

PAULO ROGÉRIO FRANCHIN

**OCORRÊNCIA DE *CAMPYLOBACTER*
TERMOFÍLICOS EM PONTOS ANTES DO ABATE E
DURANTE O PROCESSAMENTO DE FRANGOS DE
CORTE**

Florianópolis

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS
ALIMENTOS

**OCORRÊNCIA DE *CAMPYLOBACTER*
TERMOFÍLICOS EM PONTOS ANTES DO ABATE E
DURANTE O PROCESSAMENTO DE FRANGOS DE
CORTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cleide R. Vieira Batista

PAULO ROGÉRIO FRANCHIN

Florianópolis

Fevereiro 2004

**OCORRÊNCIA DE *CAMPYLOBACTER*
TERMOFÍLICOS ANTES DO ABATE E DURANTE O
PROCESSAMENTO DE FRANGOS DE CORTE**

PAULO ROGÉRIO FRANCHIN

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pela comissão formada por:

Banca Examinadora:

Cleide Rosana Vieira Batista, Ph D.
Presidente

Leadir Lucy Martins Fries, Ph D.

Rubem Abreu Machado, Dr.

Ernani Sebastião Sant'Anna, Dr.
Coordenador

Florianópolis, 27 de fevereiro de 2004

Aos meus pais, Pedro e Tereza Franchin;
Meus Filhos, Paula, Lucas e Daniela;
A minha esposa Adriana
A minha imensa gratidão....

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- A Deus, meu criador...
- Aos professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.
- Ao pessoal técnico administrativo do Curso de Pós-Graduação na pessoa do Sr. Sérgio de Souza pelo total apoio dispensado no decorrer do curso.
- A Professora Dra. Cleide Rosana Vieira Batista pela orientação e confiança em mim depositada.
- Ao Sr. Joaquim Goulart Nunes, pelo apoio e incentivo irrestrito na volta as aulas.
- Aos Colegas de trabalho, Giovana, Ivair, Nelci, Marina, Vilmar, Cristiane, Wilson, César, Carla, Silvana, Clementino, Daniel e Rejane pela imensa ajuda.
- Aos meus irmãos e cunhados.
- Aos meus Pais, Pedro e Tereza pela compreensão e ajuda.
- A minha amada esposa Adriana que “segurou a barra em casa” e me deu forças para continuar...
- Aos meus filhos Daniela, Lucas e Paula, pelos beijos a cada volta.
- E novamente a Deus, que permitiu a ida e a volta, o começo e o fim e um novo começo, meu muito obrigado.

FRANCHIN, P. R. Ocorrência de *Campylobacter* termofílicos em pontos antes e durante o processamento de frangos de corte. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RESUMO

Campylobacter termofílicos foram analisados em diversos pontos da cadeia produtiva de frangos de corte, desde o aviário até a obtenção do frango pronto para expedição, congelado. Em **“Ocorrência de *Campylobacter* termofílicos antes do abate de aves”** (1), foram analisadas amostras de cama de aviário (swab de arrasto), penas de frango, cloaca de frango, com objetivo de determinar qual amostra melhor representa lotes de frango *Campylobacter* positivos que chegam ao abatedouro, bem como, gaiolas de transporte de aves, água de lavagem de gaiolas e parapeito após a pendura das aves, antes da sangria, com intuito de identificar pontos de contaminação cruzada antes do abate. Em **“Processamento de frango de corte: ocorrência de *Campylobacter* termofílicos”** (2), as amostras analisadas compreenderam o frango logo após o processo de depenagem, após o processo de evisceração, após o processo de resfriamento em água, a água de resfriamento, o frango congelado e superfície do setor de embalagem primária, objetivando determinar a ocorrência de *Campylobacter* durante o processamento, após cada etapa. Em (1), foram analisadas 144 amostras, das quais 50 % foram positivas para *Campylobacter*. A ocorrência de positividade foi de 79,16% na amostra de penas, 75% na amostra de “swab de cloaca” e apenas 37,5% na amostra “swab de arraste” efetuado na cama de aviário. A evidência de possibilidade de contaminação cruzada também foi constatada nas amostras de gaiola de transporte (50%), água de lavagem de gaiola (25%) e parapeito após pendura do frango na nórea (33,33%). Em (2), foram analisadas 335 amostras, das quais 71,34% foram positivas para *Campylobacter*. As ocorrências de positividade nas amostras de frango foram de 68,05 % após o processo de depenagem, 69,44 % após o processo de evisceração, 84,72 % após resfriamento em chiller, 63,33 % após congelamento; A água de resfriamento apresentou 91,30 % de positividade e a superfície no setor de embalagem 50%.

Palavra chave: *Campylobacter*, frango, aviário, processamento, ocorrência.

FRANCHIN, P. R. Industrialization of chicken carcass: occurrence of *Campylobacter* termofilics before slaughter of chicken and during industrialization.

ABSTRACT

Termofilics *Campylobacter* were analyzed in several steps in the whole cut up chicken production chain, since aviary until the finished-frozen product obtention. In **Termofilic *Campylobacter* occurrence before chicken slaughtering** (1), were analyzed broiler house samples (drag swabs), chicken feathers and chicken cloaca to determine which of the samples would better represent positive *Campylobacter* chicken lots that arrive at the slaughterhouse. Also were analyzed transport crates, washing crates water and parapet after bird suspension, before bleeding, to identify cross-contamination points before slaughtering. In **Cut up chicken processing: termofilics *Campylobacter* occurrence** (2), the analyzed samples include chicken after defeathering, after evisceration, after water cooling process, after freezing for 7 days at -20°C , the cooling water and the surface that get in contact with the chicken carcass in the package area. In (1) 144 samples were analyzed, in which 50% were *Campylobacter* positive. The positivity occurrence was 79,16 % in feather samples, 75 % in cloaca swab samples and only 37,5 % in broiler house drag swabs samples. The cross contamination possibility was also confirmed in crate samples (50%), washing crates water (25%) and parapet after bird suspension (33,33%). In (2) 335 samples were analyzed, in which 71,34 % were termofilic *Campylobacter* positive. The positivity occurrence in chicken samples were: 68,05% after defeathering, 69,44% after evisceration, 84,72% after water cooling process, 63,33% after freezing; the cooling water showed 91,30% positivity and the surface in the package area showed 50% positivity.

Keywords: *Campylobacter*, chicken, farm, industrialization, occurrence.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO I.....	3
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
1.1 IMPORTÂNCIA DE <i>CAMPYLOBACTER</i>	4
1.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO GÊNERO <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP.....	5
1.3 EPIDEMIOLOGIA.....	6
1.4 PATOGENICIDADE.....	7
1.5 DETECÇÃO DE <i>CAMPYLOBACTER</i>	9
1.6 <i>CAMPYLOBACTER</i> TERMOFÍLICOS EM FRANGOS	11
1.7 CONTROLE DE <i>CAMPYLOBACTER</i> SPP.....	13
1.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
CAPÍTULO II - OCORRÊNCIA DE <i>CAMPYLOBACTER</i> TERMOFÍLICOS ANTES DO ABATE DE AVES.....	24
RESUMO	26
ABSTRACT	26
1 INTRODUÇÃO.....	27
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.1 AMOSTRAS DE CAMA DE AVIÁRIO.....	29
2.2 AMOSTRAS DE GAIOLAS DE TRANSPORTE DE FRANGOS	30
2.3 AMOSTRAS DE ÁGUA DE LAVAGEM DE GAIOLAS	31
2.4 AMOSTRAS DA CLOACA E DE PENAS DE FRANGO.....	31
2.5 AMOSTRAS DE PARAPEITO	32

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	33
3 RESULTADOS.....	33
4 DISCUSSÃO.....	35
5 CONCLUSÃO.....	37
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
CAPÍTULO III - PROCESSAMENTO DE FRANGOS DE CORTE: OCORRÊNCIA DE <i>CAMPYLOBACTER</i> TERMOFÍLICOS	43
RESUMO	46
ABSTRACT	46
1 INTRODUÇÃO.....	47
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	48
2.1 TOMADA DAS AMOSTRAS.....	48
2.1.1 FRANGOS APÓS A OPERAÇÃO DE DEPENAGEM.....	48
2.1.2 FRANGOS APÓS OPERAÇÃO DE EVISCERAÇÃO	49
2.1.3 FRANGOS IMEDIATAMENTE APÓS A SAÍDA DO CHILLER.....	49
2.1.4 FRANGO ARMAZENADO CONGELADO A -20°C POR 7 DIAS	49
2.1.5 ÁGUA DE CHILLER	49
2.1.6 SUPERFÍCIE DA MESA DO SETOR DE EMBALAGEM	49
2.2 PESQUISA DE <i>CAMPYLOBACTER</i> TERMOFÍLICOS APÓS DEPENAGEM, EVISCERAÇÃO, CHILLER DE RESFRIAMENTO E CONGELAMENTO	50
2.2.1 PESQUISA DE <i>CAMPYLOBACTER</i> TERMOFÍLICOS PELO MÉTODO DE ENXÁGÜE.....	50
2.2.2 PESQUISA DE <i>CAMPYLOBACTER</i> TERMOFÍLICOS PELO MÉTODO DE PESAGEM	51
2.3 PESQUISA DE <i>CAMPYLOBACTER</i> TERMOFÍLICOS EM ÁGUA DE CHILLER.....	52
2.4 PESQUISA DE <i>CAMPYLOBACTER</i> TERMOFÍLICOS NA MESA DO SETOR DE EMBALAGEM	52
3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5 CONCLUSÃO.....	58

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
7 CONCLUSÕES	63
ANEXOS	65

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1 – Presença de <i>Campylobacter</i> termofílicos em amostras coletadas em diferentes pontos que antecedem o processo de abate de frango durante o ano de 2002 e 2003.....	33
---	----

Tabela 2 - Ocorrência de <i>Campylobacter</i> termofílicos em cama de aviário, gaiolas de transporte, água de lavagem de gaiola, cloaca, penas e parapeito	34
--	----

Capítulo III

Tabela 1 –Ocorrência de <i>Campylobacter</i> termofílicos nas diferentes amostras coletadas durante o processamento de frango de corte nos anos de 2002 e 2003	50
--	----

LISTA DE FIGURAS

Capítulo II

Figura 1 – Frasco para incubação em microaerofila modificado por FRANCHIN & BATISTA.....	29
--	----

Capítulo III

Figura 1 - Frasco para incubação em microaerofila modificada por FRANCHIN & BATISTA	47
---	----

Figura 2 – Percentual de <i>Campylobacter</i> spp. em cada etapa do processamento de frango de corte.....	51
---	----

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas tem ocorrido um incremento significativo na produção de alimentos, dentre os quais citamos as proteínas de origem animal.

O Brasil, por ser o segundo maior produtor e exportador mundial de carne de frango e responsável por 1/3 do total comercializado de carne de frango no mercado internacional desde 2002, torna-se cada vez mais alvo de barreiras comerciais e sanitárias impostas por países importadores. Esta imposição faz com que, a criatividade e espírito de trabalho em equipe dos técnicos que atuam na área de avicultura comercial, vençam desafios atrás de desafios e, com isso, elevem o padrão de qualidade dos produtos ofertados ao mercado nacional e internacional.

Dentre as proteínas de origem animal, a proteína derivada de carne de frango é muito apreciada em diversos países e, principalmente no continente asiático, pela sua qualidade nutricional, bem como pelo preço bastante acessível às camadas menos favorecidas da sociedade. A diminuição do custo de produção em escala deste tipo de proteína só foi possível devido ao aumento da tecnologia aplicada aos processos de criação e abate, bem como devido ao modelo de integração na criação dos frangos adotado por países como Brasil e Tailândia.

Aliado ao aumento da disponibilidade de alimentos, também houve um aumento conseqüente de casos relatados de doenças transmitidas por alimentos, dentre as quais se destacam patógenos intestinais como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e objeto deste estudo, *Campylobacter*.

Campylobacter termofílicos têm sido o principal patógeno envolvido em surtos de infecção alimentar ocorrido na última década, e sua ocorrência em diversos tipos de alimentos é constantemente estudada. Segundo a literatura, a carne de frango tem sido o principal veículo de contaminação por *Campylobacter*, em índices que variam de 30 a 100%. Estes altos percentuais de positividade levam a necessidade de entender o

fluxo produtivo de carnes de frango e procurar adotar boas práticas de manejo ainda no campo e boas práticas de fabricação na indústria, no sentido de reduzir ou eliminar esse patógeno.

Dessa forma, o propósito desse trabalho foi pesquisar *Campylobacter* termofílicos em diversos pontos da cadeia produtiva de frangos de corte, desde o aviário até o frango congelado. Assim, pesquisou-se a ocorrência de *Campylobacter* termofílicos antes do abate (capítulo II) onde os objetivos foram: (1) definir pontos de tomada de amostra que melhor indiquem a presença de *Campylobacter* termofílicos antes do processo de abate, de forma a permitir a identificação de lotes de frangos *Campylobacter* termofílicos positivos e (2), investigar a ocorrência de *Campylobacter* termofílicos em gaiolas de transporte de frangos, água de lavagem de gaiolas e da superfície do parapeito na linha da nória que antecede a operação de sangria. No capítulo III, os objetivos foram investigar a ocorrência de frangos *Campylobacter* termofílicos positivos durante o processamento de frangos de corte após as etapas de depenagem, evisceração, resfriamento e congelamento, bem como da água de resfriamento e superfície de mesa no setor de embalagem..

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Importância de *Campylobacter*

Doenças gastrointestinais são importantes como causa de doenças humanas em todo o mundo. Na indústria de alimentos, *Campylobacter* spp, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp representam as maiores ameaças como causas potenciais de doenças de origem alimentar no ser humano (KEMP et al., 2001)

Há muitos anos se sabe que os representantes do grupo *Campylobacter* estão relacionados com enfermidades nos animais. No entanto, somente nos últimos 10 a 15 anos têm-se identificado *Campylobacter* termófilos microaerófilos como causadores de enterites humana. Em alguns países, *Campylobacter* é isolado mais freqüentemente que salmonelas em doentes que padecem de gastroenterites (WALDROUP, 1996).

Campylobacter jejuni, saprófita intestinal de aves, vem se destacando como um dos microrganismos emergentes de origem alimentar, causadores de gastroenterites no homem nos últimos 20 anos, sendo a carne de aves considerada seu principal veículo (AQUINO & FRANCO, 1995). Em algumas espécies de animais jovens, notadamente cordeiros, bezerros e cachorros, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* podem ser patógenos ocasionais (YANG-CHIH SHIH, 2000).

No homem, as infecções causadas por *Campylobacter*, estão estimadas em 2,1 a 2,4 milhões de casos por ano nos Estados Unidos e são, em grande parte, devido ao consumo de carnes de aves contaminadas (ALTEKRUSE, et al., 1999; KEMP et al., 2001; MEAD, 1999; TAUXE, 1992).

