frangos de corte (SANTINI *et al.*, 2010). Propriedades importantes da *B. longum* PCB 133 é que, além de ter ação antimicrobiana frente ao *C. jejuni*, ela consegue sobreviver no trato gastrointestinal das aves e também sobrevive frente às condições de processamento dos alimentos administrados aos frangos, podendo ser utilizada como suplemento (SANTINI *et al.*, 2010). O efeito bactericida apresentado pela *B. longum* provavelmente resulta da produção de ácidos orgânicos, que já se mostrou, em outros estudos, bastante eficaz contra *Campylobacter* spp. (CHAVEERACH *et al.*, 2004b).

A utilização de probióticos específicos aviários, ou seja, probióticos isolados do intestino de aves saudáveis como *Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus salivarius* e *Lactobacillus reuteri*, administrados como suplementação em frangos de corte de um dia de vida, demonstrou ser capaz de reduzir a colonização cecal por *C. jejuni*. Isso parece ocorrer devido à existência de uma atividade inibitória ou antimicrobiana das múltiplas espécies de probióticos contra *C. jejuni* (GHAREEB *et al.*, 2012). Estes microrganismos que compõe o probiótico, possuem alto potencial para serem utilizados na suplementação alimentar de frangos de corte, devido sua capacidade de reduzir a colonização cecal por *C. jejuni* e também, devido a modificação da microflora intestinal, tornando-a mais saudável. Este estudo indica que é significativamente promissor o uso de probióticos específicos aviários para o controle de *Campylobacter jejuni* durante o período de criação dos frangos de corte (GHAREEB *et al.*, 2013).

Os prebióticos, por sua vez, são definidos como um suplemento alimentar microbiano não digestível que afeta de forma benéfica o animal que o consumir, pois o mesmo estimula o crescimento e a atividade de um número limitado de bactérias intestinais (GIBSON; ROBERFROID, 1995 *apud* PATTERSON; BURKHOLDER, 2003). Os prebióticos mais utilizados na indústria avícola são os oligossacarídeos, como os produtos de frutooligossacarídeos (FOS), porém os mananoligossacarídeos (MOS) também vêm sendo utilizados para este fim (PATTERSON; BURKHOLDER, 2003). Poucos estudos foram conduzidos sobre a eficácia da utilização de prebióticos na redução de *Campylobacter* spp. em frangos de corte, necessitando de mais pesquisas sobre a utilização destas técnicas.

Assim como os prébioticos, o uso dos probióticos ainda necessitam de mais estudos e pesquisas que comprovem sua viabilidade, exequibilidade e eficácia no controle de *Campylobacter* spp., apesar de, como visto anteriormente, muitos estudos já demonstrarem a potencialidade destas técnicas em auxiliar na resistência das aves frente ao *Campylobacter* spp.

5.3.3 Vacinação

Na avicultura comercial, a vacinação é um método de controle de enfermidades há muito tempo estabelecido e efetivo contra diversos patógenos. Porém, a vacinação contra *Campylobacter* spp. ainda não está disponível para uso comercial (ZOETE *et al.*, 2007; LIN, 2009). Para que haja sucesso na vacinação de frangos de corte, alguns padrões devem ser conhecidos, como por exemplo: a resposta protetora deverá ser induzida rapidamente em frangos, pois os mesmos entram em contato com *Campylobacter* spp. ainda muito jovens; a imunidade gerada deve ser cruzada entre *C. jejuni* e *C. coli*, pois estas duas espécies juntas compreendem um grande número de diversos sorotipos que podem infectar os frangos; a vacina deve ter um custo-benefício favorável e ser fácil a aplicação massiva em lotes de frangos de corte; e, por fim, a vacina deve ser segura, tanto para os animais quanto para humanos, além de não deixar resíduos (ZOETE *et al.*, 2007).

A vacina precisa prevenir, ou causar uma significativa redução da colonização do patógeno no trato intestinal dos animais. Atualmente, como já citado, ainda não existem vacinas com tais características disponíveis no mercado mundial. Porém, diversos estudos e estratégias de desenvolvimento de vacinas eficientes contra o *Campylobacter* spp. vem sendo realizados (ZOETE *et al.*, 2007).

A forma como a bactéria interage com as aves sem gerar uma grande resposta imune, ainda é muito pouco conhecida, mas sabe-se que esta é bastante moderada e de baixa intensidade, devido a baixa resposta inflamatória e danos nos tecidos do intestino (LIN, 2009).

A via de vacinação também parece ser importante, sendo a vacinação por via oral, a que possui melhor eficácia, pois auxilia na redução da colonização intestinal deste patógeno, mais especificamente no ceco, local de predileção pelo microrganismo (LIN, 2009).

Uma forma de produzir uma vacina contra *Campylobacter* spp., que vem sendo bastante estudada, é a utilização de vetores vivos capazes de expressar um antígeno desta bactéria, gerando uma resposta imune. Uma cepa avirulenta de *Salmonella* spp., capaz de expressar um antígeno para *Campylobacter jejuni*, foi avaliada quanto a sua eficácia como um protótipo de vacina viva bivalente. Foram utilizados três genes de *C. jejuni*, *cjaA* (*cj0982c*), *cjaC* (*cj0734c*), *cjaD* (*cj0113*), codificados em proteínas altamente imunogênicas conservadas em diferentes sorotipos de *Campylobacter*. Estes foram introduzidos dentro da *Salmonella entérica* sorovar *Typhimurium* (χ 4550 e χ 3987) e administrados, por via oral, em frangos de corte de um dia de vida (WYZYNSKA *et al.*, 2004).

Após a última dose, verificou-se a produção de imunoglobulinas G, contra *C. jejuni*. A vacina provocou uma grande redução da habilidade das cepas selvagens heterólogas, ou seja, aquelas de campo, em colonizar o ceco das aves, o que resultou em uma redução significativa da colonização pela bactéria. O gene de *C. jejuni*, *cjaA*, obteve os melhores resultados, demonstrando que a vacinação de frangos de corte, utilizando uma vacina recombinante com uma cepa de *Salmonella* carreando o gene *cjaA*, pode ser uma abordagem segura e eficaz no combate de *C. jejuni* futuramente (WYZYNSKA *et al.*, 2004).

