



**CATÓLICA**  
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA  
**ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA**

MEDIDAS PARA REDUÇÃO DE *Campylobacter* spp. EM  
CARNE DE AVES

por

Ana Rita Martins Aguiar Nogueira

Abril 2016





**CATÓLICA**  
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA  
**ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA**

MEASURES TO REDUCE *Campylobacter* spp. IN  
POULTRY MEAT

by

Ana Rita Martins Aguiar Nogueira

April 2016





**CATÓLICA**  
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA  
**ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA**

MEDIDAS PARA REDUÇÃO DE *Campylobacter* spp. EM  
CARNE DE AVES

Tese apresentada para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Inovação

por

Ana Rita Martins Aguiar Nogueira

Orientação: Professora Doutora Paula Cristina Maia Teixeira

Abril 2016





**CATÓLICA**  
UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA  
**ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA**

## MEASURES TO REDUCE *Campylobacter* spp. IN POULTRY MEAT

Thesis presented to *Escola Superior de Biotecnologia* of the *Universidade Católica Portuguesa* to fulfill the requirements of Master of Science degree in Biotechnology and Innovation

by

Ana Rita Martins Aguiar Nogueira

Supervision: Professora Doutora Paula Cristina Maia Teixeira

April 2016





## Resumo

A campilobacteriose é uma zoonose de distribuição mundial, com repercussões significativas a nível da saúde pública e com elevado impacto socioeconómico na União Europeia. Nos últimos anos tem-se reconhecido *Campylobacter* spp. como um microrganismo emergente de origem alimentar, que se encontra amplamente distribuído no ambiente. A incidência de infeção por *Campylobacter* spp. em humanos tem vindo a aumentar significativamente nos últimos anos.

Segundo dados do relatório da EFSA (European Food Safety Authority), em 2013 foram reportados pelos Estados Membros cerca de 214,779 casos confirmados de campilobacteriose no Homem, no entanto em Portugal não existem dados oficiais sobre esta doença.

A carne de aves, é um alimento frequentemente associado à transmissão de variados microrganismos patogénicos para o Homem, nomeadamente: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*. As operações de abate como a depena e a evisceração são importantes fontes de contaminação das carcaças de aves mas, um aumento muito considerável de contaminação ocorre durante os procedimentos de preparação, conservação e distribuição das carnes.

Devido ao impacto que esta bactéria tem, tanto na saúde dos consumidos como ao nível sócio-económico, a Lusiaves empresa do sector Agroalimentar associou-se à realização deste trabalho científico, tendo como objetivo a realização de um levantamento e análise crítica sobre quais as estratégias que poderão levar à diminuição de *Campylobacter* spp. em carne de aves.

Para que esta informação chegue de forma eficaz a todos os avicultores bem como, aos trabalhadores do matadouro, foram desenvolvidos materiais para uma ação de formação (apresentação em PowerPoint e um Manual de Formação explicativo). Foi também realizada uma pesquisa sobre os projetos nacionais e internacionais, terminados e em curso, sobre *Campylobacter*.

**Palavras – chave:** *Campylobacter*, zoonose, carne de aves, contaminação, Medidas de Controlo



## **Abstract**

Campylobacteriosis is a zoonosis that represents an important public health problem with considerable socio-economic impact in the EU. In recent years *Campylobacter* spp. has been recognized as an emerging foodborne pathogen, which is widely spread in the environment. The incidence of campylobacteriosis in humans has been rising significantly.

According to the EFSA (European Food Safety Authority), in 2013, 214,779 cases of campylobacteriosis in humans were reported by the Member States. However in Portugal there isn't official information available about this disease.

Poultry is often associated to the transmission of several pathogenic microorganisms to humans, namely: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. The slaughter, the plucking and the evisceration are important sources of contamination of the poultry carcasses. Besides this, a considerable increase of contamination also occurs during the preparation, the conservation and the distribution of the poultry.

Due to the impact of this bacteria on the health of the consumers and also on the socioeconomic level, Lusivaves, food company, joined this scientific work, in order to do a survey and critical analysis about the strategies that may lead to the reduction of *Campylobacter* in poultry meat.

In order that this information may effectively reach the poultry raisers and the slaughter workers, training materials (a PowerPoint presentation and an information handbook) was developed. It was made a research about projects concluded and in progress on *Campylobacter*, both nationally and internationally.

**Keywords:** *Campylobacter*, zoonosis, poultry, contamination, Control Measures



## **Agradecimentos**

À Senhora Professora Doutora Paula Teixeira, pelo privilégio que me deu em ser minha orientadora neste projeto, pela constante disponibilidade, dedicação e apoio ao longo da elaboração da dissertação, bem como por todo o conhecimento que me transmitiu.

À empresa Lusiaves pela oportunidade e disponibilidade manifestada no decorrer da elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos que estiveram ao meu lado durante esta fase, pela força e apoio nos momentos mais difíceis.

Por último, tendo consciência que sozinha este trabalho não teria sido possível, expresso a minha gratidão à minha família, em especial aos meus pais e irmã, por serem modelos de coragem, pelo seu incentivo, apoio incondicional e paciência demonstrados e total ajuda na superação dos obstáculos que foram surgindo ao longo de todo o Mestrado. A eles dedico este trabalho!



# Índice

Resumo.....	9
Abstract .....	11
Índice de Figuras.....	17
Índice de tabelas .....	19
Introdução .....	21
Caracterização do género <i>Campylobacter</i> spp.....	23
Características Microbiológicas.....	23
Taxonomia .....	25
Epidemiologia.....	28
Incidência em Humanos .....	29
Campilobacteriose em Portugal .....	35
Fontes de contaminação, vias de transmissão e reservatórios .....	36
Mecanismos de patogénese.....	39
Importância do consumo de carne de aves .....	41
Metodologia .....	43
Atividades desenvolvidas .....	45
Levantamento de “pontos críticos” .....	45
Legislação vigente e tendências futuras em Portugal, CE e países terceiros.....	54
Medidas de controlo .....	55
1. Medidas de Biossegurança.....	55
1.1 Na exploração.....	56
1.1.1 Localização das explorações.....	56
1.1.2 No aviário.....	56
1.1.3 Equipamento .....	58
1.1.4 Controlo de pragas, animais selvagens, insetos e animais domésticos .....	58
1.1.5 Apanha.....	58
1.1.6 Veículos de transporte .....	60
1.2 No matadouro .....	60
1.2.1 Receção e Pendura: .....	61
1.2.2 Insensibilização/ Atordoamento: .....	61
1.2.3 Sangria: .....	61
1.2.4 Escaldão:.....	62