Campylobacter jejuni é o responsável pela maioria destas enfermidades. *Campylobacter coli* é responsável por 3 a 5% dos casos humanos de campilobacterioses, porém dependendo da região, pode atingir valores ainda mais elevados, como é o caso da República Central Africana em Zagreb, Yugoslávia, onde foram registrados níveis de 35 – 40% (WALDROUP, 1996).

Segundo Curram et al. (1997) apud Lee et al. (1998), a taxa de notificação de campilobacteriose tem continuado a aumentar desde 1992. Os números de casos de campilobacteriose reportados em 1996 na Austrália foram 12.158, apresentando um acréscimo de 11,2% sobre o número reportado em 1995.

Segundo Genigeogis (1987) a tecnologia de abate não garante produtos livres de *Campylobacter*. A contaminação das aves é quase que exclusivamente de origem intestinal, não sendo suficientemente eliminada durante o processamento tecnológico, resultando em produtos finais contaminados (OOSTEROM, 1983). Embora as aves freqüentemente excretem de 10^4 a 10^8 células de *Campylobacter* por grama de fezes elas são assintomáticas. Pesquisas revelam, que 30 a 100% das aves carregam este organismo (SHOENI & DOYLE, 1992).

A avicultura brasileira cresceu e sofreu inúmeras mudanças nos últimos 25 anos, resultado de um esforço conjunto das empresas avícolas aglutinadas na ABEF (Associação Brasileira dos Exportadores de Frango), no desenvolvimento do mercado interno e externo, aliados ao fato de ser a carne de frango um produto saudável e de preço acessível à população. O Brasil é o segundo maior produtor de frango do mundo, tendo sido exportados 1.265.887 toneladas de carne de frango, *in natura* e industrializados, no ano de 2001, o que representa um crescimento de 38 % em relação ao ano anterior e equivale a uma receita cambial de aproximadamente US\$ 1.350.000, com aumento de 61 % em relação ao ano de 2000 (US\$ 829.000) (ABEF, 2001). Em 2002 foram exportadas 1.624.887 toneladas, que significou um aumento de 28 % em relação ao ano anterior, capaz de gerar uma receita cambial de US\$ 1,396 bilhão, 5 % maior do que a obtida em 2001, apesar das turbulências ocorridas no período devido aos episódios sanitários na Ásia e Europa, principalmente (ABEF, 2002).

1.2 – Características gerais do gênero *Campylobacter* spp.

O gênero *Campylobacter* pertence à família *Campylobacteriaceae*. É composto por bactérias pequenas (0,2 a 0,5 μ m de largura e 0,5 a 5 μ m de comprimento) em forma de bastonetes curvos ou espiralados, Gram negativos. Em culturas jovens é

possível observar morfologia de asa de gaivota. São móveis, possuindo flagelos monotríquios em uma ou nas duas extremidades. Os flagelos que podem medir até três vezes o comprimento da célula são responsáveis pelo movimento característico de sacarolha ou vaivém (HOLT et al., 1994; HUNT, 1992; STERN et al., 1992).

Campylobacter é um microrganismo microaerófilo com metabolismo respiratório (VARNAM & EVANS, 1996). Crescem em concentrações reduzidas de oxigênio (5 a 10%, sendo a concentração ideal de 5 %), e elevadas concentrações de dióxido de carbono (5 a 10%, sendo a concentração ideal 10%) e ainda altas concentrações de nitrogênio (ideal 85%) (HOLT et al., 1994; HUNT, 1992; STERN et al., 1992). Varnam & Evans (1996) consideram uma concentração de 3 a 15 % de oxigênio e 3 a 5 % de dióxido de carbono a atmosfera de gases ideais para incubação .

Reduzem o nitrato a nitrito e, com exceção do *Campylobacter jejuni* subespécie *doylei* e *C. fennelliae*, que reduzem o nitrito. Não fermentam ou oxidam carboidratos (ICMSF, 1996).

O gênero *Campylobacter* foi dividido em três grupos homólogos, baseado em análise de seqüência de RNA ribossomal 16S. O **Grupo I** consiste de “verdadeiros” campilobacters e contém dois sub grupos: Grupo termofílico que compreende *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter laridis* e *Campylobacter upsaliensis* que crescem bem a 42°C, porém não a 25°C e, o grupo clássico, que compreende *Campylobacter fetus*, *Campylobacter hyointestinalis*, *Campylobacter sputorum*, *Campylobacter conciscus* e *Campylobacter mucosalis*. **Grupo II** compreende *Campylobacter pylory*, *Campylobacter cinaedi* e *Campylobacter fennelliae* juntamente com *Wolinella succinoides*; enquanto o **Grupo III** compreende *Campylobacter cryoaerophila* e *Campylobacter nitrofigilis*. Um novo gênero, *Helicobacter*, foi proposto para *Campylobacter pylori* (ICMSF, 1996; VARNAM & EVANS, 1996).

1.3. Epidemiologia

De 1983 a 1991, o Centro de Investigação de Doenças registrou 1.284 surtos por *Campylobacter* na Inglaterra e País de Gales. Em 105 desses surtos foi possível

identificar a origem. O frango foi responsável por 35 % deles, porém *Campylobacter* foi isolado em apenas um deles. *Campylobacter* tem estado envolvido em vários pequenos surtos localizados, exemplos que incluem uma convenção em 1977 (PEARSON et al., apud HAYEK, 1977), um exercício do exército em 1978 (PEARSON et al., apud BROUWER et al., 1979), um jantar de conferência em 1980 (SKIRROW et al., 1981) um churrasco mal cozido de aves em 1982 (ISTRE et al., 1984) e num restaurante em 1983 (PEARSON et al., apud ROSENFELD et al., 1985).

Campylobacter termofílicos, *C. jejuni*, *C. coli*, e *C. lari* são as espécies mais freqüentemente isoladas no homem. *Campylobacter jejuni* representa mais de 99 % dos isolados de *Campylobacter* spp. reportados nos Estados Unidos (HUNT, 1992). Segundo Tang et al (1984) apud Yang-Chih Shih (2000) isolaram *C. jejuni* de 35 dos 623 pacientes em Taipei, Taiwan, área com uma história de diarreia aguda entre março e dezembro de 1981.

Nos Estados Unidos estima-se que a cada ano ocorram 2,1 a 2,4 milhões de casos de campilobacteriose humana (ALTEKRUSE et al., 1999; KEMP et al., 2001; MEAD, 1999; TAUXE, 1992)

Tosin & Machado (1992) constataram que 6,21 % de 177 manipuladores de alimentos em cozinhas industriais de Florianópolis, Santa Catarina Brasil eram portadores de *Campylobacter*.

1.4. Patogenicidade

Campylobacter é responsável por uma variedade de doenças em animais e no homem, sendo que no homem predomina a que é causada principalmente pelas espécies termofílicas. Contudo, a doença causada pelas outras espécies não deve ser subestimada (VARNAM & EVANS, 1996).

Os primeiros sintomas da campilobacteriose podem incluir febre, dor abdominal e mal estar, mas a manifestação clínica humana é geralmente limitada a uma diarreia que dura de 2 a 5 dias (PROJETO APPCC, 1999). Aproximadamente metade dos pacientes com campilobacteriose confirmados por testes laboratoriais, registrou história de

diarréia sanguinolenta (BLASER et al., 1983). Menos freqüentemente, as infecções por *C. jejuni* produzem bacteremia, artrites séptica e outros sintomas extraintestinais (PETERSON, 1994).

A incidência de campilobacteriose em pacientes HIV – infectados, é maior do que na população em geral. Em Los Angeles entre 1983 e 1987 foram registrados 519 casos por 100.000 habitantes, 39 vezes maior do que no resto da população (SORVILLO et al., 1991).

Quanto à dose infectiva, os estudos apresentam resultados variáveis, mas foi sugerido que a ingestão de 500 células de *C. jejuni* desencadeiam a doença, dependendo da competência imune do hospedeiro (BLACK et al., 1988 e ROBINSON, 1981). O período de incubação é de 48 a 120 h (PROJETO APPCC, 1999). Mead et al. (1999), estimam que a proporção de mortes ocasionadas por infecções alimentares devidas a *Campylobacter* seja de 0,001%, considerando a morte como um caso raro.

As infecções por *Campylobacter* são freqüentemente auto limitantes, e nenhum tratamento é necessário. Em casos severos, pode ocorrer desidratação, e uma mistura de glicose e eletrólitos pode ser prescrita. Agentes antidiarréicos, tais como codeine, difenoxilato (Lamotil) ou loperamida (Imodium), podem ser efetivos, mas não devem ser administrados para crianças (SKIRROW, 1984 apud VARNAM & EVANS, 1996). Ácido nalidíxico é efetivo contra *C. coli* e *C. jejuni*, mas têm aumentado o aparecimento de cepas resistentes ao antibiótico (ALTWEGG et al, 1987).

A síndrome de Guillan - Barré (GBS), uma doença inflamatória auto imune dos nervos periféricos, em que a bainha de mielina que envolve as células nervosas é destruída, resultando em paralisia neuromuscular aguda, é uma séria seqüela de infecção por *Campylobacter*. Estima-se um caso de GBS para cada 1.000 casos de campilobacterioses. Aproximadamente 20 % dos pacientes com GBS são acometidos com alguma desordem, e aproximadamente 5 % morrem apesar dos avanços em cuidados respiratórios (ALTEKRUSE et al., 1999; SMITH, 2002)

1.5. Detecção de *Campylobacter*

Análises de carnes *in natura* para patógenos específicos apresentam vários problemas inerentes, que muitas vezes não são percebidos por pessoas não familiarizadas com microbiologia de alimentos. Quando bactérias patogênicas estão presentes num meio, estão frequentemente presentes em números baixos com distribuição heterogênea, requerendo assim, grandes amostras para proporcionar níveis modestos de confiabilidade nos resultados negativos. Diferentes métodos de cultura são necessários para detectar diferentes patógenos e vários dias são usualmente empregados para dispor do resultado. Por isso outros microrganismos têm sido considerados no lugar de análises de patógenos em carnes *in natura* (CASON et al., 1997).

Durante a obtenção do frango *in natura* não há nenhuma etapa específica no processo que destrua bactérias, o que significa que microrganismos indicadores comumente usados para indicar falhas no processamento de alimentos, pronto para consumo, não podem ser usados no mesmo sentido (CASON et al., 1997).

Detecção rápida é importante em higiene de alimentos, e na prevenção de doenças de origem alimentar. Procedimentos para o isolamento e identificação de *Campylobacter* spp. consomem tempo e muito serviço, incluindo passos de pré-enriquecimento, enriquecimento e plaqueamento em ágar seletivo, seguido de identificação bioquímica. Tradicionalmente, um mínimo de 11 características fisiológicas e bioquímicas tem sido proposto para a identificação de *Campylobacter* spp., sendo que a identificação por testes bioquímicos convencionais requer um mínimo de 5 dias (YANG - CHIH SHIH, 2000).

Uyttendaele et al. (1996), consideram como características fisiológicas e bioquímicas a morfologia, catalase e oxidase, crescimento aeróbio a 37°C, crescimento a 30°C, 37°C e 42°C em atmosfera de oxigênio, dióxido de carbono e nitrogênio (OCN), sensibilidade a cefalosporina e ácido nalidíxico, produção de H₂S e hidrólise do hipurato.

Uma vez que *Campylobacter* é sensível ao peróxido de hidrogênio e a íons superóxidos que se produzem nos meios de cultivo, é necessário adicionar a eles sangue lisado, geralmente de cavalo, e FBP (0,025 a 0,05% de cada um dos sais de sulfato ferroso, metabissulfito de sódio e piruvato de sódio) com a finalidade de neutralizar os produtos

tóxicos do oxigênio e aumentar a aerotolerância deste microrganismo. As células injuriadas por aquecimento, refrigeração ou congelamento, são sensíveis a alguns reagentes existentes em alguns meios de cultivo como por exemplo ao desoxicolato e a rifampicina, bem como aos derivados tóxicos do oxigênio e as temperaturas de incubação de 42-43°C, razão pela qual é indicado um pré-enriquecimento, ou incubação prévia a 37°C por 4 horas, antes da incubação a 42°C, sempre que possível com uso de atmosfera aproximada de 5 % de O₂, 10 % de CO₂ e 85 % de N₂ (ICMSF, 1996).

Nos meios sólidos disponíveis, as colônias de *Campylobacter* são freqüentemente pequenas e incolores, ou semelhantes a uma gota d'água na superfície do ágar, sendo que a microbiota acompanhante da amostra geralmente tem um crescimento superior e, freqüentemente, é mais facilmente observada do que as colônias de *Campylobacter* (LINE, 2001).

O uso de antibióticos para eliminar contaminantes é necessário para o isolamento de *Campylobacter*, dentre os quais cita-se: trimetoprim, cefalosporina, polimixina B, vancomicina, rifampicina, e antifúngicos como, ciclohexemida, actidiona e anfotericina (LINE, 2001). Segundo este autor, várias combinações de antibióticos são usadas nos meios de cultura como, por exemplo, o mCCD ágar, que usa cefoperazone e ciclohexemida para seletividade, o Campy-Brucela, que contem vancomicina, polimixina B, trimetoprim, anfotericina B e cefalotim.

Line (2001) relata que das 20 amostras de frango resfriados provenientes de uma planta comercial, coletadas e analisadas no dia de seu experimento para avaliar a eficiência quanto à contagem de *Campylobacter* em dois meios seletivos diferentes, 95 % foram positivas em Campy-cefex ágar e 100% foram positivas em Campy-Line ágar e Campy Line blood ágar. A adição de 200 mg · Kg⁻¹ de TTC – Cloreto de trifetil tetrazolium - não é inibitória para o crescimento de *Campylobacter*, e é suficiente para produzir uma coloração “tijolo” às colônias, que aliado à composição de antibióticos: trimetoprim, vancomicina e polimixina B, além de ciclohexemida deram como resultado uma excelente visualização do crescimento de colônias características de *Campylobacter* no Campy-Line ágar.

1.6. *Campylobacter* termofílicos em frangos

Aves vivas e produtos processados de aves são freqüentemente associados com microrganismos patogênicos, incluindo *Campylobacter* spp. termofílicos e *Salmonella* spp. Segundo o Centro de Controle de Doenças (CDC), produtos cárneos derivados de frango e perus foram responsáveis por 1,5%, 1,9%, e 2,4% das doenças de origem alimentar nos Estados Unidos, nos anos de 1995, 1996 e 1997, respectivamente, (WHYTE et al., 2001).