Outro estudo com a utilização de um vetor vivo, neste caso a *Salmonella typhimurium* mutant-1 (STM-1) atenuada, foi realizado com intuito de verificar a eficácia desta bactéria em transferir antígenos de *Campylobacter* spp. a frangos de corte. Foram utilizados quatro antígenos de *Campylobacter* spp, que foram clonados em plasmídeos e inseridos, em um sítio específico, dentro da STM-1. A vacinação utilizando 10^7 UFC da STM-1 foi administrada, por via oral, em frangos de corte com uma semana de idade (SAXENA *et al.*, 2013).

Os resultados demonstraram que houve uma redução na colonização por *C. jejuni* nas aves vacinadas, porém a máxima redução da colonização foi de dois a 3log, o que ainda não seria suficiente para a produção de uma vacina comercial, onde pelo menos, 5log de redução seriam desejados para torná-la eficiente e viável (SAXENA *et al.*, 2013).

A utilização da STM-1 demonstra ser eficiente, quando em combinação com antígenos mais eficazes, desta forma, é possível aumentar a redução da colonização da bactéria utilizando a STM-1 como vetor, através da utilização de antígenos mais capazes. Entretanto, a identificação de antígenos adequados é um dos maiores obstáculos no desenvolvimento da vacinação contra *Campylobacter* spp., pois a eficácia desta técnica depende justamente desta escolha (SAXENA *et al.*, 2013). Outro desafio na produção de uma vacina eficaz e viável contra *Campylobacter* spp., é o curto tempo de vida dos frangos de corte, o que dificulta a indução de uma forte resposta imune contra o patógeno (LIN, 2009).

Estudos recentes no USDA Richard B. Russel *Agricultural Research Center* em Athens, nos Estados Unidos, identificaram uma potencial vacina contra *Campylobacter* spp. Diversas proteínas purificadas do microrganismo foram testadas para avaliação de sua capacidade imunogênica, e apenas uma proteína em especial foi identificada, chamada *FliD*. Esta proteína foi comum a todas às 21 cepas de *Campylobacter jejuni* e demonstrou ter características imunogênicas em frangos de corte sendo, desta forma, a que possui maior potencial para ser utilizada na produção de uma vacina eficaz contra *Campylobacter* (U.S. POULTRY AND EGG ASSOCIATION).

A característica imunogênica da mesma, além de agir contra a bactéria, irá gerar anticorpos, viabilizando o monitoramento da bactéria durante a produção dos frangos de corte. Entretanto, mais estudos serão necessários para verificar se esta proteína tem potencial para que se possa produzir uma vacina viável e eficaz para ser utilizada *in ovo*, porém, a sua descoberta já é um evento motivador nos estudos atuais (YEH *et al.*, 2014).

5.3.4 Imunização passiva

Sabe-se que a imunidade materna possui um papel importante de proteção contra a colonização por *Campylobacter* spp. durante as primeiras três semanas de vida dos pintinhos (CAWTHRAW; NEWELL, 2010). A partir destes fatos, a utilização da imunização passiva, que baseia-se na ação das imunoglobulinas “Y”, vêm sendo bastante pesquisada demonstrando ser uma técnica promissora no controle de *Campylobacter* spp., pois é capaz de reduzir a colonização do patógeno nos frangos de corte. É importante ressaltar que as imunoglobulinas “Y”, ou “IgY”, são as maiores classes de imunoglobulinas nas aves, sendo estas passadas da galinha para o embrião no ovo através da gema (HERMANS *et al.*, 2014).

Segundo Tsubokura *et al.* (1997), frangos de corte de 34 dias de idade infectados pela bactéria, foram tratados com duas doses de imunoglobulinas de origem bovina, oriundas do leite de vacas imunizadas com uma mistura de cepas de *C. jejuni* (NCTC 11168, 11322 e 12 isolados clínicos), demonstraram uma significativa redução na média dos níveis de *Campylobacter* spp., o que resultou em 82% de redução nos níveis de *Campylobacter* no momento do abate.

Ao comparar a eficácia terapêutica dos anticorpos de origem bovina com os anticorpos de galinhas, observa-se que não há efeitos biológicos significativamente diferentes entre ambos os tipos de anticorpos, pois ambos levam a redução dos níveis da bactéria algumas horas após o tratamento. Porém, a concentração reduzida dos níveis da bactéria não é mantida, e a mesma retorna a níveis similares aos de pré-tratamento seja com anticorpos de galinhas, seja com anticorpos de bovinos. Este aumento nos níveis da bactéria pode ser devido ao hábito de coprofagia dos frangos de corte, o que parece ser um fator complicador (TSUBOKURA *et al.*, 1997).

Uma sugestão do uso da imunização, é realizar a administração de imunoglobulinas imediatamente antes de pontos importantes e críticos como o abate, visando diminuir o número de bactérias, assim como, a contaminação durante o processamento da carne de

frango (TSUBOKURA *et al.*, 1997), evitando o aumento dos níveis do patógeno após o tratamento.

Galinhas poedeiras de 19 semanas de idade, foram imunizadas com frações de proteínas hidrofóbicas ou com um total de células lisadas oriundas de *C. jejuni* (cepa KC40), produzindo anticorpos contra esta bactéria. A fração de imunoglobulinas “Y” retirada da gema dos ovos destas matrizes foi utilizada para suplementar a alimentação de frangos de corte, de seis dias de idade. Alguns frangos receberam imunoglobulinas “Y” oriundas das frações de proteínas hidrofóbicas, outros com um total de células lisadas. A utilização de células totais lisadas de *C. jejuni*, apresentou uma acentuada redução da bactéria no conteúdo cecal, e demonstrou maior eficácia que o uso da proteína hidrofóbica (HERMANS *et al.*, 2014).