1.2.5 Depena: .....	62
1.2.6 Corte e separação da cabeça:.....	62
1.2.7 Corte das patas: .....	63
1.2.8 Evisceração: .....	63
1.2.9 Lavagem final:.....	63
1.2.10 Corte e separação do pescoço: .....	63
1.2.11 Marca de identificação e salubridade: .....	64
1.2.12 Arrefecimento: .....	64
1.2.13 Conservação: .....	64
2. Água potável.....	64
3. Redução da idade do abate .....	65
4. Desbastes e densidade das aves .....	65
5. Bacteriocinas .....	65
6. Bacteriófagos.....	66
7. Vacinação .....	66
Prevenção pelo Consumidor .....	69
Conclusões gerais .....	71
Trabalho futuro .....	73
Bibliografia.....	75
Anexos .....	83
Anexo 1.....	85
Anexo 2.....	111
Anexo 3.....	138



## Índice de Figuras

Figura 1 - Morfologia de <i>Campylobacter</i> spp. (Fonte: <a href="http://www.theepochtimes.com">http://www.theepochtimes.com</a> ).....	23
Figura 2 - Taxa de notificação de casos de zoonoses confirmados em humanos na União Europeia em 2013 (in EFSA 2015).....	31
Figura 3 - Tendência dos casos notificados confirmados de campilobacteriose em humanos na União Europeia, entre 2009-2013 (in EFSA 2015).....	33
Figura 4 - Fontes de contaminação de <i>Campylobacter</i> (in Young et al., 2007).....	36
Figura 5 - Distribuição de meios alimentares com forte evidência de surtos causados por <i>Campylobacter</i> na União Europeia em 2012 (in EFSA, 2014) .....	38
Figura 6 - Comparação da resposta imunitária à infecção por <i>Campylobacter</i> (in Young et al, 2007) .....	40
Figura 7 - Previsão da produção de carne de aves na União Europeia, Estados Unidos, China, Brasil e Outros (Adaptado de: AVEC, 2014) .....	42
Figura 8 - Previsão do consumo de carne de aves, na União Europeia, Estados Unidos, China, Brasil e Outros (Adaptado de: AVEC, 2014) .....	42
Figura 9 - Cadeia de componentes de um programa de biossegurança. (in SESTI, 2000). .....	56
Figura 10 - Medidas de higiene na entrada e saída dos pavilhões. (in <i>Campylobacter</i> biosecurity guide, FSA). .....	59



## Índice de tabelas

Tabela 1 - Principais espécies e reservatórios de <i>Campylobacter</i> spp. ....	27
Tabela 2 - Casos de campilobacteriose humana reportados no período de 2009-2013 e respectivas taxas de notificação. ....	32
Tabela 3 - Distribuição dos isolamentos por estirpe de <i>Campylobacter</i> spp. em amostras de humanos no ano de 2012. ....	34
Tabela 4 - Detecção de <i>Campylobacter</i> spp. em diferentes amostras. ....	50
Tabela 5 - Detecção de <i>Campylobacter</i> spp. em diferentes amostras realizadas pela Lusiaves. ....	52



## Introdução

Os alimentos são um importante veículo de transmissão de muitos agentes patogénicos e compostos químicos tóxicos, que podem ser introduzidos em qualquer fase da cadeia alimentar, sendo assim necessário a inspeção e implementação de medidas preventivas para assegurar a qualidade e a segurança alimentar [1].

A carne de frango é uma fonte de proteína de elevada qualidade, rica em vitaminas, minerais e aminoácidos essenciais, sendo consumida em grandes quantidades por todo o mundo. É um alimento economicamente acessível a toda a população devido ao seu baixo custo, para além de ter um sabor agradável e de exigir pouco tempo na sua preparação [2].

As zoonoses são doenças infecciosas transmitidas direta ou indiretamente dos animais ao ser humano e vice-versa, sendo a principal via o consumo de alimentos de origem animal contaminados. A campilobacteriose surge como a mais comum zoonose bacteriana, com origem alimentar em diversos países desenvolvidos [3].

Nos últimos anos tem-se reconhecido *Campylobacter* spp. como um microrganismo emergente de origem alimentar, sendo considerado a principal causa de gastroenterites no ser humano [4].

*Campylobacter* spp. encontra-se na natureza, sendo o principal reservatório o trato gastrointestinal de aves, bovinos, suínos, ovinos, canídeos e felinos, bem como animais selvagens. A contaminação por este agente ocorre diretamente através do contacto com animais portadores e respetivas carcaças, quer indiretamente pela ingestão de alimentos contaminados, tais como carne de aves, suínos e bovinos, leite não pasteurizado e água [3].

A redução de *Campylobacter* spp. em carne de aves é uma prioridade da União Europeia (UE). No parecer emitido pela EFSA (2011) sobre as formas de atingir esta redução, são referidas medidas de pré-abate, que podem reduzir o risco para a saúde pública em 50% e medidas durante produção de carne que podem reduzir o risco de saúde pública em 90% [3].

O número de casos humanos de campilobacteriose diminuiu ligeiramente pela primeira vez em cinco anos em 2012. No entanto, a campilobacteriose continua a ser a zoonose mais comumente relatada pelo que é prematuro sugerir que este seja o início de uma tendência de queda. De acordo com os dados disponibilizados pela EFSA, Portugal é um dos países da UE que não procede à notificação dos casos e não apresenta um sistema de vigilância ativo para

esta zoonose, não sendo assim possível fazer uma comparação dos dados sobre *Campylobacter* spp. e de campilobacteriose em Portugal com os de outros países [3].

A rastreabilidade de fontes de contaminação e infeção (animais, alimentos, ambiente, homem), assim como as vias de transmissão, devem constituir objeto de estudo.

A Lusiaves é uma empresa Portuguesa, ligada à Indústria e Comércio Agroalimentar e tem a sua sede em Marinha das Ondas, Figueira da Foz. A história do Grupo Lusiaves iniciou-se em 1986. Atualmente a Lusiaves é uma empresa de referência no setor avícola e agroalimentar em Portugal, sendo especializada em produtos frescos, congelados e transformados de aves.