Os resultados de Berrang et al.,(2000) em contagens de *Campylobacter* recuperados de órgãos intestinais e externamente em carcaças de frangos antes da escaldagem em uma planta de processamento comercial, mostraram que tanto a pena quanto o papo apresentaram maior número de *Campylobacter* do que a pele, porém foi significativamente mais elevado na pena do que no papo. O estudo encontrou também que na planta, imediatamente antes da escalda, todas as amostras do papo foram positivas para *Campylobacter*, em níveis que não requeriam enriquecimento de amostra.

Campylobacter termofílicos são causadores predominantes de enterite bacteriana aguda no Reino Unido. Somente na Inglaterra e País de Gales, aproximadamente 58.000 casos de infecção humana por *Campylobacter* foram comunicados ao Laboratório de Saúde Pública do Centro de Investigação de Doenças, durante o ano de 1998, representando um acréscimo de 16 % sobre o ano de 1997. Das 198 amostras de frango resfriadas (peito e coxa coletadas durante fevereiro e março de 1998), 83,3 % foram positivas para *Campylobacter*. Destas, 77,3 % foram *C. jejuni* e 6,6 % *C. coli*; das 96 amostras de fígado de cordeiro, 72,9 % foram positivas; das 99 amostras de fígado de suínos, 71,7% foram positivas e de 96 amostras de fígado de bovinos, 54,2 % apresentaram positividade segundo Kramer et al. 2000.

Campylobacter tem sido isolado de aves em vários países, como Bélgica: 21,9% de 247 amostras; França: 30,2% de 427 amostras; Itália: 15,4% de 13 amostras; e Reino Unido: 54,5% de 44 amostras. A incidência de *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* foi de 25,6 % em 133 amostras de carcaças de frango e 40,0% em 225 amostras de cortes de frango (UYTTENDAELE et al. 1999).

Yang – Chih Shih (2000) pesquisando 22 amostras de frango inteiro, coletadas no varejo de Taipei, isolou *Campylobacter* em 68 % das amostras. Destas, 60 % foram *Campylobacter jejuni* e 40 % foram *Campylobacter coli*. De 15 amostras de cortes de frango como asa, peito e coxinha da asa, 100 % foram positivas para *Campylobacter*, das quais 71 % foram *C. jejuni* e 29 % foram *C. coli*. De 14 amostras de fígado e moela também encontrou 100 % de positividade sendo 43 % *C. jejuni* e 57 % *C. coli*. Em 12 amostras de frango inteiro coletadas em supermercado considerado de boa higiene e condições de armazenagem sob frio controlado, isolaram 5 (42%) amostras positivas. Nos cortes, 53 % de 17 amostras foram positivas e nos miúdos, 60 % de 15 amostras foram positivas. A alta positividade de *Campylobacter* no varejo, atribui as condições de manuseio e higiene insuficientes a que são submetidas as aves.

Wempe et al., (1989), reportam que as operações de depenagem e resfriamento em água são setores onde há maiores níveis de contaminação. Oosterom et al., (1983), analisando 24 amostras de água de lavagem das mãos de trabalhadores na linha de abate de frangos de corte encontrou 79 % de positividade para *Campylobacter jejuni* (19 casos). Eles sugerem que esta contaminação parece ser somente de origem intestinal, e a contaminação nas mãos geralmente aumenta quando da evisceração, lavagem, acabamento e espostejamento das carcaças.

A pele do frango abriga quantidades significativas de *Campylobacter* quando nos primeiros estágios do processamento. Berrang et al., 2001 encontraram $3,8 \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ de *Campylobacter* na pele (excluindo penas) antes da carcaça entrar no tanque de escaldagem. Após a escalda e depenagem, *Campylobacter* foi recuperado em grande quantidade a partir da água de rinsagem ou *swab* da pele da carcaça (BERRANG et al., 2001; IZAT et al., 1988). Berrang et al. (2001) encontraram 100 % de positividade para *Campylobacter* termofílicos em carcaças após sangria e depenagem, antes de entrar no tanque de resfriamento, considerando a combinação do tipo de amostras analisadas nestes locais (pele de peito, pele da coxa e pele da sobre coxa).

Quiñonez-Ramirez et al. (2000), encontraram 27% de positividade para *Campylobacter* em amostras de panquecas de frango em estabelecimentos comerciais, na cidade do México.

Cason et al. (1997) relataram a incidência de 60 % de *Campylobacter* spp. em 30 carcaças coletadas após depenagem e, em 100 % de 90 amostras coletadas antes do resfriamento e, em 99 % das 90 amostras coletadas após o resfriamento.

Em uma planta processadora no Estado de Santa Catarina, Brasil, a análise microbiológica de 30 amostras de frangos (*swab* cloacal) imediatamente após o abate e de 30 amostras do produto final também por *swab* da superfície do dorso e região cloacal revelou alta incidência de *Campylobacter* sp com valores médios de 56,6 % e 50,0 % respectivamente (MACHADO et al., 1994). Almeida & Serrano (1987) reportam que 47,5 % de amostras de frango vendidas em Campinas, estado de São Paulo, Brasil, foram positivas para *C. jejuni*. No mesmo estado, Leitão et al. (1986), registraram a presença de *C. jejuni/coli* em 62,2 % das carcaças de frangos adquiridas em açougues da região.

Willis et al. (2000) estudaram o efeito do “atraso” no tempo para alojamento de frangos de corte. Um total de 320 frangos de um dia foram obtidos de um incubatório comercial, sendo amostrados semanalmente via *swab* de cloaca, começando no 7º dia de idade com 10 aves, por repetição, e terminando aos 28 dias de idade. Com 21 dias de idade, 92,5%, 95%, 97,5% e 100 % das aves foram *Campylobacter* positivas para 0, 24, 48 e 72 horas de retardo de tempo de alojamento, respectivamente.

1.7. Controle de *Campylobacter* spp.

Whyte et al. (2001), estudando o efeito do fosfato trisódico (TSP) observaram uma redução de 1,71 ciclos logarítmicos para *Campylobacter* termofílicos após tratamento com solução a 10 % de (TSP), por 15 segundos. Para carcaças imersas em solução a 10% de TSP, Federighi et al. (1995) e Stavik et al. (1994) observaram uma taxa de descontaminação para *Campylobacter* spp na ordem de 1,5 e 1,3 \log_{10} UFC·g⁻¹

O fosfato trisódio (TSP) usado em concentrações entre 8 e 12% (pH> 11,5) tem demonstrado ser um efetivo descontaminante de carcaças de aves e é aprovado para

uso nos Estados Unidos pelo Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar do Departamento de Agricultura dos EUA (WHYTE et al., 2001).

Segundo Kemp et al. (2001), o clorito de sódio acidificado (ASC), é um antimicrobiano aprovado pela Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA (USFDA) para tratamento de aves processadas, carnes vermelhas (ovinos, suínos, e ovelhas), produtos marinhos, frutas e vegetais que demonstrou eficiência na redução de positividade para *Campylobacter* e *Salmonella* quando aplicado em carcaças de frango em Sistema de Processamento Contínuo *Online* (COP).

Kemp et al., (2001) analisara 246 carcaças após a evisceração encontrando 73,2 % de positividade para *Campylobacter* termofílicos, resultado este que diminuiu para 49,1 % após passagem “online” através do sistema IOBW (*inside-outside-bird-washer*) seguido de “*spray*” com ASC (Clorito de sódio acidificado: solução aquosa com concentração final de 1.100 ppm de clorito de sódio e 9.000 ppm de ácido cítrico, pH 2,5 +/- 0,05 a 14 – 18°C) por 15 segundos. Após o resfriamento, de 203 amostras coletadas, 57,6 % foram positivas para *Campylobacter*, porém no sistema *Post COP* (*Continuous Online Processing*) uma combinação do IOBW e o processo de desinfecção que eliminam a necessidade de remover carcaças contaminadas da nória para tratamento especial apenas 49,1 % foram positivas. Embora tenha sido registrado um aumento do percentual de positividade pós o resfriamento, a análise quantitativa mostrou uma diminuição de 1,14 para 0,64 \log_{10} UFC* mL⁻¹. Por outro lado, após passagem pelo sistema IOBW (antes do resfriamento), de 230 amostras coletadas, 74,8 % foram positivas para *Campylobacter* comparado com 73,2 % positivas para o sistema *Post-OLR* (*offline reprocessing*), nas carcaças que seguiram as práticas de processamento normal de abate.

Outros métodos para controlar a incidência de *Campylobacter* envolvem temperatura e atmosfera modificadas. Lee et al. (1998) imergiram 15 peles de frango de 1cm² num caldo contendo $1,0 \times 10^8$ UFC* mL⁻¹ de *C. jejuni* 81116 e observaram que o número de células viáveis de *Campylobacter* diminuiu com o tempo, quando as peles foram estocadas a temperaturas de -70°C e -20°C, em diferentes condições de atmosfera modificada (microaerofilia, nitrogênio, vácuo e atmosfera normal). Uma percentagem maior de organismos sobreviveu a -70°C, quando comparados àqueles estocados a -20°C.

Embora as embalagens a vácuo e também de dióxido de carbono pareçam ser vantajosas por não ter apresentado nenhuma célula viável detectável de *Campylobacter* após 14 e 21 dias de estocagem a -20°C , demonstrou-se que o produto em atmosfera modificada manteve a sobrevivência de *C. jejuni*, por pelo menos 14 dias. Em estudos prévios, o *C. jejuni* não foi recuperado quando a bactéria foi estocada a -20°C em frango sem pele, provavelmente porque a pele de frango provê um micro-ambiente apropriado que protege a célula de *Campylobacter jejuni* 81116, possivelmente nas dobras e folículos pilosos, onde há suprimento de proteínas e, possivelmente, também ácidos graxos e óleos que inibem a formação de cristais de gelo (LEE et al., 1998)

Berrang et al., (2000) estudando o efeito de uma segunda escalda aplicada após a depenagem na recuperação de níveis microbianos a partir da rinsagem das amostras com imersão em água a 60°C por 28 segundos, 30 minutos após depenagem, imersão a 60°C por 28 segundos, imediatamente após depenagem, spray a 73°C por 20 segundos, 30 minutos após depenagem e, 71°C por 20 segundos, imediatamente após a depenagem concluiu que nem o tratamento por imersão nem o Spray diminuíram a contagem de *Campylobacter*.

Buhr et al. (2000), estudando a influência do tipo de assoalho das gaiolas durante o transporte e a conseqüente recuperação bacteriana de carcaças rinsadas antes e após a depenagem, reportaram que a incidência de carcaças *Campylobacter* positivas não diferem entre o assoalhamento sólido e o de arame (elevado 1,9 cm para permitir separação de excretas cloacais das aves) para carcaças com penas (46,9% vs. 40,6 %) e depenadas (9,4 vs. 12,5 %). Quatro testes em duplicata foram efetuados com frangos machos de 5 semanas de idade (60 por teste). As cloacas das aves foram tampadas com algodão, e as aves não foram sangradas para minimizar subseqüentes contaminações potenciais (escapamento da cloaca ou conteúdo do papo), durante a depenagem ou a rinsagem da carcaça. Duas carcaças foram escaldadas juntas a $56,7^{\circ}\text{C}$ por 2 minutos em um escaldador contendo aproximadamente 2.000 L de água e então foram depenadas individualmente por 30 segundos. A unidade de depenagem foi sanitizada com água quente (80°C) e resfriada entre carcaças. Após depenagem, a cabeça e pescoço foram removidos com cuidado para não furar o papo e colocadas em saco plástico e rinsadas com 200 ml de água

esterilizada. A presença de *Campylobacter* foi determinada pela transferência de 0,1 mL das diluições efetuadas a partir da água de rinsagem para placas contendo Campy-blood-agar (Difco) e incubado a 42°C, por 24 a 48 horas. Aparentemente *Campylobacter* nas aves pode ser significativamente reduzido pela escalda e depenagem, quando a recontaminação por excreções cloacais são prevenidas.

Byrd et al. (2001) estudaram o efeito da administração de ácido láctico em concentração final de 0,44 % na água servida para beber, durante a dieta hídrica, antes do abate, sobre a contaminação de carcaças com *Salmonella e Campylobacter*. Removeram amostras da linha de abate imediatamente após a lavagem final, antes do resfriamento. Encontraram 85,7% de positividade em 175 amostras controle e 73,1% de 175 amostras teste, positivas para *Campylobacter spp.*

1.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, P.F., SERRANO, A.M. Ocorrência de *Campylobacter fetus* subspécie *jejuni* em carcaças de frango e suínos . Revista de Microbiologia, v. 18, p, 279- 283, 1987.
2. ALTEKRUSE, S.F., STERN, N.J., FIELDS, P.I., SWERDLOW, D.L. *Campylobacter jejuni* - An Emerging Food borne Pathogen. Emerging Infectious Diseases, vol. 5, n. 1, January – March 1999.
3. ALTWEGG, M., BAMERS, A., ZOLLINGER-ITEN, J. PENNER, J.L. – Problems in identification of *Campylobacter jejuni* associated with acquisition of resistance to nalidixic acid. Journal of Clinical Microbiology., vol. 25, p. 1807-1808, 1987.
4. AQUINO, M.H.C., FRANCO, R.M., TIBANA, A. *Campylobacter jejuni* na avicultura: importância e métodos de controle. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, Brasil, vol. 9 , nº 36, p. 17 – 19, 1995
5. BERRANG, M.E. BUHR, R.J., CASON, J.A. *Campylobacter* recovery from external and internal organs of commercial broiler carcass prior to scalding. Poultry Science, Georgia - USA. 79:286 – 290, 2000a.
6. BERRANG, M.E., DICKENS, J.A., MUSGROVE, M.T. Effects of hot water application after defeathering on the levels of *Campylobacter*, coliform bacteria, and *Escherichia coli* on broiler carcasses. Poultry Science, Georgia - USA 79:1689 – 1693, 2000 b.
7. BERRANG, M.E., LADELY, S.R., BUHR, R.J. Presence and level of *Campylobacter*, Coliforms, *Escherichia coli*, and total aerobic bacteria recovered

- from broiler parts with and without skin. Journal of Food Protection, Georgia – USA, v. 64, n. 2, p.184 – 188, 2001.
8. BLACK, R.E. LEVINE, M.M., CLEMENTS, M.L., HUGHES, T.P. BLASER, M.J. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. Journal of Infectious Disease. 157: 472 – 479. 1988.
 9. BLAZER, M.J., WELLS, J.G., FELDMAN, R.A., POLLARD, R.A., ALLEN J.R. The collaborative Diarrheal Disease Study Group. *Campylobacter* enteritis in the United States: a multicenter study.. Annal of Internal Medicine, 98: 360-365., 1983
 10. BUHR, R.J., CASON, J.A., DICKENS, J.A., HINTON Jr., A., INGRAN, K.D. Influence of flooring type during transport and holding on bacteria recovery from broiler carcass rinses before and after defeathering. Poultry Science, Georgia - USA.79:436 – 441, 2000.
 11. BYRD, J.Á.,HARGIS, B.M., CALDWELL, D.J., BAILEY, R.H., HERRON, J.L., MCREYNOLDS, J.L., BREWER, R.L., ANDERSON, R.C., BISCHOFF, K.M., CALLAWAY, T.R., KUBENA, L.F. Effect of lactic acid administration in the drinking water during preslaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broilers. Poultry Science, Washington – USA 80:278 – 283, 2001.
 12. CASON, J.Á., BAILEY, J.S., STERN, N.J., WHITTEMORRE, A.D., COX, N.A. Relationship between aerobic bacteria, *Salmonellae* e *Campylobacter* on broiler carcasses. Poultry Science, Georgia –USA, 76:1037 – 1041, 1997.
 13. GENIGEORGIS, C. A. Importância do Campylobacter na avicultura. Avicultura Industrial, p. 6-12, agosto, 1987