Este estudo demonstrou também, que a produção de IgY foi intensamente induzida nas gemas de ovos das galinhas, em que a produção de um título de anticorpos de 1:16000, foi determinado por teste de sorologia. É importante ressaltar que apenas na gema de ovo foram induzidas as IgY, e apenas essa imunoglobulina, visto que outros tipos de imunoglobulinas, como A e M, não foram significativamente produzidas. Isto indica que a gema possui relevância biológica para a captura de imunoglobulinas para a realização da imunização (HERMANS *et al.*, 2014).

Portanto, a gema hiperimune é capaz de reduzir o conteúdo cecal dos animais e auxiliar em uma redução significativa da transmissão do patógeno. Entretanto, ainda são necessárias mais pesquisas antes de uma produção comercial ser iniciada, principalmente para o desenvolvimento de uma técnica eficaz contra cepas heterólogas de *C. jejuni*, e para o estabelecimento de protocolos de utilização desta técnica, observando o período de proteção pós-inoculação que a mesma induzirá (HERMANS *et al.*, 2014).

5.3.5 Uso de Bacteriófagos

Um ponto motivador na procura por métodos de controlar e tratar diversos patógenos na avicultura é o fato de que o uso de antimicrobianos torna-se cada vez mais controverso, devido ao aumento da resistência de diversos patógenos, inclusive muitos importantes em saúde pública. Sendo assim, a terapia com bacteriófagos pode vir a ser uma saída importante para a redução do uso de antimicrobianos, podendo auxiliar a medicina veterinária futuramente (WAGENAAR *et al.*, 2005; CARVALHO *et al.*, 2010).

Bacteriófagos são parasitas virais altamente específicos por espécies de bactérias, sendo assim, possuem um impacto mínimo nas populações da microbiota que não são aquelas que eles possuem especificidade. Seguindo essas premissas, o uso bacteriófagos específicos de *Campylobacter* spp. vêm sendo estudado e pesquisado, e parece ter capacidade de reduzir a colonização de *C. jejuni* e *C. coli* em frangos de corte. Bacteriófagos específicos para *Campylobacter* spp. podem ser encontrados no conteúdo intestinal dos frangos, sendo mais frequente em animais de criação livre e em pássaros expostos ao ambiente, como os pássaros selvagens (PASQUALI *et al.*, 2011). Estas informações são importantes para que a utilização de bacteriófagos obtenha sucesso, pois é necessária a utilização de um patógeno alvo, no caso *Campylobacter*, para que se consiga isolar os fagos que se deseja utilizar na técnica. Desta forma, os fagos recuperados terão alta especificidade e ação, melhorando a efetividade da técnica (CARVALHO *et al.*, 2010).

Bacteriófagos líticos, pertencentes aos *Myoviridae*, das cepas 69 (NCTC 12669) e 71 (NCTC 12671), foram testados para avaliar seu efeito no controle da colonização por *C. jejuni* em frangos jovens, e demonstraram serem capazes de diminuir a colonização por esta bactéria no ceco dos frangos. A redução, inicialmente, foi de aproximadamente 3logs, além disso, o tratamento com bacteriófagos não mostrou nenhum efeito adverso nos frangos tratados. Os bacteriófagos são capazes de permanecer viáveis ao transitar pelo trato gastrointestinal dos animais, sem causar nenhum dano. A mistura das duas cepas fagos 69 e 71, não interferiu na ação dos bacteriófagos individualmente e possivelmente, a utilização de dois bacteriófagos ou mais, simultaneamente, pode melhorar a redução bacteriana por mais tempo (WAGENAAR *et al.*, 2005).

Uma sugestão do uso desta técnica, é que a mesma seja realizada um dia antes do abate, pois, após a administração do bacteriófago, os valores da bactéria cairão justamente nesta fase crítica, podendo assim obter um efeito máximo de redução da colonização da bactéria neste período. Portanto, verifica-se que o uso da terapia com bacteriófagos diminui consideravelmente os níveis de colonização da bactéria e não causam efeitos colaterais nos animais tratados, demonstrando o quanto esta técnica parece ser promissora para ser utilizada no controle do patógeno e, conseqüentemente, no controle da campilobacteriose humana (WAGENAAR *et al.*, 2005).

A ocorrência de resistência dos fagos pela bactéria pode ocorrer. Segundo estudo realizado por Carvalho *et al.*, (2010), cepas de *Campylobacter* resistentes aos fagos foram recuperadas de animais tratados com a terapia em uma frequência de 13%. Esta resistência foi verificada também em experimentos *in vitro* por estes autores, demonstrando que a bactéria é

capaz de adquirir resistência naturalmente. Entretanto, os fagos podem ser selecionados por cepas resistentes a fim de evitar ao máximo que haja resistência das bactérias frente ao tratamento. O aparecimento de resistência pode ser um dos principais desafios na utilização desta técnica (CARVALHO *et al.*, 2010).

É importante também, que os fagos sejam completamente inativados em sistemas *all in/all out* de produção para que seu uso continue efetivo, evitando que haja resistência em lotes subsequentes. A rotatividade do uso de diferentes bacteriófagos também é importante para evitar o surgimento de resistência por parte das bactérias (WAGENAAR *et al.*, 2005).

Carvalho *et al.* (2010), realizaram um estudo utilizando bacteriófagos, com o objetivo de testar a eficácia da administração desta terapia na diminuição da infecção por *C. jejuni* e *C. coli*, comparando duas vias diferentes de administração: a gavagem oral e a suplementação com fagos via alimentação dos animais. Os três fagos (ϕ CcoIBB35, ϕ CcoIBB37 e ϕ CcoIBB12) que formavam o *cocktail* neste estudo, eram fagos isolados do trato intestinal de aves domésticas, que são sabidamente líticos contra *C. jejuni* e *C. coli*.