Esta empresa, associou-se ao mestrado em Biotecnologia e Inovação da Universidade Católica Portuguesa - Escola Superior de Biotecnologia, integrando alguns alunos na investigação e caracterização de microrganismos que o sector avícola tem necessidade de controlar. Através desta parceria, a Lusiaves solicitou à ESB-CBQF a realização de um trabalho científico, tendo como objetivo a realização de um levantamento e análise crítica da informação disponível no que se refere à minimização de *Campylobacter* spp. em carne de aves, procurando compatibilizar a Atividade Produtiva, com a Segurança Alimentar e a Segurança dos consumidores.

Neste trabalho fez-se uma revisão bibliográfica sobre as características gerais do género *Campylobacter* spp., bem como, os mecanismos de patogenicidade envolvidos no aparecimento de doença no Homem e os principais fatores de virulência envolvidos neste processo. Destacou-se também a epidemiologia desta doença, sobretudo na UE, os principais reservatórios e fontes de contaminação no Homem, assim como, as principais manifestações e complicações clínicas da doença. Foram descritas também todas as Medidas de Controlo necessárias para a redução de *Campylobacter*.

Este trabalho poderá ser a base para apresentação de um projeto mais amplo que vise a definição e validação de estratégias para redução de *Campylobacter* spp. em contexto real.

## Caracterização do gênero *Campylobacter* spp.

### Características Microbiológicas

As bactérias pertencentes ao gênero *Campylobacter* spp. são bacilos Gram-negativo não formadoras de esporos, encurvadas ou em forma de S, cujo tamanho varia entre 0,2 a 0,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 0,5 a 5,0  $\mu\text{m}$  de comprimento (Figura 1). A maioria das espécies de *Campylobacter* são microaerofílicas (necessitam de uma atmosfera contendo 3 a 15% de oxigênio), com um metabolismo do tipo respiratório, oxidase positivo.

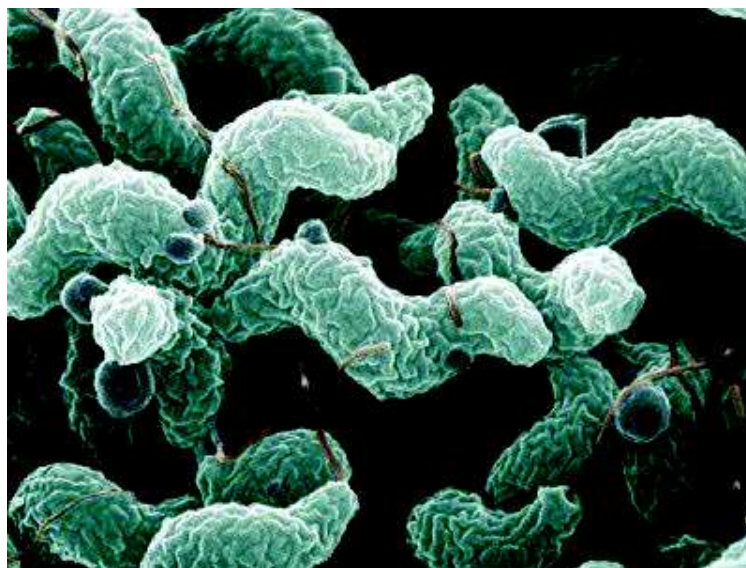


Figura 1 - Morfologia de *Campylobacter* spp. (Fonte: <http://www.theepochtimes.com>)

Estas bactérias possuem um único flagelo polar que se pode encontrar numa ou em ambas extremidades da célula, que pode medir até três vezes o comprimento da célula, e que lhe confere motilidade, ou seja, um movimento característico tipo “saca-rolha”. No entanto, a sua forma tende a alterar-se, tornando-se mais alongadas, quando expostas a concentrações de oxigênio mais elevadas, levando a uma perda da capacidade de movimento [5].

A introdução de fatores de stresse (temperatura, oxigênio, pH) e a diminuição de nutrientes do meio, levam a que a forma característica de *Campylobacter* tenha tendência a desaparecer, adotando assim uma conformação mais esférica, tipo cocóide. A entrada das células numa conformação cocóide, permite a esta bactéria que entre num estado de viabilidade mas não culturabilidade (VNC), adquirindo uma maior capacidade para em

condições adversas sobreviver, mesmo sem formar esporos. Assim, o seu potencial patogénico e a capacidade de retomar à forma normal das células quando invadem as células intestinais do hospedeiro são mantidos [6].

A temperatura ótima de crescimento varia entre os 35 e os 37°C, não crescendo em ambientes com temperaturas inferiores a 30°C, sendo no geral bactérias de crescimento lento. O pH ótimo para o desenvolvimento do género *Campylobacter* situa-se entre 5,8 e 8,0 ficando inativos a pH inferior a 4,9 [7].

O crescimento destas bactérias requer que haja condições especiais, que vão desde as condições de incubação, até à composição dos meios de cultura (meios seletivos), pois sendo bactérias microaerófilas, só crescem em concentrações mínimas de O<sub>2</sub>. Isto deve-se ao facto da maior parte das enzimas de *Campylobacter* serem sensíveis ao oxigénio, apesar de possuir em mecanismos que lhe permitem remover e inativar as formas tóxicas de O<sub>2</sub> formadas durante o seu crescimento. Assim, utilizam-se meios de cultura contendo sangue ou carvão que ajudam no processo de remoção dos radicais de O<sub>2</sub>, potenciando assim o crescimento de *Campylobacter* [8].

Assim, embora uma concentração de O<sub>2</sub> mais elevada no meio de cultura possa permitir o crescimento de algumas estirpes de *Campylobacter* spp., concentrações acima dos 21% são consideradas prejudiciais para o crescimento desta bactéria.

As concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) podem variar entre 3 e 5%, enquanto que as concentrações em azoto podem atingir os 85% em relação ao crescimento ótimo destas bactérias [9].

São necessárias 48 horas de incubação para o aparecimento de colónias de *Campylobacter* bem desenvolvidas em meios de cultura sólido. Estas caracterizam-se por uma cor acinzentada ou ligeiramente rosadas, apresentando um brilho metálico.