14. HOLT, J.G. *et al. Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9° Ed..Baltimore: Williams &Wilkins, 1994, p.41, 47,58-61, 313.
15. HUNT, J. M. *Campylobacter*. In: Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual.7° Ed. Arlington: AOAC International, 1992, cap.7, p.77-94.
16. ICMSF, **Microorganismos de los Alimentos** : Características de los patógenos microbianos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza , 1996., p. 606
17. IZAT, A.L., GARDNER, F.A. DENTON, J.H., GOLAN, F.A. Incidence and level of *Campylobacter jejuni* in broiler processing. Poultry Science. 67: 1568 – 1572. 1988
18. ISTRE, G.R., BLASER,J.M., SHILLAN, P., HOPKINS, R.S. *Campylobacter* enteritis associated with undercooked chicken. American Journal of Public Health 74:1265-1267. 1984.
19. KEMP, G. K., ALDRICH, M.L., GUERRA, M.L., SCHEIDER, K.R. Continuous online processing of fecal-and ingesta-contaminated poultry carcasses using an acidified sodium chlorite antimicrobial intervention. Journal of Food Protection, Florida - USA, v. 64, n.6, p. 807 – 812, 2001.
20. KRAMER, J. M., FROST, J.A., BOLTON, F.J., WAREING, D.R.A. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: Identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. Journal of Food Protection, Fulwood, Preston,- Reino Unido. v. 63, n. 12, p. 1654 – 1659, 2000.

21. LEE, A. Survival and growth of *Campylobacter jejuni* after artificial inoculation onto Chicken as a function of temperature and packing conditions. *Journal of Food Protection*, Melbourne - Austrália, v. 61, n.12, p.1609 – 1614, 1998.
22. LEITÃO, M.F.F., TANIWAKI, M.H., UBOLDI-EIROA, M.N. *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* no trato intestinal e superfície de carcaças de frango recém abatidas. *Coletânea ITAL*, v.16, p.37-47, 1986
23. LINE, J.E. Development of a selective differential agar for isolation and enumeration of *Campylobacter* spp. *Journal of Food Protection*, Georgia-USA, v.64, n 11, p.1711-1715, 2001.
24. MACHADO, R.A., TOSIN, I., LEITÃO, M.F. Occurrence of *Salmonella* sp and *Campylobacter* sp in chickens during industrial processing. *Revista Microbiologia São Paulo, Brasil*, 25(4), 239 – 244, 1994.
25. MEAD, P.S., SLUTSKER, L. DIETZ, V., MCCAIG, L.F., BRESEE, J.S., SHAPIRO, C., GRIFFIN, P.M. TAUXE, R.V. 1999. Food -related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* vol. 5, September – October, : 607 – 625, 1999
26. OOSTEROM, J., DE WILDE, G.J.A. Origen and prevalence of *Campylobacter jejuni* in poultry processing. *Journal of Food Protection*, Maryland-USA, v.46, n.4, p.339-344, 1983.
27. PEARSON, A. D., GREENWOOD, M.H., DONALDSSON, J., HEALING, T.D., JONES, D.M., SHAHAMAT, M., FELTHAM, R.K.A., COLWELL, R.R. Continuous source outbreak of campylobacteriosis traced to chicken. *Journal of Food Protection*, Maryland-USA, v.63, n. 3, p. 309 –314, 2000.

28. PETERSON, M. C. Clinical aspects of *Campylobacter jejuni* infections in adults. *Westem Journal of Medicine*, 161: 148-152. 1994
29. QUIÑONES-RAMIREZ, E. I., SALINAS, C.V., SUÁREZ, O.R.R., FLORES, M.O.R., MONTANO, R.R. Frequency of isolation of *Campylobacter* from roasted chicken samples from Mexico city. *Journal of Food Protection*, Iztapalapa - México, v. 63, n. 1, p.117 – 119, 2000.
30. Relatório anual da ABEF- 2001
31. Relatório anual da ABEF- 2002
32. ROBINSON, D.A. Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. *British Medical Journal*, 282: 1584, 1981.
33. SENAI/DN, Guia para Elaboração do Plano APPCC; carnes e derivados. Brasília, 1999. 144p (Série Qualidade e Segurança Alimentar). Projeto APPCC Convênio CNI/SENAI/SEBRAE.
34. SHOENI, J. L; DOYLE, M. P. Reduction of *Campylobacter jejuni* colonization of chicks by cecum colonizing bacteria producing anti *C. jejuni* metabolites. *Applied and Environmental Microbiology.*, p.664-670, fev. 1992.
35. SKIRROW, M.B., FIDOE, R.G. AND JONES, D.M., An outbreak of presumptive food-borne *Campylobacter* enteritis. *Journal of Infectious.* 3:234-236. 1981.
36. SKIRROW, M.B. *Campylobacter* infections of man. In *Medical Microbiology*, vol. 4, Easmonn, C.S.F. and Jeljaszewiks, J. (eds). Academic Press: London.

37. SMITH, J.L. *Campylobacter jejuni* infection during pregnancy: Long-term consequences of associated bacteremia, Guillain-Barré Syndrome, and Reactive Arthritis. *Journal of Food Protection, Pennsylvania - USA* vol. 65, n. 4 , p. 696 – 708, 2002.
38. SORVILLO, F.J., LIEB, L.E. AND WATERMAN, S.H. Incidence of campylobacteriosis among patients with AIDS in Los Angeles County. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 4: 598-602. 1991.
39. STAVIK, M. F., KIM, J. W. PHARR, M. D. RABEN, D. P., TSAI, S. and LOBSINGER, M. Effect of trisodium phosphate on *Campylobacter* attached to post-chill chicken carcasses. *Journal of Food Protection*, vol. 57, p. 324- 326. 1994
40. STERN, N.J. LINE, J.E. *Campylobacter*. In: Vanderzant, C., Splittstoesser, D. F. (Ed.) *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3° Ed. Washington: American Public Health Association – APHA Technical Committee on Microbiological Methods for Foods, 1992, cap. 29, p. 475 –495.
41. TAUXE, R. V. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrial nations. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M. J.; TOMPKINS L. S. *Campylobacter jejuni: current and future trends*. Washington: American Society for Microbiology, 1992. p.9-12.
42. TOSIN, I., MACHADO R.A. Ocorrência de *Campylobacter* spp entre manipuladores de alimentos em cozinhas hospitalares de localidade urbana da região Sul do Brasil. *Revista Saúde Pública*, n.29, p. 472 – 477, 1995.
43. UYTTENDAELE, M., DEBEVERE,J. Evaluation of Preston medium for detection of *Campylobacter jejuni in vitro* and in artificially and naturally contaminated poultry products., *Food Microbiology*, Ghent – Bélgica,, 13, p. 115 – 122, 1996.

44. UYTTENDAELE, M., P., DE TROY, DEBEVERE, J. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* *Campylobacter coli*, and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *Journal of Food Protection*. Zellek – Bélgica. 62, 735 – 740, 1999.
45. VARNAM, A. H., M G Evans. **Foodborne Pathogens** : an illustrated text. 1996. Manson Publishing Ltda., 557 p.
46. WALDROUP, A. L. Contamination of raw poultry with pathogens. *World's Poultry Science Journal*. 52:7-25, 1996.
47. WEMPE, J.M., GENIGEORGES, C.A., FARVER,T.B. and YUSUFU,H.I. – Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chicken processing Plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 45: 355 –359, 1989.
48. WHYTE, P., COLLINS, J.D., MCGILL,K. MONAHAN,C. O'MAHONY, H. Quantitative investigation of effects of chemical decontamination procedures on the microbiological status of broiler carcasses during processing. *Journal of Food Protection*, Dublin - Irlanda, v.64, n.2, p.179 – 183, 2001.
49. WILLIS, W.L., MURRAY, C. TALBOTT, C. Effect of delayed placement on the incidence of *Campylobacter jejuni* in broiler chickens. *Poultry Science*, Greensboro, North Carolina - USA. 79:1392 – 1395, 2000
50. YANG-CHIH SHIH, D. Isolation and identification of Enteropathogenic *Campylobacter* spp. from Chicken samples in Taipei. *Journal of Food Protection*, Taipei- República da China, v. 63, n. 3, p. 304 –308, 2000.

CAPÍTULO II

OCORRÊNCIA DE *CAMPYLOBACTER* TERMOFÍLICOS ANTES DO ABATE DE AVES

Artigo submetido à Revista Brazilian Journal of Microbiology

Ocorrência de *Campylobacter* termofílicos antes do abate de aves.

**Paulo Rogério Franchin
Cleide Rosana Vieira Batista**

**Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Agrárias.
Depto. de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Florianópolis, SC.**

Tel. 55 021 495 339030

Fax. 55 021 495 661367

e-mail: paulofranchin@formatto.com.br

ABSTRACT

In order to know possible *Campylobacter* sources before slaughtering process and also select the sample that would better represent positive *Campylobacter* chicken lots, drag swabs samples, chicken feather and cloaca swab samples were analyzed. Samples from transport crates, washing crates water and parapet after bird suspension, that can indicate cross-contamination during the process that comes before slaughter, were also analyzed. Samples that better represented positive *Campylobacter* chicken lots were: feather (79,16 %), followed by cloaca (75%). Drag swab samples (37,5 %) were less representative. *Campylobacter* was found in 50% of the transport crate samples, in 33,33% of the parapet after bird suspension samples and in 25% of the washing crate water samples. Transport crate samples as well as feather and parapet after bird suspension samples were considered points that can make cross-contamination possible.

RESUMO

Para conhecer possíveis fontes de *Campylobacter* antes do processo de abate e selecionar a amostra que melhor represente lotes de frango *Campylobacter* positivos, foram analisadas amostras de cama de aviário (swab de arrasto), penas de frango e swab de cloaca. Amostras de gaiolas de transporte, água de lavagem de gaiola e o parapeito da pendura, que podem possibilitar uma contaminação cruzada no processo que antecede ao abate propriamente dito, também foram analisadas. As amostras que melhor representaram lotes de frango *Campylobacter* positivo foram: pena (79,16 %), seguida por cloaca (75 %). A cama de aviário foi muito pouco representativa (37,5 %). *Campylobacter* foi encontrado em 50% das amostras de gaiola de transporte, 33,33% no parapeito após pendura do frango na nória e em 25% na água de lavagem de gaiola. As gaiolas de transporte, o parapeito e a água de lavagem de gaiolas foram considerados pontos que possibilitam contaminação cruzada.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos 20 anos, *Campylobacter jejuni*, saprófita intestinal de aves, vem se destacando como um dos microrganismos emergentes de origem alimentar, causador de gastroenterite no homem, sendo a carne de aves considerada seu principal veículo (2, 22). Nos Estados Unidos estima-se em 2,1 a 2,4 milhões de casos por ano devido ao consumo de carnes de aves contaminadas por *Campylobacter* (12,20).

Campylobacter tem sido isolado de aves, em vários países. Segundo levantamento realizado por Uyttendaele, et al, 1999 (21), nos anos de 1997 e 1998, em amostras de carcaças, cortes e produtos industrializados de frango, *Campylobacter* foi encontrado em 21,9% de 247 amostras provenientes da Bélgica; 30,2% de 427 amostras da França; 15,4% de 13 amostras da Itália e 54,5% de 44 amostras do Reino Unido. Nas amostras da Bélgica, a incidência de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* foi de 25,6 % em 133 amostras de carcaças de frango e 40,0% em 225 amostras de cortes de frango (21). No Reino Unido, Kramer et al. (2000) encontrou 83,3% de amostras de frango *Campylobacter* positivo (8). No Brasil, embora não existam dados de incidência de casos, pesquisas realizadas em 1987 e 1986 em amostras de carcaças de frango comercializadas no Estado de São Paulo, evidenciaram a presença de *Campylobacter* em 47,5 % (1) e 62,2 % (9), respectivamente.

A exata procedência do *Campylobacter* em aves não está ainda esclarecida. De uma maneira geral, anterior ao processo de abate, os pintinhos são alojados nos aviários e, após completarem o tempo para o abate, as aves são colocadas em gaiolas plásticas, depositadas umas sobre as outras no caminhão e transportadas ao abatedouro. Lá chegando, as aves são então retiradas das gaiolas, penduradas em nórea e encaminhadas para o processo de sangria. Embora as aves freqüentemente excretem de 10^4 a 10^8 células de *Campylobacter* por grama de fezes são assintomáticas (16). Acredita-se que a contaminação das aves é quase que exclusivamente de origem intestinal, não sendo suficientemente eliminada durante o processamento tecnológico, resultando em produtos finais contaminados. As operações de depenagem e resfriamento em água são setores onde ocorrem os maiores níveis de contaminação em carcaças, que parece ser somente de origem

intestinal, porém esses níveis aumentam no processo de evisceração, lavagem, acabamento e esposteamento das carcaças devido à contaminação pelas mãos dos manipuladores (14, 23).

Embora *Campylobacter* venha sendo isolado de diferentes partes do frango como cloaca (11, 4), carcaça, pena e papo (3), não há estudos, a nível nacional, das possíveis fontes de *Campylobacter* antes do processo de abate. Essa informação é de importância fundamental para que se possam tomar medidas de controle adequadas e assim, reduzir a contaminação da carcaça de frango. Logo, considerando a importância da indústria avícola brasileira, que em 2001 contribuiu com 11,42% da produção mundial de 58.987.000 toneladas (15) e a grande incidência de *Campylobacter* associada a produtos avícolas, o presente trabalho teve como objetivos: (1) definir pontos de tomada de amostras que melhor indiquem a presença de *Campylobacter* termofílicos antes do processo de abate, de forma a permitir a identificação de lotes de frangos *Campylobacter* termofílicos positivos. Para esse estudo, foram coletadas amostras da cloaca, penas e cama do aviário; (2) investigar a ocorrência de *Campylobacter* termofílicos em caixas de transportes de frangos (gaiolas), água de lavagem de gaiolas e da superfície do parapeito na linha da nória que antecede a operação de sangria, com o intuito de identificar pontos críticos que possibilitem uma contaminação cruzada no processo que antecede ao abate propriamente dito.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados, aleatoriamente, 8 aviários de 8 produtores diferentes para acompanhamento analítico quanto à presença de *Campylobacter* termofílicos, desde o alojamento dos pintos de um dia até o início das operações de abate no frigorífico. Cada aviário foi amostrado em três diferentes lotes criados ao longo dos anos de 2002 e 2003, perfazendo um total de 24 amostras. A idade das aves para o abate dos lotes foi de 32 a 35 dias. A capacidade de alojamento em cada aviário é de mais ou menos 18.000 pintos. As amostras foram coletadas quando a idade das aves do lote atingia entre 18 a 24 dias.