Os resultados demonstraram que houve uma redução dos valores de *Campylobacter* nos animais que receberam o *cocktail* de fagos em aproximadamente $2\log_{10}$ UFC/g., além disso, não houve qualquer sintoma de doença ou stress pelo uso dos fagos. Mesmo após a administração destes, os valores de colonização da bactéria permaneceram constantes, inclusive, durante todo o período do estudo, indicando que os fagos administrados aos animais, tanto por gavagem oral quanto via alimentação, são capazes de se replicar e, desta forma, são capazes de reduzir a colonização por *Campylobacter*. A utilização desta técnica pouco antes do abate pode ser considerada, pois é uma forma de superar o problema de resistência da bactéria frente aos bacteriófagos. Quanto à forma de administração desta terapia, recomenda-se a administração dos fagos na alimentação das aves por ser uma forma viável e prática de ser realizada a campo, diferentemente da gavagem, que deve ser realizada de forma individual, o que parece ser inviável na granja avícola (CARVALHO *et al.*, 2010).

5.3.6 Utilização de bacteriocinas

As bacteriocinas são peptídeos antimicrobianos produzidos por bactérias capazes de destruir ou inibir o crescimento de outras bactérias que são taxonomicamente relacionadas com a cepa produtora (SCHULZ *et al.*, 2003). As bacteriocinas são capazes de matar apenas bactérias estreitamente relacionadas com as bactérias produtoras do peptídeo (GHAREEB *et al.*, 2013), sendo então, classificadas como espécies específicas.

Estes peptídeos agem com uma baixa afinidade por diferentes alvos na membrana do microrganismo, o que os tornam diferentes dos antimicrobianos, que possuem alta afinidade por um único alvo. Desta forma, com este mecanismo de ação a aquisição de resistência pelo hospedeiro não é comum, assim como a baixa prevalência de bacteriocinas mutantes resistentes (PASQUALI *et al.*, 2011).

Stern *et al.* (2006), realizaram um estudo utilizando a bacteriocina OR-7 purificada da bactéria *Lactobacillus salivarius*, cepa NRRL B- 30514. Esta bacteriocina foi encapsulada e adicionada ao alimento dos frangos de corte de sete dias de idade. Os animais foram adquiridos e divididos em grupos no dia do nascimento. Os resultados demonstraram que o tratamento utilizando esta bacteriocina foi eficaz e reduziu significativamente a população de *Campylobacter* dos cecos dos animais tratados. A diferença da intensidade de colonização da bactéria entre os animais tratados com a bacteriocina e os animais não tratados foi significativa, demonstrando que o uso desta técnica possui potencial para ser utilizada futuramente na redução de *C. jejuni* em frangos de corte, preferivelmente antes do abate.

Uma bacteriocina purificada e microencapsulada, oriunda das bactérias *Paenibacillus polymyxa* (NRRL-B-30509) e *Lactobacillus salivarius* (NRRL-B- 30514), foi utilizada em um estudo para avaliar sua potencialidade em reduzir a população de *C. jejuni* do conteúdo cecal de frangos de corte infectados com esta bactéria, quando administradas misturadas ao alimento destes animais. Houve uma redução significativa, de pelo menos 6logs, da colonização do patógeno no conteúdo cecal dos frangos de corte. Porém, a suplementação com a bacteriocina na água dos animais em uma dose de 3.5- 25mg/ave, durante três dias antes do abate, obteve resultados ainda mais efetivos com a eliminação total de *C. jejuni* em 90% dos casos (SVETOCH; STERN, 2010).

A simplicidade desta técnica a torna facilmente exequível pelos funcionários da granja, tornando-a viável de ser praticada em larga escala dentro dos lotes de frangos de corte (SVETOCH; STERN, 2010). Entretanto, mais estudos sobre a técnica e seus protocolos são necessários.

Line *et al.* (2008), isolaram do ceco de aves, a bactéria *Enterococcus durans* cepa NRRL B- 30745, que foi identificada como antagonista de *C. jejuni*. Através desta bactéria foi produzida uma bacteriocina conhecida como enterocina E 760, capaz de inibir o crescimento de diversos patógenos de frangos de corte, sendo muitos deles patógenos com importância em saúde pública, como diversas espécies de *Salmonella* spp. e mais de 20 espécies de *Campylobacter* spp. A enterocina E 760 pode ser reconhecida como uma bacteriocina anti-*Campylobacter*.

O resultado da utilização da enterocina E 760 na alimentação dos frangos de corte, quatro dias antes do abate, demonstrou que houve significativa redução dos níveis de *Campylobacter* nos cecos dos frangos de corte. Além disso, a microbiota benéfica não é afetada pelo tratamento. Desta forma, este tratamento possui um grande potencial de utilização na criação de frangos de corte, não só no controle de *Campylobacter* spp., mas também no controle de outros patógenos importantes em saúde pública. Ensaio de campo para a análise da exequibilidade da utilização a nível comercial desta técnica são necessários, pois doses e protocolos devem ser testados para que a utilização comercial possa ser eficaz e viável quanto ao custo-benefício (LINE *et al.*, 2008).

Diversas técnicas vêm sendo estudadas e demonstram potencialidade para uso no controle e na redução de *Campylobacter* spp. Provavelmente, em pouco tempo, poderemos contar com técnicas eficazes, viáveis e exequíveis, capazes de controlar e reduzir a contaminação dos frangos de corte pela bactéria, fazendo com que estes animais cheguem com o menor nível possível de contaminação pelo patógeno no abatedouro-frigorífico, diminuindo assim, o risco de campilobacteriose na saúde humana.

6 CONCLUSÃO

Foi demonstrado neste estudo, que uma forma eficaz de evitar a contaminação por *Campylobacter* spp. no produto final é reduzindo a carga de bactérias no trato intestinal das aves antes da sua chegada ao abatedouro-frigorífico, ou seja, durante o período de criação destes animais. Isto pode ser possível, através do controle dos níveis desta bactéria na granja avícola.