O crescimento desta bactéria em cultura é bastante difícil quando todos os requisitos mencionados anteriormente estão presentes (temperatura ótima de crescimento, meios nutritivos suplementados com sangue, necessidade de atmosferas modificadas com baixo teor de O<sub>2</sub>), o que torna morosos os estudos sobre esta bactéria.



## **Taxonomia**

O género *Campylobacter* foi descrito pela primeira vez em 1913 por McFadyean e Stockman, sendo considerado como uma importante causa de infertilidade e aborto em ovinos e bovinos. Este microrganismo foi, na altura, classificado como pertencente ao género *Vibrio* e designado assim, devido à semelhança das suas características morfológicas [10]. Estes organismos microscópicos de forma bacilar, em 1919, foram considerados responsáveis pelo aborto em gatos, e receberam a denominação de *Vibrio fetus* [11].

Em 1932, Jones, observou um agente bacteriano com as características acima referenciadas, num caso de disenteria invernal em bezerros, que chamaram *Vibrio jejuni* [12]. Outros agentes bacterianos deste grupo antes descritos por Prevôt (1940), foram associados a disenteria em suínos, sendo denominados *Vibrio coli* [13].

Antevia-se que se tivesse que percorrer um longo caminho para que esta bactéria fosse associada a infeções nos humanos, apesar do seu reconhecido papel patogénico nos animais. Levy, em 1946, observou microscopicamente estes organismos no sangue de algumas pessoas, entre as quais 350 apresentavam uma infeção gastrointestinal, mas sem se ter conseguido cultivar estes organismos a partir do sangue [14].

Em 1947, Vizente e seus colaboradores isolaram este microrganismo em mulheres grávidas, que foram admitidas no hospital por septicemia, vindo mais tarde a abortar.

O acontecimento mais importante que associou estes organismos à patologia humana, foi protagonizado por King, em 1957, que a partir do sangue de um paciente, conseguiu isolar um microrganismo semelhante aos *Vibrios* antes isolados [15].

Apenas em 1963, Sebald e Verón, a partir de um estudo em que realizaram algumas provas bioquímicas como a hidrólise de hipurato e de DNA, a produção do ácido sulfídrico e a composição de DNA, conseguiram distinguir os organismos já denominados *V. fetus*, *V. jejuni* e *V. coli* das tradicionais bactérias do género *Vibrio* [16].

Assim, este trabalho contribuiu para que fosse criado um novo género que foi designado por *Campylobacter* e que viria a englobar três espécies denominadas *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*.

Atualmente, segundo a 2ª edição do Manual de Bergey de Bacteriologia Sistemática [17], o género *Campylobacter* pertence ao Reino Bacteria, Filo Proteobacteria, Classe

Epsilonproteobacteria, Ordem Campylobacterales, Família *Campylobacteriaceae* [18], englobando as seguintes espécies (três delas com subdivisão a nível de subespécie):

*Campylobacter fetus* (espécie-tipo)

*Campylobacter fetus* subsp. *fetus*

*Campylobacter fetus* subsp. *fetus venerealis*

*Campylobacter coli*

*Campylobacter concisus*

*Campylobacter curvus*

*Campylobacter gracilis*

*Campylobacter helveticus*

*Campylobacter hominis*

*Campylobacter hyointestinalis*

*Campylobacter hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*

*Campylobacter hyointestinalis* subsp. *lawsonii*

*Campylobacter jejuni*

*Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*

*Campylobacter jejuni* subsp. *doytei*

*Campylobacter lanienae*

*Campylobacter lari*

*Campylobacter mucosalis*

*Campylobacter rectus*

*Campylobacter showae*

*Campylobacter sputorum*

*Campylobacter upsaliensis*

Das espécies e subespécies identificadas, as mais importantes são as que pertencem ao grupo das termófilas, nomeadamente *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari*. De salientar que *C. jejuni* e *C. coli* constituem as espécies que são, com maior frequência, isoladas em casos de gastroenterites em humanos e animais [19].

Na tabela 1 encontram-se descritas algumas das principais espécies de *Campylobacter* spp., bem como os respectivos reservatórios e potencial patogénico para o Homem e animais.

Tabela 1 - Principais espécies e reservatórios de *Campylobacter* spp.

<i>Campylobacter</i> spp.	Fonte (s)	Potencial patogénico para o Homem	Potencial patogénico para o animal
<i>C. canadensis</i>	Ave	--	--
<i>C. coli</i>	Suínos, Aves, bovinos, ovinos	Gastroenterites, septicemias, abortos	Gastroenterites nos suínos e macaco, abortos nos roedores
<i>C. concisus</i>	Homem	Gastroenterites	---
<i>C. curvus</i>	Homem	Gastroenterites	---
<i>C. fetus subsp. fetus</i>	Bovinos, ovinos	Septicemias, gastroenterites, abortos, meningites	Abortos em ovinos e bovinos
<i>C. fetus subsp. venerealis</i>	Bovinos	Septicemias	Esterilidade enzoótica dos bovinos, abortos nos bovinos
<i>C. gracilis</i>	Homem	Abcessos	---
<i>C. helveticus</i>	Cães e gatos	---	Gastroenterite nos cães e gatos
<i>C. haminis</i>	Homem	Espécie comensal do intestino	---
<i>C. hyointestinalis subsp. hyointestinalis</i>	Suínos, bovinos, hamsters, Homem	Gastroenterites	Enterite nos suínos e bovinos
<i>C. hyointestinalis subsp. lawsonii</i>	Suínos (estômago)	---	---
<i>C. insulaenigrae</i>	Mamíferos marinhos	---	---
<i>C. jejuni subsp. daylei</i>	Homem	Gastroenterites, gastrites, septicemias	---

<i>C. jejuni subsp. jejuni</i>	Aves, suínos, ruminantes, cães, gatos, água, visons, coelhos, insetos	Gastroenterites, septicemias, meningites, abortos, síndrome de Guillain- Barré	Abortos (ovinos, caprinos, bovinos), gastroenterites, hepatite aviária
<i>C. lanienae</i>	Homem	---	---
<i>C. lari</i>	Aves, água doce, água do mar, cães, gatos, macacos, focas	Gastroenterites, septicemias	Gastroenterites em aves
<i>C. mucosalis</i>	Suínos	---	Enterites necróticas nos suínos
<i>C. rectus</i>	Homem	Periodontites	---
<i>C. showae</i>	Homem	Periodontites	---
<i>C. sputorum</i>	Ovinos, bovino	---	---
<i>C. upsaliensis</i>	Cães, gatos	Gastroenterites, septicemias, abscessos, abortos	Gastroenterites em cães e gatos

(Adaptado de Gomes *et al*, 2008)

## Epidemiologia

A epidemiologia de transmissão de *Campylobacter* spp. é muito complexa, uma vez que pode ser transmitida de animais para seres humanos e vice-versa. A infecção causada por *Campylobacter* spp. é uma zoonose denominada campilobacteriose [20].