2.1 Amostras de cama de aviário

Usou-se a técnica de *swab* de arrasto da cama do aviário, onde um *swab* (BioPro Sample Bags - fornecedor: International BioProducts, Inc.) pré-umedecido com 10 mL de água peptonada tamponada – BPW - (Merck. Art. 107228-0, Quimilabor Química e Diagnóstica Ltda.) foi arrastado com movimentos de ida e volta paralelo a linha do bebedouro esquerdo, em toda a extensão longitudinal do aviário de 100 metros x 12 metros. O mesmo procedimento foi repetido no bebedouro do lado direito utilizando o mesmo *swab*.

O *swab* foi fornecido ao técnico responsável pela coleta, que o devolveu no laboratório em caixa isotérmica no mesmo dia ou no máximo no início do dia seguinte à coleta da amostra, quando foi imediatamente colocada em processo de análise.

No laboratório adicionou-se ao *swab* 100 mL de BPW e agitou-se por um minuto em homogeneizador de amostras (Mod. MA 440 Marconi Equipamentos para Laboratório – Hexis Científica). Após homogeneização transferiu-se 10 mL para 90 mL de Caldo Bolton (BB Oxoid CM 983, Oxoid do Brasil Ltda.) adicionado de suplemento seletivo (SR 208E, Oxoid) contido em frasco de vidro estéril adaptado pelos autores para injeção de atmosfera modificada conforme Figura 1. As amostras foram incubadas em condições de microaerofilia (5 % O₂, 10 % CO₂ e 85 % N₂ - White Martins), inicialmente a 37°C por 4 horas, seguido de incubação a 42°C por mais 44 horas. Após as 48 horas de incubação, procedeu-se as etapas de isolamento e identificação, descritas a seguir:



Figura 1. Frasco para incubação em microaerofilia adaptado por Franchin & Batista.

Com auxílio de uma alça de platina de 5 mm, as culturas enriquecidas foram inoculadas na superfície de Agar Bolton modificado (ABM) e Ágar Desoxicolato Cefoperazone Carvão modificado (mCCDA). O ABM foi modificado por Franchin conforme composição citada por Line, (10). O meio foi preparado a partir de caldo Bolton (BB- Oxoid, CM 983) adicionado de 1,5% de ágar-ágar, 0,5 g /litro de sulfato ferroso (CARLO ERBA cod. 451454) e 200 ppm de solução de 2,3,5 cloreto de trifeniltetrazolium, TTC (Merck art.108380). Após o preparo do meio base, adicionou-se suplemento seletivo SR 183E (Oxoid) composto por 10 mg de *cefoperazone*, 10 mg de *trimethoprim*, 10 mg de *vancomycin*, e 25 mg de *cycloheximide*, por 500 mL de meio base.

O meio mCCDA (Oxoid CM 739) foi adicionado de suplemento seletivo SR.155E (Oxoid) composto de 16 mg de *cefoperazone* e 5 mg de *amphotericin B*, por 500 mL de meio.

As culturas em ABM e mCCDA foram incubadas, em microaerofilia, a 42°C por 24/48 horas. Seguido a incubação, de cada placa, 1 a 3 colônias suspeitas foram examinadas quanto a morfologia, através de preparação úmida, ou seja, as colônias eram depositadas em uma lâmina, coberta por lamínula e observadas ao microscópio em contraste de fase (Mod. BX 50 Olympus). As colônias que apresentaram morfologia característica, em forma de espiral ou “S” foram transferidas para Agar Preston com 7 % de sangue de carneiro (Oxoid CM 689) mais suplemento seletivo SR 117E, (Oxoid) composto de Polymyxin B 2500 U.I., 5 mg de *rifampicin*, 5 mg de *trimethoprim*, e 50 mg de *cycloheximide* para 500 mL de meio base. As placas foram incubadas, em microaerofilia, a 42°C por 24/48 horas. Na seqüência, realizaram-se as provas de catalase, oxidase, morfologia e motilidade ao microscópio de contraste de fase, aglutinação em látex (Dryspot *Campylobacter* Test DR 150M, Oxoid) e testes bioquímicos (APY Campy - bioMeriux).

2.2 Amostras de gaiolas de transporte de frangos

Foram coletadas amostras da superfície interna e externa de duas gaiolas de transporte de cada um dos lotes de frangos a serem abatidos, imediatamente após a retirada

dos frangos e ainda antes da lavagem das mesmas, totalizando 24 amostras. Para cada gaiola usou-se dois *swabs*. Após a coleta, os *swabs* foram colocados em um tubo de ensaio com capacidade de 50 mL e adicionaram-se 20 mL de BPW. O tubo foi homogeneizado em agitador de tubos automático (Mod. AP 56 Phoenix) por 30 segundos. Em seguida, transferiu-se 1 mL do homogeneizado para 9 mL de Caldo Bolton e incubou-se em condições de microaerofilia, inicialmente a 37°C por 4 horas, seguido de incubação a 42°C por mais 44 horas.

Seguiu-se então o mesmo processo de isolamento e identificação como descrito no item 2.1.

2.3 Amostras de água de lavagem de gaiolas

Coletaram-se 50 mL de água de lavagem de gaiola diretamente da máquina de lavar gaiolas, totalizando 24 amostras. Estas amostras foram coletadas no momento em que as gaiolas objeto de análise do item 2.2 estavam sendo lavadas. laboratório, no máximo uma hora após a coleta, transferiu-se 1 mL de amostra para 9 mL de caldo Bolton e incubou-se por 4 horas a 37°C, mais 44 horas a 42°C, em atmosfera modificada seguindo-se então o processo analítico de isolamento e identificação como descrito em 2.1.

2.4 Amostras da cloaca e de penas de frango

No momento de retirar os frangos da gaiola, já no abatedouro frigorífico, imediatamente antes de pendurar os frangos na nórea, separou-se 10 gaiolas procedentes de cada lote, retirou-se um frango de cada gaiola e procedeu-se a coleta de amostras de penas e da cloaca, concomitantemente.

As amostras de penas foram coletadas manualmente, com auxílio de luva estéril, da região do pescoço e do peito. As penas de cada frango foram colocadas num mesmo saco amostrador estéril (WHIRL-PACK – Millipore Ind. e Com. Ltda) originando

um *pool* de penas de 10 frangos, equivalente a uma amostra. Vinte e quatro amostras foram coletadas. A esse *pool* adicionou-se 100 mL de BPW e, após homogeneização por 30 segundos, transferiu-se 5 mL para 45 mL de Caldo Bolton e incubou-se em condições de microaerofilia, inicialmente a 37°C por 4 horas, seguido de incubação a 42°C por mais 44 horas. Seguiu-se então o mesmo processo de isolamento e identificação descrito no item 2.1.

As amostras da cloaca foram coletadas com auxílio de *swab* estéril, sendo usado um mesmo *swab* para cada dois frangos. Os 5 *swabs*, que formam uma amostra, foram colocados dentro de um tubo de ensaio estéril com capacidade para 50 mL ao qual adicionou-se 20 mL de BPW e homogeneizou-se por 30 segundos. Foram coletadas no total 24 amostras. Em seguida, transferiu-se 2 mL para 18 mL de Caldo Bolton e incubou-se em condições de microaerofilia, inicialmente a 37°C por 4 horas, seguido de incubação a 42°C por mais 44 horas. Seguiu-se então o procedimento de isolamento e identificação descrito no item 2.1.

2.5 Amostras de parapeito

O parapeito é um artifício utilizado com a finalidade de “acalmar” o frango depois de pendurado na nórea e com isso reduzir hematomas. Com auxílio de dois *swabs* estéreis coletou-se amostra de uma área delimitada em 100 cm² de superfície do parapeito na área de pendura de aves, imediatamente antes da sangria, totalizando 24 amostras. Os dois *swabs* foram transferidos para um tubo de ensaio com tampa rosqueável e adicionou-se 10 mL de BPW. Após homogeneização do tubo por 15 segundos, transferiu-se 1 mL para frasco estéril adaptado contendo 9 mL de caldo Bolton. e incubou-se em condições de microaerofilia, inicialmente a 37°C por 4 horas, seguido de incubação a 42°C por mais 44 horas. Seguiu-se então o procedimento de isolamento e identificação descrito no item 2.1.

2.6 Análise estatística

Para determinar qual amostra (cloaca, cama do aviário e penas) define melhor o lote *Campylobacter* positivo a serem abatidos usou-se o teste estatístico não paramétrico de McNemar, segundo Siegel (17). Um valor de $X^2 > 3,84$ indica significância ao nível de 0,05.

3 RESULTADOS

Dos 24 lotes de aves a serem abatidos, *Campylobacter* termofílicos foram encontrados em 22 lotes, o que corresponde a 91,66% de lotes contaminados.

Os resultados do número e percentual de amostras de *Campylobacter* termofílicos do aviário até as operações de pendura, que antecedem a sangria, são apresentados na Tabela 1. *Campylobacter* termofílicos foram isolados com maior incidência em amostras de penas (79,16%) e cloaca (75,0%), seguida da gaiola de transporte (50,0%), cama de aviário (37,50%), parapeito (33,33%) e água de lavagem de gaiola (25,0%).

Tabela 1. Presença de *Campylobacter* termofílicos em amostras coletadas em diferentes pontos antes do abate de frango durante o ano de 2002 e 2003

Amostras (pontos de coleta)	Nº de amostras analisadas	Amostras <i>Campylobacter</i> positivas	
		Nº	%
Cama de aviário	24	09	37,50
Cloaca	24	18	75,00
Penas	24	19	79,16
Gaiola de transporte	24	12	50,00
Água de lavagem de gaiola	24	06	25,00
Parapeito	24	08	33,33
TOTAL	144	72	50,00

A Tabela 2 mostra a ocorrência de *Campylobacter* termofílicos nos diferentes pontos de coleta de amostras, em cada um dos lotes dos produtores pesquisados. Segundo os dados apresentados nessa Tabela, amostras de frangos que não apresentaram *Campylobacter* termofílicos na cloaca (lotes: 1, 8, 10, 23) podem sofrer contaminação por *Campylobacter* termofílicos encontrado na cama do aviário (lotes: 8,23), gaiola (lotes: 8, 10, 23), penas (lotes: 1, 8) e parapeito (lote 10).

Tabela 2. Ocorrência de *Campylobacter* termofílicos em cama de aviário, gaiola de transporte, água de lavagem de gaiola, cloaca, penas e parapeito.

Produtores x Lotes	<i>Campylobacter</i> termofílicos					
	Cama de aviário	Gaiola de transporte	Água de lavagem de gaiola	Cloaca	Penas	Parapeito
A	1	-	-	-	+	-
	2	-	-	-	+	+
	3	-	+	+	+	+
B	4	+	-	-	+	+
	5	+	+	-	+	+
	6	-	+	+	+	+
C	7	-	-	-	+	+
	8	+	+	-	-	+
	9	-	-	-	+	+
D	10	-	+	-	-	+
	11	-	+	-	+	+
	12	-	-	-	+	+
E	13	-	-	-	-	-
	14	-	-	-	+	+
	15	-	-	-	-	-
F	16	+	+	+	+	-
	17	+	-	-	+	+
	18	+	+	+	+	+
G	19	+	+	+	+	-
	20	+	+	-	+	+
	21	-	-	-	+	+
H	22	-	+	+	+	+
	23	+	+	-	-	-
	24	-	-	-	+	+
TOTAL POSITIVO	09	12	06	18	19	8

Comparando-se a ocorrência de *Campylobacter* termofílicos nas amostras analisadas, a análise estatística dos dados mostrou que: (a) na combinação das amostras de cloaca versus cama de aviário, 11 amostras foram positivas para a cloaca, mas negativa para cama e, 2 amostras foram positivas para cama de aviário, porém negativa para a cloaca, obtendo-se um $X^2 = 4,92$, denotando então uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,0265$); (b) na combinação das amostras cama de aviário x penas obteve-se um $X^2 = 5,78$, valor este ainda mais significativo que a comparação anterior ($p=0,0162$); (c) na combinação das amostras penas versus cloaca, não houve diferença estatística entre as amostras ($p < 0,001$), pois 2 amostras foram positivas para penas e negativas para cloaca e, 1 amostra foi positiva para cloaca, porém negativa para pena, obtendo-se um $X^2 = 0$.

4 DISCUSSÃO

Considerando a combinação das amostras da cloaca, penas e cama de aviário, 21 (87,5%) dos lotes de aves a serem abatidos apresentaram *Campylobacter* termofílicos em pelo menos umas dessas amostras. Esse resultado está de acordo com os encontrados por Stern et al. (19), em 1998, nos estados do Alabama, Arkansas, Califórnia e Geórgia onde isolaram *Campylobacter* em 28 (87,5%) dos 32 lotes analisados em aviários.

Campylobacter termofílicos foram isolados de 75% das amostras da cloaca. Os resultados encontrados neste trabalho são maiores do que aqueles encontrados por Machado (11) e Carvalho (4), que foram de 56,6% e 42%, respectivamente. Há de se considerar que Machado (11) tomou como unidade amostral 30 frangos individuais, enquanto que Carvalho (4) usou um *pool* de 5 frangos e que, no presente trabalho, a unidade amostral foi um *pool* de 10 frangos, totalizando 24 *pools*. Segundo Nielsen et al. (13), na Dinamarca, entre 1995 e 1996, *Campylobacter* foi isolado em 36% de 929 amostras de *swab* da cloaca. Por outro lado, na Holanda, Jacobs-Reitsma (6), encontrou *Campylobacter* em 67% dos lotes pesquisados.

Na análise de penas, 79,16% dos lotes foram positivos para *Campylobacter* termofílicos. Esse resultado é superior aos encontrados por Carvalho (4) em amostras de penas coletadas na depenadeira, que foi 38%. Embora esse autor tenha analisado 25 gramas de penas, no presente estudo, analisou-se cerca de 4 gramas no *pool* de 10 frangos, mas as penas estavam secas e não molhadas como no trabalho de Carvalho (4). Além disso, o não enriquecimento das amostras na metodologia empregada por Carvalho, pode ter contribuído para essa diferença. Kotula e Pandya (7) em análise quantitativa para *Campylobacter* encontraram níveis de $7,5 \log_{10}$ UFC/g em penas de peito de frangos. Por outro lado, Berrang et al. (3) encontraram *Campylobacter* em contagens mais elevadas nas penas (5,4 UFC/g) do que na pele (3,8 UFC/g).