As medidas de biosseguridade são de importância incontestável para a manutenção da sanidade avícola, e sua exigência é fundamental para a realização de boas práticas na produção de aves de corte. Entretanto, estas medidas são facilmente rompidas no dia-a-dia da granja, devido a grande movimentação de funcionários, veterinários, caminhões de rações, além do manejo com os animais. Desta forma, técnicas que reforcem o controle da bactéria, aliadas às medidas de biosseguridade, são necessárias.

Todas as técnicas que foram elucidadas ao longo desta revisão, exercem um papel muito importante no controle da *Campylobacter* spp., podendo ser utilizadas em diferentes momentos durante a criação dos frangos de corte, demonstrando serem capazes de diminuir os valores do patógeno, principalmente quando utilizadas dentro de um protocolo eficiente, ou seja, cada uma em seu momento dentro do período de criação.

Através dos resultados motivadores sobre as diversas técnicas emergentes no controle de *Campylobacter* spp., provavelmente, em pouco tempo poderemos contar com as mesmas para alcançar o objetivo de conseguir que os frangos de corte cheguem com o menor nível possível de contaminação pelo patógeno no abatedouro-frigorífico, diminuindo assim o risco de campilobacteriose na saúde humana.

REFERÊNCIAS

- ADAK, G. K.; LONG, S. M.; O' BRIEN, S. J. Trends in indigenous foodborne diseases and deaths, England and Wales: 1992 to 2000. **Gut**, London, v. 51, n. 6, p. 832- 841, Dec. 2002.
- ALLEN, V. M.; NEWELL, D. G. Evidence for effectiveness of biosecurity to exclude *Campylobacter* from poultry flocks. **Food Standards Agency Report**. 28pgs. Feb.2005.
- ALLOS, B. M. *Campylobacter jejuni* Infections: Update on Emerging Issue and Trends. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 32, n. 8, p.1201- 1206, Apr. 2001.
- ALTEKRUSE, S. F. *et al.* *Campylobacter jejuni*—an emerging foodborne pathogen. **Emerging Infectious Diseases**. Atlanta. v. 5, n.1, p. 28-35. Jan/Feb. 1999.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL- UBABEF. União brasileira de avicultura. **Relatório Anual**, 2014. São Paulo. Disponível em: < <http://www.ubabef.com.br/publicacoes>>. Acesso em: Novembro, 2014.
- BEEFEPOINT. *Carne de frango deve se tornar a mais consumida do mundo, ultrapassando a carne suína*. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/cadeia-produtiva/carne-de-frango-deve-se-tornar-a-mais-consumida-do-mundo-ultrapassando-carne-suina-entenda-porque/>>. Acesso em Novembro, 2014.
- BERNDTSON, E. *et al.* A 1- year epidemiological study of campylobacters in 18 Swedish chicken farm. **Preventive Veterinary Medicine**, Colorado, v. 26, n. 3, p. 167- 185. Apr. 1996.
- BERRANG, M. E.; NORTHCUTT, J. K.; DICKENS, J. A. The contribution of airborne contamination to *Campylobacter* counts on defeathered broiler carcasses. **Journal of Applied Poultry Research**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 1-4, 2004.
- BHASKARAN, H. P. *et al.* *In vitro* selection of enteric microflora for potential use as a competitive exclusion culture against *Campylobacter* in poultry. **International Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 12, p. 940- 945, 2011.
- BLASER, M. J. *et al.* Inactivation of *Campylobacter jejuni* by chlorine and monochloramine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 51, n. 2, p. 307-311, Feb. 1986.
- BOLTON, F. J.; HUTCHINSON, D. N.; COATES, D. Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 19, n. 2, p. 169- 171, Feb. 1984.
- BRASIL. *Campylobacter* spp: Diagnóstico laboratorial, métodos clássicos e moleculares **Ministério da Saúde**. São Paulo, 35 pgs. 2008.
- BULL, S. A. *et al.* Sources of *Campylobacter* spp. colonizing housed broiler flocks during rearing. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 1, p. 645- 652, Jan, 2006.
- BUTZLER, J. P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. **Clinical Microbiological and Infection**, Bruxelas, v.10, n.10, p. 868- 876, Oct, 2004.

BYRD, J. A. *et al.* Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. **Poultry Science**, Champaign, v. 80, n. 3, p. 278-283, Mar, 2001.

CARVALHO, A. C. F. B. *et al.* *Campylobacter* em granja avícola. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 96, n. 540, p. 191-195, Out/Dez. 2001.

CARVALHO, A. D. *et al.* The *in vivo* efficacy of two administration routes of phage cocktail to reduce numbers of *Campylobacter coli* e *Campylobacter jejuni* in chickens. **BioMed Central Microbiology**. v. 10: 232, 2010.

CAWTHRAW, S. A.; NEWELL, D. G. Investigation of the presence and protective effects of maternal antibodies against *Campylobacter jejuni* in chickens. **Avians Diseases**, Ithaca, v. 54, n. 1, p. 86-93, Mar, 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION- CDC. National center for emerging and zoonotic infectious diseases. **Campylobacter**, 2014. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/>>. Acesso em: Setembro de 2014.

CHAVEERACH, P.; KEUZENKAMP, D. A.; LIPMAN, J. L.; VAN KNAPEN, 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, n. 3, p. 330-334, Mar, 2004 (b).

CHAVEERACH, P.; KEUZENKAMP, D. A.; URLINGS, H. A.; LIPMAN L. J.; VAN KNAPEN, F. In vitro study of organic acids on *Campylobacter jejuni/coli* populations in mixtures of water and feed. **Poultry Science**. Champaign, v. 81, n. 5, p. 621- 628, May, 2002.

CHAVEERACH, P.; LIPMAN, L. J. A.; VAN KNAPEN, F. Antagonistic activities of several bacteria on *in vitro* growth of 10 strains of *Campylobacter jejuni/coli*. **International Journal of Microbiology**, Amsterdam, v. 90, n. 1, p. 43- 50, Jan, 2004 (a).

CHAVES, S. O. C. *et al.* Ocorrência de *Campylobacter* em granjas e abatedouros avícolas na mesorregião metropolitana de Belém, PA, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiás, v.11, n. 3, p. 554-560, Jul/Set, 2010.