Em 1977, Skirrow destacando o papel das aves como reservatório primário de campilobacteriose anunciou que a gastroenterite provocada por *Campylobacter* era uma doença humana, considerando os seus agentes etiológicos como a causa comum da gastroenterite humana [21].

As bactérias deste gênero permanecem praticamente desconhecidas como causas de gastroenterites humanas, levando a que seja subestimada a sua importância devido à sua

ocorrência estar geralmente associada com casos esporádicos cujas fontes são raramente demonstradas [22].

A campilobacteriose é uma doença emergente de origem alimentar, que representa um importante problema de saúde pública, com um grande impacto socioeconómico na UE [23].

Na verdade, pouco ainda se sabe sobre a campilobacteriose, mas o controlo desta doença passa essencialmente por uma compreensão profunda dos seus aspetos epidemiológicos que vão desde as fontes de contaminação até aos hospedeiros humanos, tendo em consideração os mecanismos de patogenicidade. Mas sabe-se que o grau de saneamento, o nível económico e sanitário condicionam as características epidemiológicas da campilobacteriose humana. Assim, as características da doença em países desenvolvidos diferem das dos países em desenvolvimento [24].

O conhecimento da real incidência e/ou prevalência de casos de campilobacteriose é de extrema importância, sendo assim necessário uma vigilância epidemiológica rigorosa, para permitir a criação de uma política integrada de segurança alimentar [25].

### **Incidência em Humanos**

A maior causa de gastroenterite bacteriana em todo o mundo, sobretudo em crianças, é a infeção por *Campylobacter*, que ocorre tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento. Das várias espécies de *Campylobacter* spp. estima-se que cerca de 90% das infeções em humanos sejam causadas pela espécie *C. jejuni*, e 3 a 5% por *C. coli*. Estas espécies são encontradas no trato gastrointestinal de diversos mamíferos e aves domésticas e selvagens [26].

Os sinais clínicos geralmente associados a infeção por *Campylobacter* spp., em humanos, incluem dor abdominal, febre, náuseas, e diarreia. A dor abdominal e a febre precedem geralmente a diarreia. Apesar da diarreia ser severa, a desidratação poderá ser a única consequência da infeção em indivíduos sem alterações no funcionamento do sistema imunitário. O período de incubação varia entre 2 a 7 dias após a ingestão de água ou de alimentos contaminados e a doença geralmente dura 7 a 10 dias. Mesmo na ausência de sinais clínicos, *Campylobacter* spp. pode ser excretado nas fezes durante várias semanas [27].

A doença em pessoas muito jovens e idosas pode ser grave e deixar sequelas, bem como por vezes a associação com o aparecimento de casos de artrite reativa e do síndrome de Guillain-Barré (doença autoimune que se manifesta por uma polineuropatia inflamatória aguda progressiva caracterizada por debilidade muscular que, por vezes, conduz à paralisia) pode levar à necessidade de hospitalização.

A bacteriemia como consequência de infeção por *Campylobacter* spp. é rara e na maior parte dos doentes afetados não necessita de tratamento, sendo que o repouso e fluidoterapia são os cuidados mais indicados para reverter a maior parte da sintomatologia desta doença, que acaba por ser auto limitante. As complicações associadas a campilobacteriose surgem muito raramente. No entanto, cerca de 1% dos doentes podem vir a ter manifestações clínicas mais graves, ocorrendo estas com maior frequência em jovens e idosos [28].

A terapia antimicrobiana é necessária apenas em casos mais graves e prolongados, como em caso de uma infeção sistémica ou para controlar a doença em grupos de alto risco. Nestes casos, os antimicrobianos indicados são os macrolídeos e fluoroquinolonas, seguidos de tetraciclina [29].

A morte também pode ser uma das consequências de campilobacteriose sendo muito rara, mas podendo acontecer quando há generalização da doença em indivíduos imunocomprometidos ou em indivíduos muito jovens ou idosos. Alguns estudos revelam que as mortes por infeções associadas a *Campylobacter* spp. rondam os 0,05 casos por cada 1000 infeções [28].

De acordo com o último relatório dos estados membros da União Europeia (*European Food Safety Authority* [EFSA]), *Campylobacter* continua a ser o agente patogénico gastrointestinal com o maior número de casos [30].

O número de casos reportados de campilobacteriose, em 2013, foi de 214,779 (Figura 2), com uma taxa de notificação dos estados membros de 64,8 por 100.000 habitantes, apresentando valores idênticos a 2012 [30].