A pesquisa de *Campylobacter* termofílicos em cama de aviário mostrou uma baixa incidência desse microrganismo quando comparado com a cloaca e as penas. Esse fato pode ser decorrente da concentração atmosférica de oxigênio, teor de umidade (2) e temperatura nesse ambiente (22). Acredita-se que a presença de gases amoniacais pode também afetar a sobrevivência de *Campylobacter*, reduzindo com isso a incidência do patógeno neste ambiente, fato que deve ser investigado posteriormente.

Dos 22 lotes que apresentaram *Campylobacter*, em um (lote 10) o microrganismo não foi encontrado em nenhuma das amostras de cama de aviário, cloaca e penas, o que indica uma possibilidade de ocorrer contaminação cruzada, através da gaiola ou parapeito.

Campylobacter termofílicos foram encontrados em 50% das amostras de gaiolas. De Zutter (5), cruzando dados de 12 lotes de frangos, no aviário e no abatedouro após transporte, verificaram que dois lotes que inicialmente não apresentavam *Campylobacter* tornaram-se positivos quando da chegada no abatedouro, indicando que as aves tornaram-se infectadas durante o transporte. Segundo esse mesmo autor, de 72 caminhões usados para o transporte destes 12 lotes, 75 % foram *Campylobacter* positivos antes da limpeza e desinfecção e 83 % foram positivos após a limpeza e desinfecção (5), o que pode evidenciar falhas no processo de limpeza das gaiolas. Stern et al (18,19) analisando frangos antes e após o transporte, observaram que a contaminação por *Campylobacter* foi menor antes do transporte. Estudo deste autor (19), em produtores A, B,

C e D, mostraram que *Campylobacter* aumentou, após o transporte, de 30% para 85%; de 6,2% para 58,8%; de 11,3% para 42,5%; de 28,6% para 85%, respectivamente.

Nesse estudo, as amostras de água utilizada para lavagem de gaiolas também indicam possibilidade de contaminação cruzada, uma vez que 25 % das amostras apresentaram positividade para *Campylobacter* termofílicos.

Amostras do parapeito, apesar de apresentarem uma incidência mais baixa de *Campylobacter* termofílicos (33,33%), passam a ser expressivo ao se considerar que o parapeito entra em contato com a pele do peito do frango, que está geralmente exposta e com poucas penas nos frangos com idade de 35 dias.

Logo, a presença de *Campylobacter* termofílicos no parapeito também possibilita a contaminação cruzada, aumentando a ocorrência de lotes positivos que adentrarão na área de processamento.

A elevada incidência de *Campylobacter* termofílicos na cloaca (75%) sugere que a presença desse microrganismo nas aves é quase que exclusivamente devido a contaminação intestinal, conforme já mencionado por outros autores (14, 23). Por outro lado, embora 6 lotes ou no mínimo 25 % das aves não tenham apresentado *Campylobacter* termofílicos na cloaca, a presença desse microrganismo em cama de aviário, gaiolas, penas e parapeito, torna a carne de aves vulnerável a contaminações cruzadas, aumentando o risco desse patógeno no produto final. Segundo esse estudo, é mais provável que a pena, ou fezes contaminem as gaiolas do que as gaiolas contaminem as penas, pois foram 10 amostras positivas nas penas e negativas nas gaiolas e, somente 3 amostras positivas nas gaiolas que permaneceram negativas nas penas.

5 CONCLUSÃO

Penas e a cloaca foram os que melhor permitem identificar lotes de frangos contaminados por *Campylobacter*.

Tanto as gaiolas como a água de lavagem de gaiolas e o parapeito devem ser considerados como pontos que possibilitam contaminação cruzada, aumentando os riscos desse patógeno em frangos de corte.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, P. F.; SERRANO, A. M. Ocorrência de *Campylobacter fetus* subspécie *jejuni* em carcaças de frango e suínos. *Revista de Microbiologia*, v.18, p.279-283, 1987.
2. AQUINO, M. H. C., FRANCO, R.M., TIBANA, A.. *Campylobacter jejuni* na avicultura: importância e métodos de controle. *Higiene Alimentar*, v.9 , n.36, p.17-19, 1995.
3. BERRANG, M.E., BUHR, R.J., CASON, J.A.. *Campylobacter* recovery from external and internal organs of commercial broiler carcass prior to scalding. *Poultry Science*, v.79, p.286-290, 2000.
4. CARVALHO, A. C. F. B.; LIMA, V. H. C.; PEREIRA, G. T. Determinação dos principais pontos de contaminação de frangos por *Campylobacter* durante o abate industrial. *Higiene Alimentar*, v.16, n.99, p.89-93, 2000.
5. De ZUTTER, L. Crates inoculate broilers with *Salmonella* and *Campylobacter*. *World Poultry – Elsevier*, v.16, n.4, p.19, 2000.
6. JACOBS-REITSMA, W. F. *Campylobacter* bacteria in breeder flocks. *Avian Disease*, v.39, p.355-359, 1995.
7. KOTULA, K. L.; PANDYA, Y. Bacterial contamination of broiler chickens before scalding. *Journal of Food Protection.*, v.58, p.1326-1329, 1995.
8. KRAMER, J. M., FROST, J.A., BOLTON, F.J., WAREING, D.R.A. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: Identification

- of multiple types and comparison with isolates from human infection. *Journal of Food Protection*, v.63, n.12, p.1654-1659, 2000.
9. LEITÃO, M. F. F.; TANIWAKI, M. H.; UBOLDI-EIROA, M. N. *Campylobacter jejuni* e *C. coli* no trato intestinal e superfície de carcaças de frango recém abatida. *Coletânea ITAL*, v.16, p.37-47, 1986.
 10. LINE, J. E. Development of a selective differential agar for isolation and enumeration of *Campylobacter* spp. *Journal of Food Protection*, v.64, n.11, p.1711-1715, 2001.
 11. MACHADO, R. A., TOSIN, I.; LEITÃO, M. F. F. Occurrence of *Salmonella* sp. and *Campylobacter* sp. in chickens during industrial processing. *Revista de Microbiologia*, v.25, n.4, p.239-244, 1994.
 12. MEAD, P. S. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, v.5, p. 607-625, 1999.
 13. NIELSEN, E. M.; ENGBERG, J.; MADSEN, M. Distribution of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* from Danish patients, poultry, cattle and swine. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, v.19, p.47-56, 1997.
 14. OOSTEROM, J., NOTERMANS, S., KARMAN, H., ENGELS G.B. Origen and prevalence of *Campylobacter jejuni* in poultry processing. *Journal of Food Protection*, v.46, n.4, p.339-344, 1983.
 15. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EXPORTADORES DE FRANGOS. *Relatório Anual*: 2001. São Paulo, 2001.

16. SHOENI, J. L.; DOYLE, M. P. Reduction of *Campylobacter jejuni* colonization of chicks by cecum colonizing bacteria producing anti *C. jejuni* metabolites. *Applied Environmental Microbiology*, p.664-670, fev., 1992.
17. SIEGEL, S. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*. New York: McGraw Hill, 1956.
18. STERN, N. J., CLAVERO, M.R.S., BAILEY, J.S., COX, N.A., ROBACH, M.C. *Campylobacter* spp in broiler on the Farm and after transport. *Poultry Science*. v.74, p.937-941, 1995.
19. STERN, N. J., PEDORKA-CRAY, P., BAILEY, J.S., COX, N.A., CRAVEN, S.E., HIETT, K.L., MUSGROVE, S., LADELY, S., COSBY, D., MEAD, G.C. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected U.S. poultry production and processing operations. *Journal of Food Protection*, v.64, p.1705-1710, 2001.
20. TAUXE, R. V. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrial nations. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M. J.; TOMPKINS L. S. *Campylobacter jejuni: current and future trends*. Washington: American Society for Microbiology, 1992. p.9-12.
21. UYTTENDAELE, M., DE TROY, P., DEBEVERE, J. Incidence of Salmonella, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *Journal of Food Protection*. v.62, p.735-740, 1999.
22. VARNAM, A. H.; EVANS, M. G. *Foodborne Pathogens: an illustrated text*. London: Manson Publishing, 1996, 557p.

23. WEMPE, J. M., GENIGEORGIS, C.A., FARVER, T.B., YUSUFU, H.I. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chicken processing plants. *Applied and Environmental Microbiology*, v.45, p.355-359, 1989.

CAPÍTULO III

PROCESSAMENTO DE FRANGOS DE CORTE: OCORRÊNCIA DE *CAMPYLOBACTER* TERMOFÍLICOS

Artigo submetido à revista
ISSN

Processamento de Frango de Corte: Ocorrência de *Campylobacter* Termofílicos

**Paulo Rogério Franchin
Cleide Rosana Vieira Batista**

**Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Agrárias.
Depto. De Ciência e Tecnologia de Alimentos. Florianópolis, SC.**

Tel. 55 021 495 339030

Fax. 55 021 495 661367

e-mail: paulofranchin@formatto.com.br

ABSTRACT

Termofilic *Campylobacter* occurrence in chicken carcass was evaluated in industrialized slaughtering in 2002 and 2003, aiming to point control methods. The samples were collected after defeathering process, after evisceration, after water cooling process, after freezing for 7 days at -20°C . The cooling water and the surface that get in contact with the chicken carcass in the package area were also analyzed. 335 samples were analyzed, in which 71,34 % were termofilic *Campylobacter* positive. The positivity occurrence in chicken samples were: 68,05 % after defeathering process, 69,44% after evisceration, 84,72% after chiller cooling process, 63,33 % after freezing for 7 days at -20°C . The cooling water showed 91,30% positivity and the table surface showed 50% positivity.

RESUMO

A ocorrência de *Campylobacter* termofilicos durante o abate de frangos de corte foi avaliada durante o processamento, nos anos de 2002 e 2003 objetivando indicar métodos de controle. As amostras foram coletadas após o processo de depenagem, evisceração, resfriamento em água e após o 7^a dia de congelamento das carcaças a -20°C . Também foram analisadas amostras de água de resfriamento e da superfície da mesa no setor de embalagem que entra em contato direto com o frango. Foram analisadas 335 amostras, das quais 71,34% foram positivas para *Campylobacter*. As ocorrências de positividade nas amostras de frango foram de 68,05 % após o processo de depenagem, 69,44 % após o processo de evisceração, 84,72 % após resfriamento em chiller, 63,33 % após congelamento. A água de resfriamento apresentou 91,30 % de positividade e a superfície da mesa 50%.

1 INTRODUÇÃO

Doenças gastrointestinais são importantes como causa de doenças humanas em todo o mundo. Na indústria de alimentos, *Campylobacter* spp, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp, representam as maiores ameaças ao ser humano como causas potenciais de doenças de origem alimentar (KEMP et al., 2001).

Há muitos anos se sabe que os representantes do grupo *Campylobacter* estão relacionados com enfermidades nos animais. No entanto, somente nos últimos 10 a 15 anos têm-se identificado *Campylobacter* termófilos microaerófilos como causador de enterites humana. Em alguns países, *Campylobacter* é isolado mais freqüentemente que salmonelas em doentes que padecem de gastroenterites (WALDROUP, 1996). Nos Estados Unidos estima-se que ocorra 2,1 a 2,4 milhões de casos de campilobacteriose humana a cada ano (ALTEKRUSE et al., 1999; KEMP et al., 2001; MEAD, 1999; TAUXE, 1992).

A atual tecnologia de abate não garante produtos livres de *Campylobacter* (GENIGEORGIS, 1987). A contaminação das aves é quase que exclusivamente de origem intestinal, não sendo suficientemente eliminada durante o processamento tecnológico, resultando em produtos finais contaminados (OOSTEROM et al, 1983). Segundo Wempe et al., (1989) as operações de depenagem e resfriamento em água são setores onde há maiores níveis de contaminação.

Vários autores relatam alta ocorrência de *Campylobacter* spp, em pontos definidos de plantas processadoras de frango de corte, como amostras coletadas após operação de depenagem, (BERRANG et al, 2001; CASON et al, 1997, após a evisceração (CASON et al., 1997) e após resfriamento em água (CASON et al., 1997; CARVALHO et al., 2000, bem como do produto final resfriado (LINE, 2001; MACHADO et al., 1994; ALMEIDA & SERRANO, 1987; LEITÃO et al., 1986; UYTTENDAELE, M.P. et al, 1999; KRAMER et al., 2000; YANG-CHIH SHIH, 2000)).

Considerando a importância da indústria avícola brasileira no contexto mundial, e a grande incidência de *Campylobacter* associada a produtos avícolas, o presente trabalho teve como objetivo determinar a ocorrência de frangos *Campylobacter*

termofílicos durante o processamento de frango de cortes após as etapas de depenagem e evisceração, água de escalde e superfície da mesa do setor de embalagem, bem como no frango congelado a -20°C após um período de 7 dias, objetivando indicar métodos de controle, em um abatedouro com capacidade de abate de ± 15.000 frangos por hora, no Sul do Brasil.

2. MATERIAL e MÉTODOS

2.1 Tomada das amostras

Foram selecionados aleatoriamente, 8 aviários de 8 produtores diferentes para acompanhamento analítico quanto à presença de *Campylobacter* termofílicos durante o processamento no abatedouro com capacidade de abate de ± 15.000 frangos por hora. Os frangos provenientes de cada aviário foram amostrados em três diferentes lotes criados ao longo dos anos de 2002 e 2003. A idade de abate dos lotes foi de 32 a 35 dias. A capacidade de alojamento em cada aviário é de mais ou menos 18.000 aves. As amostras de frango foram coletadas após as operações de depenagem, após evisceração antes do chiller, logo após o chiller de resfriamento e o frango congelado a -20°C , por 7 dias. Também foram coletadas amostras de água de resfriamento de chiller e da superfície da mesa, no setor de embalagem.

2.1.1 Frangos após a operação de depenagem

Foram analisados 3 lotes por aviário e de cada lote foram coletados 3 frangos, perfazendo um total de 72 amostras. As amostras foram coletadas em embalagens plásticas estéreis com capacidade para 5 litros, sendo o frango retirado diretamente da nória e cortado os pés ainda na linha de produção. Após as amostras foram enviadas imediatamente ao laboratório.

2.1.2 Frangos após operação de evisceração

O número de amostras e os procedimentos de coleta foram idênticos aos descritos no item 2.1.1, sendo que nesta situação os frangos já estavam sem os pés.

2.1.3 Frangos imediatamente após a saída do chiller

O número de amostras e os procedimentos de coleta foram idênticos aos descritos no item 2.1.2.