CORRY, J. E. L.; ATABAY, H. I. Poultry is a source of *Campylobacter* and related organisms. **Journal of Applied Microbiology**. Symposium Supplement, Oxford, v. 90, p. 96-114, 2001.

CORRY, J.E. *et al.* Culture media for the isolation of campylobacters. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdan. v. 26, n. 1, p. 43-76. June, 1995.

DASTI, J. I.; TAREEN, A. M.; LUGERT, R.; ZAUTNER, A. E.; GROB, U. *Campylobacter jejuni*: A brief overview on pathogenicity- associated factors and disease- mediating mechanisms. **International Journal of Medical Microbiology**, Jena, v. 300, n.4, p. 205-211, Apr. 2010.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY- EFSA. 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. Part B: Analysis of factors associated with *Campylobacter* colonization of broiler batches and with *Campylobacter* contamination of broiler carcasses; and investigation of the culture method diagnostic characteristics used to analyse broiler carcass samples. **The EFSA Journal**. V. 8, p. 1503- 1602, 2010. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1522.pdf>>. Acesso em: Outubro 2014

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY- EFSA. EFSA explains zoonotic diseases. **Campylobacter**, 2014. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/corporate/doc/factsheetcampylobacter.pdf>>. Acesso em: Setembro 2014.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY- EFSA. Opinion of the scientific panel on biological hazards on the request from the commission related to *Campylobacter* in animals and foodstuffs. **The EFSA Journal**. 173:1-10, 2005. Disponível em: <<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/173.pdf>>. Acesso em: Setembro 2014.

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. 3, p. 209-223, Aug. 2000.

FORSYTHE, J. S. Microorganismos causadores de doenças de origem alimentar. In_____. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre. Artmed, 2002. cap. 5. p. 155- 204.

FRANCHIN, P. R.; AIDOO, K. E.; BATISTA, C.R. V. Sources of poultry meat contamination with thermophilic *Campylobacter* before slaughter. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 157- 162, Apr/June 2005.

FREDERICK, A.; HUDA, N. *Campylobacter* in poultry: Incidences and possible control measures. **Research Journal of Microbiology**. v.6, n. 2, p. 182-192, Feb.2011.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, n. 5, p. 365- 378, May, 1989.

GERWE, T. *et al.* Medium chain fatty acid feed supplementation reduces the probability of *Campylobacter jejuni* colonization in broilers. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 143, n. 4, p. 314- 318, Jul, 2010.

GERWE, T. *et al.* Quantifying transmission of *Campylobacter jejuni* in commercial broiler flocks. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 75, n.3, p. 625- 628. Feb, 2009.

GHAREEB, K. *et al.* Evaluating the efficacy of an avian- specific probiotic to reduce the colonization of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 91, n. 8, p. 1825-1832, Aug. 2012.

GHAREEB, K. *et al.* Control strategies for *Campylobacter* infection in poultry production. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 69, n. 1, p. 57-76, Mar. 2013.

GIBBENS, J.C. *et al.* A trial biosecurity as a means to control *Campylobacter* infection of broiler chickens. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 48, n. 2, p. 85-99, Jan. 2001.

GOMES, M.J.P. **Gênero *Campylobacter spp.*** Porto Alegre, 2013. 46p. Documento Impresso.

GUERRY, P. *Campylobacter* flagella: not just for motility. **Trends in Microbiology**. Maryland. v. 15, n. 10, p. 456- 461. Oct, 2007.

HALD, B.; RATTENBORG, E.; MADSEN, M. Role of batch depletion of broiler houses on the occurrence of *Campylobacter spp.* in chicken flocks. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 32, n. 4, p. 253- 256, apr. 2001.

HALD, B.; SKOVBORG, H.; PEDERSEN, K.; BUNKENBORG, H. Influxed insects as vectors for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Danish broiler houses. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, n. 7, p. 1428- 1434, July, 2008.

HALD, B.; SOMMER, H. M.; SKOVBORG, H. Use of fly screens to reduce *Campylobacter spp.* Introduction on broiler houses. **Emerging Infectious Disease**, v. 13, n. 12, p. 1951-1953, Dec. 2007.

HALD, B.; WEDDERKOPP, A.; MADSEN, M. Thermophilic *Campylobacter spp.* In Danish broiler production: a cross- sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks. **Avian Pathology**, Houghton, v. 29, n. 2, p.123- 131, Apr. 2000.

HERES, L. *et al.* Effect of fermented feed on the susceptibility for *Campylobacter jejuni* colonization in broiler chickens with and without concurrent inoculation of *Salmonella enteritidis*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 87, n. 2, p. 75- 86. Oct. 2003.

HERES, L. *et al.* Effect of acidified feed on susceptibility of broiler chickens to intestinal infection by *Campylobacter* and *Salmonella*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 99, n. 4, p. 259- 267. Apr. 2004.

HERMANS, D. *et al.* Intestinal mucus protects *Campylobacter jejuni* in the ceca of colonized broiler chickens against the bactericidal effects of medium- chain fatty acids. **Poultry Science**, Champaign, v. 89, n. 6, p. 1144- 1155, June, 2010.

HERMANS, D. *et al.* *Campylobacter* control in poultry by current intervention measures ineffective: Urgent need for intensified fundamental research. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 152, n. 4, p. 219-228, Sep. 2011.

HERMANS, D. *et al.* Passive immunization to reduce *Campylobacter jejuni* colonization and transmission in broiler chickens. **Veterinary Research**, Paris, v. 45, n. 27, p. 12, Mar, 2014.

HUMPHREY, T.; O'BRIEN, S.; MADSEN, M. *Campylobacters* as zoonotic pathogens: A food production perspective. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.117, n. 3, p. 237- 257, July, 2007.