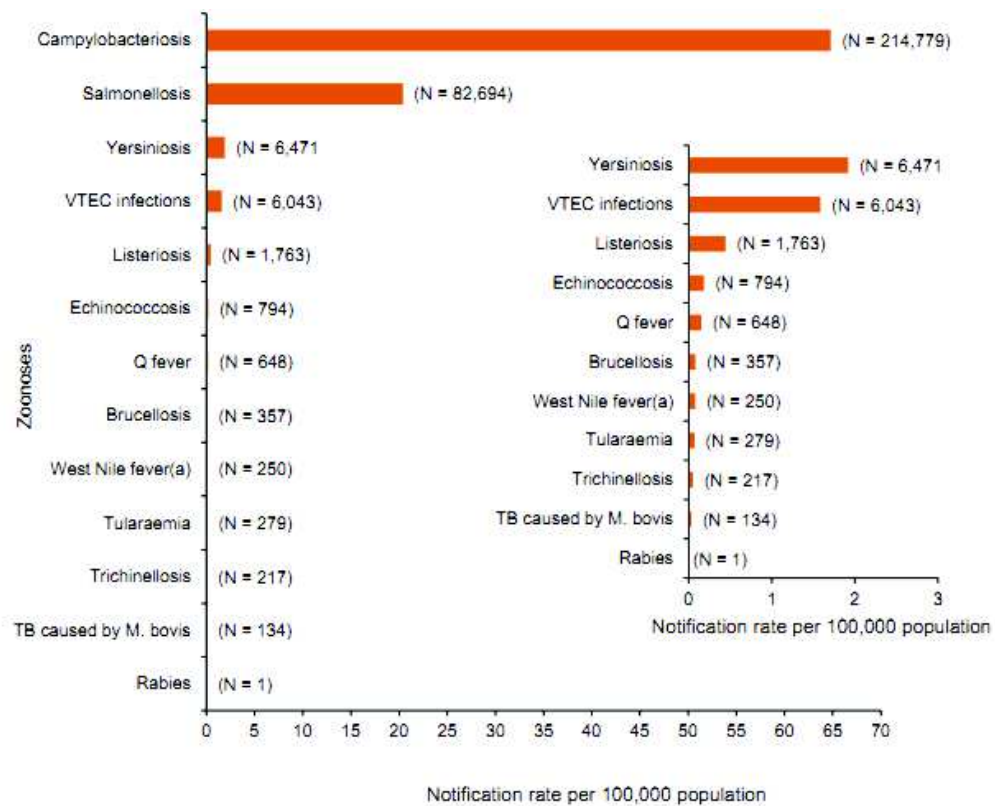


Figura 2 - Taxa de notificação de casos de zoonoses confirmados em humanos na União Europeia em 2013 (in EFSA 2015)

As mais elevadas taxas de notificação específicas de cada país foram observadas na República Checa (173.7 casos por 100.000 habitantes), Luxemburgo (125.7), Eslováquia (108.0), e Reino Unido (104 por 100.000 habitantes), enquanto as menores taxas de notificação ocorreram na Letónia Bulgária, Roménia, Polónia e Bulgária (< 2 casos por 100.000 habitantes). Portugal e Grécia não declararam casos de campilobacteriose, devido ao facto de não estar implementado nestes países qualquer sistema de vigilância epidemiológica (Tabela 2) [30].

Tabela 2 - Casos de campilobacteriose humana reportados no período de 2009-2013 e respectivas taxas de notificação.

	2013			2012		2011		2010		2009			
	National Coverage <sup>(a)</sup>	Data Format <sup>(a)</sup>	Total Cases	Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates		Confirmed Cases & Rates			
				Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate
Austria	Y	C	5726	5726	67.7	4710	56.0	5129	61.0	4404	52.6	4502	53.9
Belgium <sup>(b)</sup>	N	C	8148	8148	-	6607	-	7716	-	6047	-	5697	-
Bulgaria	Y	A	124	124	1.7	97	1.3	73	1.0	6	0.1	26	0.3
Croatia <sup>(c)</sup>	Y	A	1379	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyprus	Y	C	56	56	6.5	68	7.9	62	7.4	55	6.7	37	4.6
Czech Republic	Y	C	18389	18267	173.7	18287	174.1	18743	178.7	21075	201.5	20259	194.3
Denmark	Y	C	3772	3772	67.3	3720	66.7	4060	73.0	4037	72.9	3353	60.8
Estonia	Y	C	385	382	28.9	268	20.2	214	16.1	197	14.8	170	12.7
Finland	Y	C	4066	4066	74.9	4251	78.7	4267	79.4	3944	73.7	4050	76.0
France <sup>(d)</sup>	N	C	5198	5198	39.6	5079	38.9	5538	42.6	4324	33.5	3956	30.7
Germany	Y	C	63636	63271	77.3	62504	76.5	70812	86.8	65110	79.8	62787	76.7
Greece <sup>(e)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hungary	Y	C	7250	7247	73.5	6367	64.4	6121	62.4	7180	72.9	6579	66.6
Ireland	Y	C	2288	2288	49.8	2391	52.2	2433	53.2	1660	36.5	1810	40.0
Italy <sup>(b)</sup>	N	C	1178	1178	-	774	-	468	-	457	-	531	-
Latvia	Y	C	9	9	0.4	8	0.4	7	0.3	1	0.0	0	0.0
Lithuania	Y	C	1142	1139	38.3	917	30.5	1124	36.8	1095	34.9	812	25.5
Luxembourg	Y	C	675	675	125.7	581	110.7	704	137.5	600	119.5	523	106.0
Malta	Y	C	246	246	58.4	220	52.7	220	53.0	204	49.3	132	32.1
Netherlands <sup>(f)</sup>	N	C	4182	3702	42.4	4248	46.8	4408	50.9	4322	50.1	3782	44.1
Poland	Y	C	552	552	1.4	431	1.1	354	0.9	367	1.0	359	0.9
Portugal <sup>(g)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Romania	Y	C	218	218	1.1	92	0.5	149	0.7	175	0.9	254	1.3
Slovakia	Y	C	5953	5845	108.0	5704	105.5	4565	84.7	4476	83.0	3813	70.8
Slovenia	Y	C	1027	1027	49.9	983	47.8	998	48.7	1022	49.9	952	46.8
Spain <sup>(g)</sup>	N	C	7064	7064	50.4	5548	47.4	5469	46.9	6340	54.6	5106	44.2
Sweden	Y	C	8114	8114	84.9	7901	83.3	8214	87.2	8001	85.7	7178	77.5
United Kingdom	Y	C	66465	66465	104.0	72560	114.3	72150	115.3	70298	113.2	65043	105.5
<b>EU Total</b>	-	-	<b>217242</b>	<b>214779</b>	<b>64.8</b>	<b>214316</b>	<b>65.9</b>	<b>223998</b>	<b>69.0</b>	<b>215397</b>	<b>67.0</b>	<b>201711</b>	<b>62.8</b>
Iceland	Y	C	101	101	31.4	60	18.8	123	38.6	55	17.3	74	23.2
Liechtenstein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Norway	Y	C	3291	3291	65.2	2933	58.8	3005	61.1	2682	55.2	2848	59.3
Switzerland <sup>(h)</sup>	Y	C	7481	7481	93.1	8432	106.0	7963	101.2	6611	84.9	7803	101.3

(in EFSA, 2015)

**Legenda:**

- (a): Y- sim; N-não; A-Relatório de casos agregados; C: Relatório baseado em casos; --: Não existem relatórios.
- (b): Vigilância sentinela; Não existe informação sobre a cobertura estimada; A taxa de notificação não pode ser estimada.
- (c): Classificação dos casos desconhecidos.
- (d): Vigilância sentinela; As taxas de notificação calculadas com cobertura estimada de 20%.
- (e): Não existem Sistemas de Vigilância.
- (f): Vigilância sentinela; As taxas de notificação calculadas com cobertura estimada de 52%.
- (g): Vigilância sentinela; As taxas de notificação calculadas com cobertura estimada de 30% em 2013 e 25% entre 2009-2012.
- (h): A Suíça forneceu os dados diretamente à EFSA.