2.1.4 Frango armazenado congelado a -20°C por 7 dias

Coletaram-se três amostras de frangos de cada aviário no setor de embalagem. As amostras foram então congeladas em túneis de congelamento e armazenadas por 7 dias a -20°C . Após esse período, as amostras foram enviadas ao laboratório e deixadas em refrigerador a $8 - 10^{\circ}\text{C}$, até descongelar e então analisadas.

2.1.5 Água de chiller

Em frasco estéril, coletaram-se 200 mL de água do chiller após a passagem de pelo menos 50 % dos frangos dos lotes em análise, obtendo um total de 24 amostras.

2.1.6 Superfície da mesa do setor de embalagem

Com auxílio de dois swabs estéreis coletou-se amostra de uma área delimitada em 100 cm^2 da mesa inox no setor de embalagem dos frangos. Transferiram-se os swabs para um tubo de ensaio com tampa rosqueável e transportou-se imediatamente para o laboratório num total de 24 amostras.

2.2 Pesquisa de *Campylobacter* termofilicos após depenagem, evisceração, chiller de resfriamento e congelamento

Das 3 unidades de frango coletadas em cada etapa do processo, 2 unidades separadas, foram submetidas a pesquisa de *Campylobacter* pelo método de enxágüe e 1 unidade foi avaliada pelo método convencional de pesagem de amostra, conforme descrito em 2.2.1.

2.2.1 Pesquisa de *Campylobacter* termofilicos pelo método de enxágüe

A cada um dos dois frangos contido no saco plástico, adicionou-se 150 mL de água peptonada tamponada (APT) e homogeneizou-se, manualmente, por 2 minutos. Após homogeneização, transferiu-se 10 mL do rinsado para 90 mL de caldo Bolton (BB Oxoid CM 983, Oxoid do Brasil Ltda.) adicionado de suplemento seletivo SR 208E (Oxoid) composto por cefoperazone, 10 mg; trimethoprim, 10 mg; vancomycin, 10 mg; e anfotericina, 5 mg. por 500 mL de meio base contido em frasco de vidro estéril adaptado por Franchin & Batista para injeção de atmosfera modificada (Figura 1). As amostras foram incubadas a 37°C, por 4 horas em microaerofilia e mais 44 horas, a 42°C, em atmosfera microaerófila fornecida em cilindro próprio para gases especiais (White Martins) contendo 5 % O₂, 10 % CO₂ e 85 % N₂.

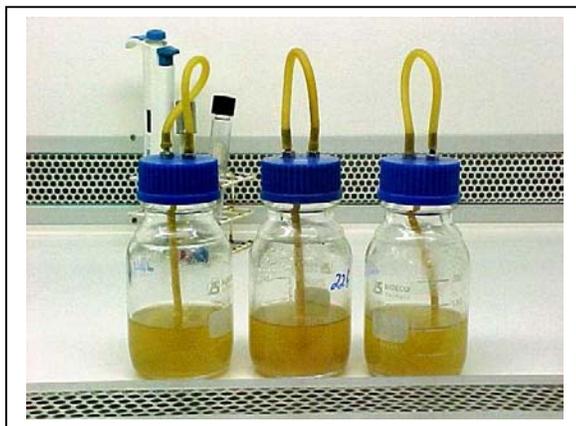


Figura 1. Frasco para incubação em microaerofilia modificado por Franchin & Batista

Após 48 horas, com auxílio de alça de platina de 5 mm, estriaram-se as culturas sobre Àgar Bolton modificado (ABM), preparado a partir de caldo Bolton (BB- Oxoid, CM 983) e adicionado de 1,5% de ágar-ágar; 0,5 g /litro de sulfato ferroso (CARLO ERBA cod. 451454) e 200 ppm de solução de 2,3,5 cloreto de trifeniltetrazolium, TTC (Merck art.108380,), composição esta citada por Line, (2001). Como suplemento seletivo do Àgar Bolton modificado usou-se suplemento seletivo SR 183E (Oxoid) composto por cefoperazone, 10 mg; trimethoprim, 10 mg; vancomycin, 10 mg; e cycloheximide, 25 mg. As amostras foram incubadas a 42°C por 24-48horas. Também se inoculou sobre uma placa de Àgar Desoxicolato Cefoperazone Carvão modificado (mCCDA) (Oxoid CM 739), mais suplemento seletivo SR.155E (Oxoid) composto de cefoperazone 16 mg e amphotericin B , 5 mg e incubou-se a 42°C, por 24-48 horas na mesma atmosfera de gases citada anteriormente. De 1 a 3 colônias suspeitas, por placa, foram submetidas a um “screening” que consistiu de uma preparação úmida das colônias entre lâmina e lamínula para observação microscópica em contraste de fase. As colônias que apresentaram morfologia característica, em forma de espiral ou “S” foram transferidas para Àgar Preston com 7 % de sangue de carneiro (Oxoid CM 689) mais suplemento seletivo SR 117E (Oxoid) composto de Polymyxin B 2500 U.I.; rifampinin, 5 mg; trimethoprim, 5 mg e cicloheximide, 50mg; Após as placas foram incubadas em microaerofilia por 24/48 horas, a 42°C. Realizaram-se então as provas de catalase, oxidase, morfologia e motilidade ao microscópio de contraste de fase (Mod. BX 50 Olympus), latex-aglutinação (Dryspot Campylobacter Test DR 150M, Oxoid) e APY Campy (Biomeriux).

2.2.2 Pesquisa de *Campylobacter* termofilicos pelo método de pesagem

Para a amostra pesada coletou-se, com auxílio de pinça e tesoura estéreis, um total de 25 gramas constituídos da pele das regiões do pescoço (5 g), coxa (5 g), em baixo da asa (5 g), peito (5g) e abdômen (5 g). Transferiu-se para um saco de *stomacher*, adicionou-se 225 mL de APT e homogeneizou-se por 1 minuto. Transferiram-se 10 mL

deste homogeneizado para 90 mL de caldo Bolton e seguiu-se o procedimento analítico conforme descrito em 2.2.1.

2.3 Pesquisa de *Campylobacter* termofilicos em água de chiller

Dos 200 mL da água coletada no chiller, transferiu-se 10 mL para 90 mL de Caldo Bolton e seguiu-se o procedimento analítico conforme descrito em 2.2.1.

2.4 Pesquisa de *Campylobacter* termofilicos na mesa do setor de embalagem

Adicionaram-se 10 mL de APT aos tubos de ensaio contendo os swabs usados na amostragem da mesa. Homogeneizou-se o tubo em agitador de tubos (Mod. AP 56 Phoenix) por 15 segundos. Transferiu-se 1 mL do homogeneizado para frasco estéril adaptado para receber atmosfera de microaerofilia contendo 9 mL de caldo Bolton e seguiu-se o procedimento analítico conforme descrito em 2.2.1.

3. Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi efetuada através da Análise de Intervalo de Confiança para uma Proporção (FREUND & SIMON, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Tabela 1** apresenta os resultados obtidos no isolamento de *Campylobacter* termofilicos nas diferentes etapas do processamento industrial de frangos de corte.. Das 335 amostras, 239 (71,34 %) foram positivas para *Campylobacter* termofilicos, sendo que das amostras de frangos, 68,05 % foram positivas nas amostras coletadas após depenagem, 69,44% após evisceração, 84,72 % após resfriamento em chiller

e 63,88% foram positivas após congelamento por 7 dias, à – 20°C. Das 23 amostras de água de resfriamento do chiller, 21 (91,30%) foram positivas e das 24 amostras de swab de superfície de mesa no setor de embalagem 12 (50 %) foram positivas para *Campylobacter* termofilicos.

Tabela 1. Ocorrência de *Campylobacter* termofilicos nas diferentes amostras coletadas durante o processamento de frango de corte nos anos de 2002 e 2003.

Amostras	Nº de amostras analisadas	Amostras <i>Campylobacter</i> positivas	
		Nº	%
Frango após depenagem	72	49	68,05
Frango após evisceração (antes do chiller)	72	50	69,44
Frango após o chiller	72	61	84,72
Frango congelado 7 dias à – 20°C	72	46	63,88
Água chiller	23	21	91,30
Superfície da mesa do setor de embalagem	24	24	50
TOTAL	335	239	71,34

Na análise de intervalo de confiança para uma proporção somente não há intersecção para a amostra congelada após 7 dias versus a amostra coletada após resfriamento em chiller. Isto demonstra uma diferença significativa entre os dois pontos de coleta. Nas demais amostras ocorreram intersecção, o que significa dizer que não há diferença significativa entre os demais pontos de coleta de amostras. Isto pode estar relacionado a condição de arbitrariedade com que definimos o tamanho da amostra em cada etapa do processo, ou mesmo demonstrar uma tendência devido as características

inerentes a cada etapa do processo de abate, bem como o comportamento do *Campylobacter* em cada uma destas etapas, conforme observado na Figura 2.

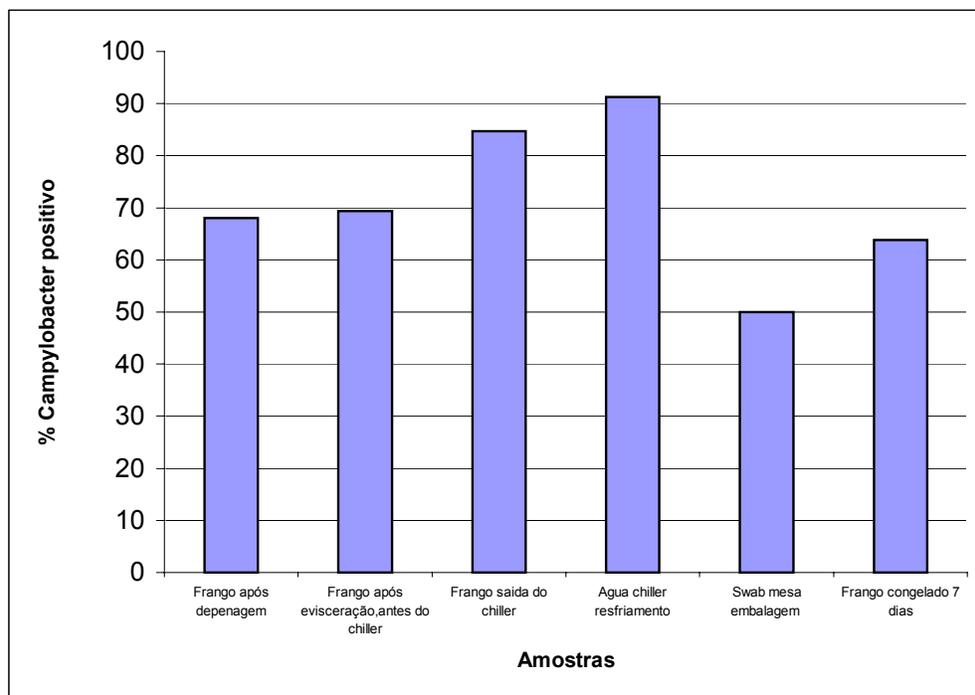


Figura 2. Percentual de *Campylobacter* spp. em cada etapa do processamento de frango de corte.

Os resultados positivos para *Campylobacter* termofílicos encontrados nas amostras de frango coletadas após o processo de depenagem (68,05%) são muito semelhantes aos 63% encontrados por Cason et al. (1997), porém inferiores aos encontrados por Berrang et al. (2001), (95%), quando analisou 20 amostras de pele de peito e sobre coxa.

A pouca diferença no percentual de positividade encontrada entre as amostras coletadas após a depenagem (68,05 %) *versus* a amostra coletada após evisceração (69,44%) sugere que as operações de evisceração, onde sempre há

possibilidades de ocorrer ruptura de vísceras com algum extravasamento de conteúdo intestinal, o qual pode influenciar num aumento “substancial” de positividade por *Campylobacter* no processo não foi o principal fator de contaminação cruzada. Portanto os processos anteriores a evisceração, como depenagem e escalde, devem ser controlados para assegurar a melhoria da qualidade do frango com o objetivo de diminuir ocorrência de *Campylobacter* spp. *Campylobacter* entra na planta processadora sobre a carcaça (superfície externa) e dentro da carcaça (intestino), e é disseminado durante o processamento industrial com maior ou menor intensidade, dependendo das condições tecnológicas da planta processadora (SALEHA, et al.,1998). Franchin et al., (2004) demonstraram que 79 % e 75 % de lotes de frango em processo de abate eram portadores de *Campylobacter* termofílicos em amostras de pena e cloaca, respectivamente. Nas condições desta planta observa-se que a contaminação por *Campylobacter* praticamente se mantém inalterada, não sendo, portanto, influenciada pelas operações de evisceração.

O elevado número de amostras de frango *Campylobacter* positivo após a saída do chiller de resfriamento (84,72%) indica que, o baixo conteúdo em cloro livre na água de resfriamento (1 ppm de cloro livre) não é suficiente para inativar este patógeno, embora seja considerada água potável. Também existe evidência na literatura que somente água potável tem um efeito limitado em remover mecanicamente patógenos (LILLARD, 1989).

Isto pode ser explicado pelo fato de que no chiller ocorre uma contaminação cumulativa gradativa por *Campylobacter*, que mesmo em contra corrente, onde a água limpa é a última que entra em contato com o frango que sai do chiller, não é suficiente para remover a contaminação bacteriana do mesmo, aumentando a sua contaminação superficial com células de *Campylobacter* presentes na água. Este fato foi observado neste estudo onde se registrou um aumento de 69,44 % para 84,72% de amostras *Campylobacter* positivas em frangos após a evisceração e as amostras de frango após o chiller. Esta contaminação cumulativa é evidenciada pelo alto percentual de positividade encontrado na água do chiller (91,30%) e, portanto, o principal fator de contaminação cruzada de todo o processo. Os

resultados desse trabalho ainda são inferiores aos de Cason et al. (1997) que encontrou *Campylobacter* em 100% das amostras antes do chiller e 99 % após o chiller.

Considerando-se que no processamento de frangos de corte, em uma indústria automatizada com tecnologia tradicional, não há nenhum ponto que tenha a finalidade específica de inativar patógenos, não se espera uma redução significativa no percentual de patógenos presentes nas carcaças após o resfriamento em água de imersão, ou qualquer outro ponto do processo pós depenagem, principalmente se não se fizer uso de descontaminante químicos na água utilizada no processo. A contaminação tende a ser pelo menos aquela encontrada nas carcaças logo após a operação de depenagem, ou até mesmo aquela já presente na superfície da pele do frango ainda vivo. Segundo Lillard (1989), as carcaças entram na planta nos estágios pré abate com bactérias firmemente ligadas a pele, e nem todas são removidas por um ou mais processos de lavagens consecutivas, durante o processamento.