INNS, T.; FOSTER, K.; GORTON, R. Cohort study of a campylobacteriosis outbreak associated with chicken liver parfait, United Kingdom, June 2010. **Euro Surveill**, Saint-Maurice, v. 15, n. 44, p. 19704, Nov, 2010.

JACOBS- REITSMA, W. F.; VAN DE GIESSEN, A. W.; BOLDER, N. M.; MULDER, R. W. Epidemiology of *Campylobacter spp.* at two Dutch broiler farms. **Epidemiology Infection**, Cambridge, v. 114, n. 3, p. 413- 421, June, 1995.

JAKOPANEC, I. *et al.* A large waterborne outbreak of campylobacteriosis in Norway: The need to focus on distribution system safety. **BMC Infectious Diseases**. v. 8, n. 128, Sep. 2008. Disponível em: < <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2334-8-128.pdf>>. Acesso em: Outubro, 2014

JAY, J. M.; LOESSNER, M. A.; GOLDEN, D. A. Foodborne gastroenteritis caused by *Vybrio*, *Yersinia* and *Campylobacter* species. *Inn*_____. **Modern food microbiology**. 7rd. ed. New York. Springer, 2005. cap. 28, p. 657- 678.

JIN, L. Z. *et al.* Influence of dried *Bacillus subtilis* and lactobacilli cultures on intestinal microflora and performance in broilers. **Asian-Australian Journal of Animal Sciences**, Malaysia, v. 9, n. 4, p. 397- 404, 1996.

JOENS, A. L. *Campylobacter* and *Helicobacter*. *In*: GYLES, L. C. *et al.* (Ed.). **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 3rd. ed. Ames. Blackwell, 2004. cap. 25. p. 353- 361.

KAPPERUD, G. *et al.* Risk Factors for sporadic *Campylobacter* infections: Results of a case-control study in Southeastern Norway. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 30, n. 12, p. 3117- 3121. Dec, 1992.

KAPPERUD, G. *et al.* Epidemiological investigation of risk factors for *Campylobacter* colonization in Norwegian broilers flocks. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 111, n. 2, p. 245- 255. Oct. 1993.

KUANA, S. L. *et al.* Ocorrência de *Campylobacter* em lotes de frangos de corte e nas carcaças correspondentes. **Ciência Animal Brasileira**. v. 9, n. 2, p. 480- 486. Abr./Jun. 2008.

KUANA, S. L. *et al.* Risk factors and likelihood of *Campylobacter* colonization in broiler flocks. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v.9, n. 3, p. 201- 204, July/Sept. 2007.

KUANA, S. L. *et al.* Sistema Api Campy para caracterização de amostras de *Campylobacter* isoladas de descarga cecal, fezes, swabs cloacais e carcaças de frango de corte. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 2, p.273- 277. Abril/Junho, 2009.

LIN, J. Novel approaches for *Campylobacter* control in poultry. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, v. 6, n. 7, p. 755-765. Sep, 2009.

LINE, J. E. *et al.* Isolation and purification of enterocin E-760 with broad antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 52, n. 3, p. 1094- 1100, Mar, 2008.

- MAZICK, A. *et al.* An outbreak of *Campylobacter jejuni* associated with consumption of chicken, Copenhagen, 2005. **Euro Surveill**, Saint- Maurice, v. 11, n. 5, p. 137- 139. May, 2006.
- MEAD, G. C. Prospects for competitive exclusion treatment to control Salmonellas and other foodborne pathogens in poultry. **The Veterinary Journal**, London, v. 159, n. 2, p. 111- 123, Mar. 2000.
- MONTROSE, M.S.; SHANE, S. M.; HARRINGTON, K.S. Role of litter in the transmission of *Campylobacter jejuni*. **Avian Diseases**, Ithaca. v. 29, n. 2, p. 392- 399. Apr/Jun, 1985.
- MOORE, J. E. *et al.* Review article. *Campylobacter*. **Veterinary Research**, London, v. 36, n. 3, p. 351-382, May, 2005.
- NEWELL, D. G., FEARNLEY C. Sources of *Campylobacter* in broiler chickens. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 69, n. 8, p. 4343- 4351, Aug. 2003.
- PASQUALI, F., CESARE, A., MANFREDA, G., FRANCHINI, A., *Campylobacter* control strategies in European poultry production. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v. 67, n. 1, p. 05-18, Mar. 2011.
- PATTERSON, J. A.; BURKHOLDER, K. M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production. **Poultry Science**, Champaign, v. 82, n. 4, p. 627- 631, Apr. 2003.
- PEARSON, A. D.; GREENWOOD, M.; HEALING, T. D.; ROLLINS, D.; SHAHAMAT, M.; DONALDSON, J.; COLWELL, R. R. Colonizatio of broiler chickens by waterborne *Campylobacter jejuni*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 59, n. 04, p.987- 996. Apr.1993.
- PENDLETON, S.; HANNING, I.; BISWAS, D.; RICKE, C. S. Evaluation of whole-genome sequencing as a genotyping tool for *Campylobacter jejuni* in comparison with pulsed-field gel electrophoresis and flaA typing. **Poultry Science**, Champaign, v. 92, n. 2, p. 573- 580, Feb. 2013.
- PERDONCINI, G. Prevalência de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* em carcaças de aves após o pré-resfriamento por imersão. UFRGS, 2012, pgs.35. **Monografia** (Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Produtos de Origem Animal)- Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2012.
- REFRÉGIER-PETTON, J. *et al.* Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 50, n. 2, p. 89-100, July, 2001.
- REICH, F.; ATANASSOVA, V.; HAUNHORST, E.; KLIEN, G. The effects of *Campylobacter* numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 116-120, 2008.

ROSENQUIST, H. *et al.* Danish strategies to control *Campylobacter* in broilers and broiler meat: facts and effects. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 137, n.12, p. 1742-1750, Dec. 2009.

SAHIN, O.; MORISHITA, T. Y.; ZHANG, Q. *Campylobacter* colonization in poultry: sources of infection and modes of transmission. **Animal Health Research Reviews**, Wallingford. v. 3, n. 2, p. 95-105. Dec. 2002.