Entre 2009 e 2013, houve uma tendência sazonal clara em casos confirmados de campilobacteriose comunicados na UE, com picos nos meses de verão. A média móvel de 12 meses foi relativamente estável, durante o período de 5 anos, sem um aumento ou decréscimo estatístico significativo da tendência quando analisado por mês (Figura 3).

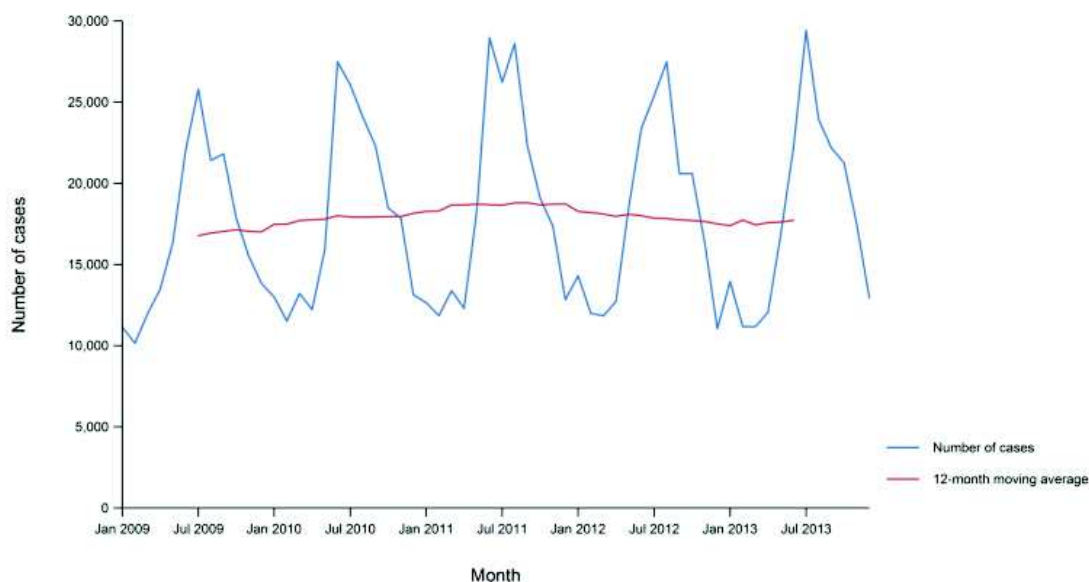


Figura 3 - Tendência dos casos notificados confirmados de campilobacteriose em humanos na União Europeia, entre 2009-2013 (in EFSA 2015)

Nos Estados Unidos foram estimados mais de 845 mil casos de campilobacteriose em 2011, colocando este microrganismo na lista dos cinco patogênicos que mais causaram doenças de origem alimentar no país. Nesse ano, *Campylobacter* spp. provocou mais de 8.400 hospitalizações e 76 mortes resultantes de complicações da infecção [31]. Na Austrália, segundo dados do Departamento de Saúde do país, foram notificados mais de 16.900 casos de *Campylobacter* spp. em 2010, tornando-o o maior causador de gastroenterites do país [32].

Em 2012, apenas 46,3% dos casos confirmados de *Campylobacter* spp. foram caracterizados quanto à sua espécie. A espécie mais frequentemente identificada foi *C. jejuni*, seguindo-se as espécies *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* e finalmente, *C. fetus* (Tabela 3) [3]. A diferenciação entre espécies de *Campylobacter* não é considerado um facto importante, visto que *C. jejuni* e *C. coli* causam sintomatologia clínica muito parecida [33].

Tabela 3 - Distribuição dos isolamentos por estirpe de *Campylobacter* spp. em amostras de humanos no ano de 2012.

	<i>C. jejuni</i> (%)	<i>C. coli</i> (%)	Outras espécies identificadas (%)	Estirpe desconhecida (%)
Total EU	81,1	6,2	0,27	53,7

(Adaptado de EFSA, 2014)

De várias amostras recolhidas num matadouro de aves, em 2008, concluiu-se que 86% a 100% dos bandos de aves avaliados estavam contaminados com *C. jejuni* e *C. coli*. Nas carcaças de frango de diferentes sistemas produtivos (biológico, extensivo e intensivo) a frequência de *C. jejuni* e *C. coli* situou-se entre os 80 a 86%. Após desmancha a maioria (93%) dos peitos apresentaram *Campylobacter* spp. (positivo em 25g amostra), sendo a espécie *C. jejuni* a predominante (56%) [33].

Em géneros alimentícios, os dados obtidos pela EFSA em 2012, não alteraram relativamente ao que já tinha sido concluído em anos anteriores. Assim, a maior parte de amostras contaminadas por *Campylobacter* spp. foi mais uma vez reportada em carne de frango fresca (*broiler*), com uma frequência de 23,6%, sendo um valor inferior quando comparado com 2011, em que 31,3% das amostras foram positivas [3].

A verdadeira incidência de campilobacteriose não é conhecida e estima-se que seja oito a 100 vezes superior ao número de casos reportados, uma vez que os casos que apresentam sintomatologia clínica menos severa e idêntica a diversas doenças, ficam muitas vezes por declarar e sem que seja realizado o isolamento da bactéria ou mesmo que o indivíduo chegue a ser consultado por um médico [26].