Devido também ao aumento de sensibilidade dos métodos analíticos de detecção de patógenos, um percentual elevado de positividade em amostras de frango de corte, em análise de presença/ausência, pode não responder a uma sempre possível diminuição de número de células por carcaça, uma vez que há no processo vários pontos onde ocorrem lavagens através de chuveiros como por exemplo, após rependura depois da depenadeira, durante a evisceração, no final da evisceração e antes de entrar no chiller e assim pode ocorrer remoção mecânica de *Campylobacter*, além da microbiota da superfície da ave. Uma diminuição do número de células por carcaça não leva necessariamente a uma redução no percentual de positividade após cada etapa do processamento, mas pode acontecer. Dados não apresentados neste trabalho, mostraram redução do número de células de *Campylobacter* termofílicos após contagem direta, em 25 gramas de amostra (pele) em diferentes etapas do processo.

Resultados desse estudo mostraram uma redução significativa de amostras positivas para *Campylobacter*, na saída do chiller (84,72 %) quando comparado as amostras após 7 dias de congelamento a -20°C , (63,88%) sendo que, todas as 24 amostras

quantitativas analisadas no frango congelado a -20°C , por 7 dias, apresentaram resultado médio de $1,12 \log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ versus $2,21 \log \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ das amostras na saída do chiller

Como no chiller ocorre o fechamento dos “folículos piliares” devido a ação da baixa temperatura da água de resfriamento, provavelmente a contaminação adicional observada no frango amostrado na saída do chiller ($84,72 - 69,44 = 15,28\%$) estava presente na superfície mais externa da pele, fora da proteção auferida pelos folículos, ondulações e dobras da pele onde há suplemento protéico, ácidos graxos e óleos que inibem a formação de cristais de gelo quando do congelamento. A exposição destas células, presentes na superfície da pele, às temperaturas de congelamento, leva a uma morte celular pela falta dos fatores de proteção mencionados. Pode-se observar ao comparar os resultados obtidos nas amostras após depenagem (68,05%), após a evisceração antes do chiller (69,44%) e após o congelamento (63,88%), que os valores são praticamente equivalentes. Estes dados estão de acordo com Lee et al. (1998), que não recuperaram células de *Campylobacter jejuni* 81116 estocados a -20°C em amostras sem pele e, portanto, sem fatores de proteção auferidos pela presença de pele de frango, e observaram uma redução no número de células viáveis nas amostras com pele.

Campylobacter foi isolado em 50 % das 24 amostras da mesa do setor de embalagem, o que não é surpresa, pois devido a alta ocorrência de amostras *Campylobacter* positivas na saída do chiller poderíamos esperar um valor mais alto. Este valor vem a corroborar com o fato de que a contaminação do frango nesta etapa pode ser devido mais a superfície mais externa do frango, uma vez que já resfriado (temperatura $< 4^{\circ}\text{C}$) os folículos e dobras da pele já estão praticamente fechados. Pelo volume de frangos que passam no setor, com contato nesta superfície, pode-se ainda deduzir que o processo de higienização é eficiente, uma vez que este local também é passível de contaminação gradativamente cumulativa.

5 CONCLUSÃO

A contaminação de frangos por *Campylobacter* termofílicos foi constatada durante o processamento industrial no abatedouro, sendo que os valores percentuais de positividade não foram destoantes com os valores comumente encontrados na literatura.

A diminuição da incidência de *Campylobacter* termofílicos em frangos de corte, poderá ser obtida somente se se trabalhar em conjunto a biosegurança de criação ainda no aviário, no transporte, nas operações pré abate, e utilizar adicionalmente novas tecnologias de descontaminação, físicas ou químicas, como adjuvantes de desinfecção durante o processo. A redução de contaminação no processo de abate não é suficientemente eficiente apenas com o uso de água potável quando esta é utilizada como processo de descontaminação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, P. F.; SERRANO, A. M. Ocorrência de *Campylobacter fetus* subspécie *jejuni* em carcaças de frango e suínos. *Revista de Microbiologia*, v.18, p.279-283, 1987.
2. ALTEKRUSE, S.F., STERN, N.J., FIELDS, P.I., SWERDLOW, D.L. *Campylobacter jejuni* - An Emerging Food borne Pathogen. *Emerging Infectious Diseases*, vol. 5, n. 1, January – March 1999
3. BERRANG, M.E.; LADELY, S.R.; BUHR, R.J. Presence and level of *Campylobacter*, coliforms, *Escherichia coli*, and total aerobic bacteria recovered from broiler parts with and without skin. *Journal of Food Protection* v. 64, n.2, 184-188, 2001
4. CARVALHO, A. C. F. B.; LIMA, V. H. C.; PEREIRA, G. T. Determinação dos principais pontos de contaminação de frangos por *Campylobacter* durante o abate industrial. *Higiene Alimentar*, v.16, n.99, p.89-93, 2000.
5. CASON, J.Á., BAILEY, J.S., STERN, N.J., WHITTEMORE, A.D., COX, N.A. Relationship between aerobic bacteria, salmonellae e *Campylobacter* on broiler carcasses. *Poultry Science*, 76:1037 – 1041,1997
6. FRANCHIN & BATISTA. Ocorrência de *Campylobacter* termofílicos antes do abate de aves. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2004.
7. FREUND, J. E.; SIMON, G. A. Estatística Aplicada Economia, Administração e Contabilidade. Porto Alegre, Bookman , 2001,

8. GENIGEORGIS, C. A importância do *Campylobacter* na avicultura. *Avicultura Industrial*, p. 6-12, agosto, 1987.
9. KEMP, G. K., ALDRICH, M.L., GUERRA, M.L., SCHNEIDER, K.R. Continuous online processing of fecal-and ingesta-contaminated poultry carcasses using an acidified sodium chlorite antimicrobial intervention. *Journal of Food Protection*, v. 64, n.6, p. 807 – 812, 2001.
10. KRAMER, J. M., FROST, J.A., BOLTON, F.J., WAREING, D.R.A. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: Identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. *Journal of Food Protection*, v.63, n.12, p.1654-1659, 2000.
11. LEE, ALVIN; SMITH STUART CRAIG, AND COLOE, PETER JOHN. Survival and Growth of *Campylobacter jejuni* after artificial inoculation onto chicken skin as a function of temperature and packaging conditions. *Journal of Food Protection*, v. 61, n.12, p 1609-1614, 1998.
12. LEITÃO, M. F. F.; TANIWAKI, M. H.; UBOLDI-EIROA, M. N. *Campylobacter jejuni* e *C. coli* no trato intestinal e superfície de carcaças de frango recém abatida. *Coletânea ITAL*, v.16, p.37-47, 1986.
13. LILLARD, H.S. Incidence and recovery of Salmonellae and other bactéria from commercially processed poultry carcasses at selected pre and port evisceration steps. *Journal of Food Protection*, v. 52, n. 2, p. 88-91, 1989
14. LINE, J. E. Development of a selective differential agar for isolation and enumeration of *Campylobacter* spp. *Journal of Food Protection*, v.64, n.11, p.1711-1715, 2001.

15. MACHADO, R. A., TOSIN, I.; LEITÃO, M. F. F. Occurrence of *Salmonella* sp. and *Campylobacter* sp. in chickens during industrial processing. *Revista de Microbiologia*, v.25, n.4, p.239-244, 1994.
16. MEAD, P. S. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, v.5, p. 607-625, set.-out. 1999.
17. OOSTEROM, J., NOTUMANS, S.; KARMAN, H.; ENGELS, G.B. Origem and prevalence of *Campylobacter* in poultry processing. *Journal of Food Protection*, v.46, n.4, p.339-344, 1983.
18. SALEHA, A., MEAD, G.C. AND IBRAHIM, ^aL., 1998. *Campylobacter jejuni* in poultry production and processing in relation to public health. *World's Poultry Science Journal*. 54: 49-58.
19. SHOENI, J. L.; DOYLE, M. P. Reduction of *Campylobacter jejuni* colonization of chicks by cecum colonizing bacteria producing anti *C. jejuni* metabolites. *Applied Environmental Microbiology*. p.664-670, fev. 1992.
20. TAUXE, R. V. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrial nations. In: NACHAMKIN, I.; BLASER, M. J.; TOMPKINS L. S. *Campylobacter jejuni: current and future trends*. Washington: American Society for Microbiology, 1992. p.9-12.
21. UYTENDAELE, M., P., DE TROY, P., DEBEVERE, J. Incidence of *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Listeria monocytogenes* in poultry carcasses and different types of poultry products for sale on the Belgian retail market. *Journal of Food Protection*. v.62, p.735-740, 1999.

22. WALDROUP, A.L. Contamination of raw poultry with pathogens. *World's Poultry Science Journal*. 52:7-25, 1996.

23. WEMPE, J. M., GENIGEORGIS, C.A., FARVER, T.B., YUSUFU, H.I. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chicken processing plants. *Applied Environmental Microbiology*. v.45, p.355-359, 1989.

24. YANG-CHIH SHIH, D. Isolation and identification of Enteropathogenic *Campylobacter* spp. from Chicken samples in Taipei. *Journal of Food Protection*, v.63, n.3, p.304-308, 2000.

7 CONCLUSÕES

A cloaca e as penas são os que melhor permitem identificar lotes de frangos positivos:

Tanto as gaiolas como o parapeito deve ser considerado como pontos que possibilitam uma contaminação cruzada, aumentando os riscos da presença do patógeno *Campylobacter* em aves;

A redução de contaminação no processo de abate não é suficientemente eficiente ao considerarmos que somente água de consumo (potável) seja utilizada como processo de descontaminação. É necessário utilizar meios físicos ou químicos para reduzir ou eliminar a contaminação por *Campylobacter*.

A diminuição da incidência de *Campylobacter* termofílicos em frangos de corte, pode ser obtida somente se trabalharmos em conjunto com a biossegurança de criação no aviário, no transporte, nas operações pré abate e, utilizando adicionalmente novas tecnologias físicas ou químicas, como adjuvantes de desinfecção durante o processo. A outra opção é irradiarmos o produto final se quisermos que de fato seja isento de quaisquer patógenos.

Os valores percentuais aqui relatados não são diferentes daqueles encontrados na literatura técnico-científica consultada no que diz respeito à ocorrência de *Campylobacter* em frangos e seus produtos crus derivados.

A ocorrência de *Campylobacter* em frangos de corte é um fato comum e deve ser tratado como um patógeno a ser combatido, em equipe, com troca de experiências a nível mundial, para que não se delongue a sua eliminação ou redução como aconteceu com *Salmonella* neste tipo de produto.

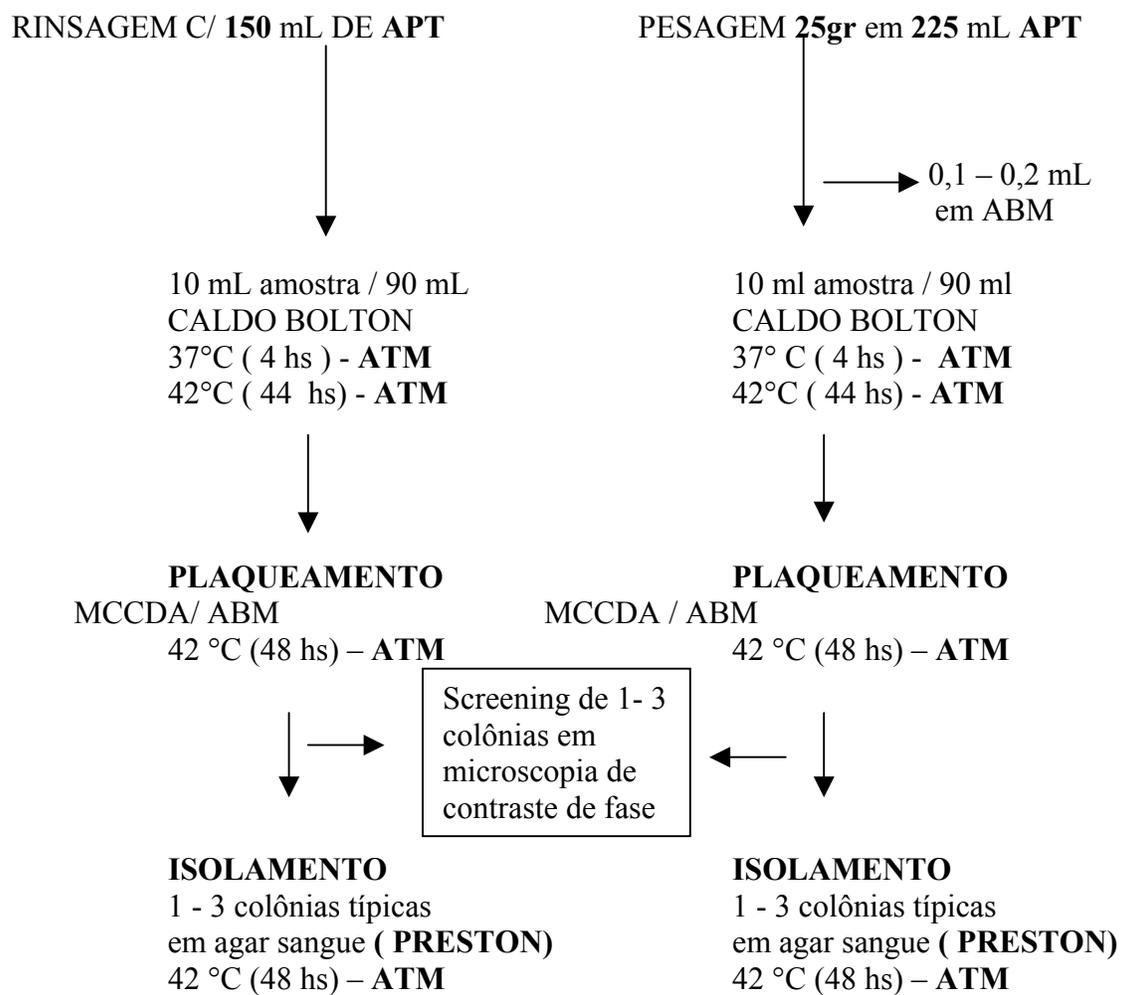
O uso deste patógeno como barreira sanitária disfarçada de barreira comercial, levando em consideração a sua ocorrência, é possível; daí a importância de

países exportadores como o Brasil estudar e eliminar o risco, baixando a incidência do patógeno nos seus plantéis.

ANEXOS

FLUXOGRAMA PARA ANÁLISE DE *CAMPYLOBACTER* SPP.

AMOSTRAS (FRANGO RESFRIADO/CONGELADO)



- Fazer catalase
- Fazer oxidase
- Microscopia p/ motilidade
- Coloração de gram
- Sorologia Dryspot *Campylobacter* Test (oxid)
- Confirmar API CAMPY



Coleta Swab de arrasto no aviário



Pendura de frango



Coleta Swab de cloaca



Retirada de penas



Parapeito na pendura



Coleta de frango após depenagem



Coleta frango após chiller



Superfície inox na embalagem