SANTINI, C. *et al.* Characterization of probiotic strains: An application as feed additives in poultry against *Campylobacter jejuni*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 141, p. S98-S108, July, 2010.

SAXENA, M. *et al.* Strategies to reduce *Campylobacter* colonization in chickens. **Procedia in Vaccinology**. Barcelona. v. 7, p. 40-43, 2013.

SCHULZ, D. *et al.* Bacteriocinas: Mecanismo de ação e uso na conservação de alimentos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, Araraquara, v. 14, n. 2, p. 229- 235, 2003.

SCHOENI, J. L.; WONG, A. C. L. Inhibition of *Campylobacter jejuni* colonization in chicks by defined competitive exclusion bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 1191- 1197, Apr,1994.

SILVA, J. *et al.* *Campylobacter* spp. As a foodborne pathogen: a review. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 2, n. 200, p. 1- 12, Sep. 2011.

SILVA, D. T. *et al.* Ocorrência de *Campylobacter* em carne de frango, fezes de frango e humanas e pesquisa de genes *cdt*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 66, n. 1, p. 297- 304, Jan/Fev. 2014.

SKANSENG, B. *et al.* Prevention of intestinal *Campylobacter jejuni* colonization in broilers by combinations of in-feed organic acids. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 109, n. 4, p. 1265- 1273. Oct. 2010.

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

SOLIS DE LOS SANTOS, F. *et al.* Caprylic acid supplemented in feed reduces enteric *Campylobacter jejuni* colonization in tem- day-old broiler chickens. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, n. 4, p.800-804, Apr. 2008.

STERN, N. J.; ROBACH, M. C.; COX, N. A.; MUSGROVE, M. T. Effect of drinking water chlorination on *Campylobacter* spp. colonization of broilers. **Avians Disease**, Ithaca, v. 46, n. 2, p.401-404, Apr/June, 2002.

STERN, N. J. *et al.* Isolation of a *Lactobacillus salivarius* strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to *Campylobacter jejuni* in the chicken gastrointestinal system. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 50, n. 9, p. 3111- 3116, Sep, 2006.

SVETOCH, E. A.; STERN, N. J. Bacteriocins to control *Campylobacter* spp. in poultry- A review. **Poultry Science**, Champaign, v. 89, n. 8, p. 1763- 1768, Aug, 2010.

TOTTEN, P. A. *et al.* Prevalence and characterization of hipurate- negative *Campylobacter jejuni* in King Country, Washington. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington. v. 25, n. 9, p. 1747- 1752. Sep, 1987.

TSUBOKURA, K. *et al.* Oral administration of antibodies as prophylaxis and therapy in *Campylobacter jejuni* infected chickens. **Clinical and Experimental Immunology**, Oxford, v. 108, n. 3, p. 451- 455, June, 1997.

UNITED STATES POULTRY AND EGG ASSOCIATION. Completed Research: Developmet of *Campylobacter jejuni* proteins as *in ovo* vaccines for broiler chickens. **U.S. POULTRY & EGG ASSOCIATION**, Tucker, Project n. 679, July, 2014. Disponível em: <http://www.uspoultry.org/research/resproj/PROJ_679.html>. Acesso em: Novembro de 2014.

VALIAS, A. P.G. S.; SILVA, E. N. Estudo comparativo de Sistemas de bebedouros na qualidade microbiológica na água consumida por frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciências Avícolas**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 1-9 , Jan/Abr 2001.

VAZ, C. S. L. *Campylobacter* na segurança dos alimentos e na avicultura. **Revista Avicultura Industrial**. n. 3, p. 15-19, 2008

WAGENAAR, J. A. *et al.* Phage therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.109, n. 4, p. 275- 283, Aug, 2005.

WANG, W. L. *et al.* Effects of disinfectants on *Campylobacter jejuni*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.45, n. 4, p. 1202- 1205, Apr. 1983.

WILLIS, W. L.; REID, L. Investigating the effects of dietary probiotic feeding regimens on broiler chicken production and *Campylobacter jejuni* presence. **Poultry Science**, Champaign, v. 87, n. 4, p. 606-611, Apr. 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. ***Campylobacter***, 2000. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/en/print.html>>. Acesso em: agosto 2014

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. Risk assessment of *Campylobacter spp.* in broiler chickens. **Technical Report**, 2009. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43731/1/9789241547369_eng.pdf>. Acesso em: Setembro 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION- WHO. ***Campylobacter***, 2011. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/en/>>. Acesso em: Setembro 2014

WYSZYNSKA, A.; RACZKO, A.; LIS, M.; JAGUSZTYN-KRYNICKA, E. K. Oral immunization of chickens with avirulent *Salmonella* vaccine strain carrying *C. jejuni* 72Dz/92 *cjaA* gene elicits specific humoral immune response associated with protection against challenge with wild-type *Campylobacter*. **Vaccine**, Amsterdan. v. 22, n. 12,p. 1379- 1389. Mar,2004.

YUEH, H. Y.; HIETT, K. L.; LINE, E.; SEAL, B. S. Development of *Campylobacter jejuni* proteins as *in ovo* vaccines for broiler chickens. **U.S. Poultry & Egg Association**. Athens. Project n. 679. July, 2014. Disponível em: < http://www.uspoultry.org/research/resproj/PROJ_679.html>. Acesso em: Novembro, 2014.

YOUNG, K. T.; DAVIS, L. M.; DIRITA, V. J. *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**, v.5, p. 665- 679, Sep. 2007.

ZHAO, Y. *et al.* Detection of airborne *Campylobacter* with three bioaerosol samples for alarming bacteria transmission in broilers. **Biological Engineering**, Lelystad, v. 3, n. 4, p. 177- 186, May, 2011.

ZOETE, M.R.; PUTTEN, J. P.; WAGENAAR, J. A. Vaccination of chickens against *Campylobacter*. **Vaccine**, Amsterdam. v. 25, n. 30, p. 5548-5557. July, 2007.