A contribuição das várias fontes de transmissão na União Europeia é dependente do país que se considerar e segue determinada sazonalidade, devido ao clima, padrões de consumo, sistema de produção de alimentos, distribuição de água destinada ao consumo humano e implementação de medidas de controlo.

Uma vez que o calor mata as células de *Campylobacter* spp., o consumo de carne de frango bem cozinhada é uma boa medida de controlo para evitar infeções por infeções causadas por esta bactéria [28].

## **Campilobacteriose em Portugal**

Apesar de não existirem dados oficiais sobre *Campylobacter* spp. em Portugal, foram realizados alguns estudos no sentido de se conhecer a prevalência deste agente em humanos.

Existem poucos estudos e os seus resultados não são diretamente comparáveis ou porque o método laboratorial e os seus resultados não são diretamente comparáveis ou porque o método laboratorial escolhido foi diferente ou mesmo porque, apesar de serem relativos a *Campylobacter* spp., cada um tem o seu objetivo que não se cruza com o dos restantes estudos.

Num estudo realizado por Mena *et al.*, entre maio de 2005 e outubro de 2006, 164 amostras de aves de capoeira, obtidas em diversos estabelecimentos de venda a retalho e a partir de diferentes produtores portugueses, foram analisadas para avaliar a presença de *Campylobacter* spp. Foram identificadas frequência de contaminação por *C. jejuni* de 68% e de 32% por *C. coli* [9].

Noutro estudo realizado por Vicente *et al.*, dos 123 isolados de *Campylobacter* spp. obtidos a partir de culturas de fezes humanas, 110 foram identificados como *C. jejuni* e apenas 13 como *C. coli* [34].

Um outro trabalho realizado por Fernandes *et al.*, evidenciou que, de um total de 112 isolados de *Campylobacter* spp. de amostras fecais humanas, 92 correspondiam a *C. jejuni* e 20 a *C. coli*. [35].

Os dados disponíveis em Portugal relativos à contaminação de aves *in vivo* por *Campylobacter* spp., reportam-se ao trabalho realizado por Cabrita *et al.*, em que houve a colheita de 59 amostras fecais de aves vivas, tendo obtido 79,7% das amostras contaminadas por *C. jejuni* e 20,3% por *C. coli* [36]. Noutro estudo realizado por Veloso *et al.*, a partir de 364 amostras de carcaças de frango analisadas, obteve-se uma taxa de isolamento de espécies termofílicas de *Campylobacter* de 65,6%, sendo a espécie mais frequente *C. jejuni* (57,7%), seguida por *C. coli* (42,3%) [37].

Assim, torna-se urgente a implementação de sistemas de notificação para as infeções por *Campylobacter*, sendo igualmente urgente ajustar o atual sistema de vigilância de acordo com as normas comunitárias. Vicente *et al.*, referem que dada a estrutura do sistema dos serviços de saúde em Portugal, seria muito importante que a responsabilidade de notificação

dos casos fosse dividida pelos médicos assistentes, laboratórios, médicos veterinários e epidemiologistas [34].

### Fontes de contaminação, vias de transmissão e reservatórios

*Campylobacter* spp. encontra-se disseminado na natureza, estando presente em diferentes organismos e ambientes, sendo o seu principal reservatório, o trato gastrointestinal de animais selvagens e domésticos. De facto, *Campylobacter* spp. é frequentemente encontrado em animais cuja carne é consumida pelo Homem, como aves, bovinos, ovinos e suínos; em animais domésticos, como cães e gatos, mas também em animais selvagens como aves e mamíferos [38]. A campilobacteriose pode ser contraída pelo ser humano tanto pelo contacto direto com animais infetados ou carcaças de animais contaminados, como através da ingestão de géneros alimentícios ou água contaminados (Figura 4).

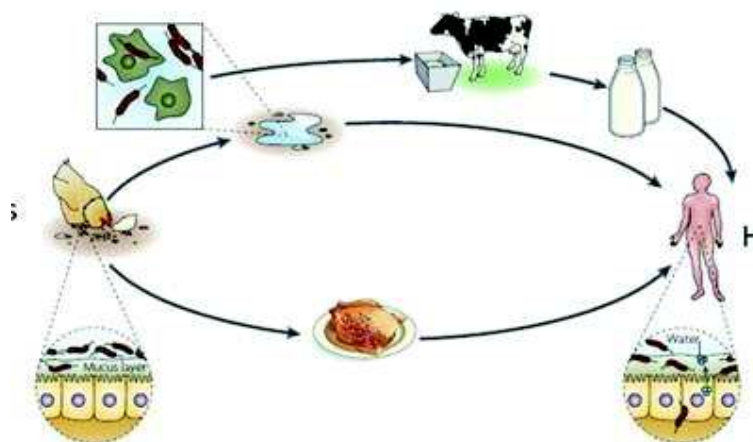


Figura 4 - Fontes de contaminação de *Campylobacter* (in Young *et al.*, 2007)

A possibilidade dos animais de companhia, em particular os cães poderem ser uma fonte de *Campylobacter* spp. que origina doença em humanos tem vindo a ser estudada. Atualmente já existem evidências epidemiológicas que associam *Campylobacter* spp. em cães e a doença em humanos, sendo que ainda não são perceptíveis quais são os fatores de risco associados à transmissão [39].

Segundo a EFSA, em 2012, diversos países apresentaram dados em que *Campylobacter* era isolado principalmente em frangos de corte, mas também em suínos, bovinos, caprinos, ovinos e animais de estimação. A proporção de amostras de alimentos e animais positivo para *Campylobacter* permaneceu, em 2012, em níveis semelhantes aos anos anteriores, com a ocorrência de *Campylobacter* em carne de frango continuar a ser elevada [3].

A colonização das aves ocorre por várias fontes, como água, ração, contacto com outras espécies de animais e fezes de outras aves ou animais presentes no aviário. *Campylobacter* spp. geralmente coloniza o trato gastrointestinal de aves sem causar qualquer alteração patológica. A presença do agente patogénico é restrita à mucosa intestinal, que é um local que favorece o seu crescimento, porque a sua temperatura ótima de crescimento de 42°C coincide com a temperatura do intestino das aves, que difere da temperatura encontrada em mamíferos de 37°C [40].

Os frangos apresentam uma elevada prevalência de *C. jejuni*, sendo portadores assintomáticos. A relação de comensalismo que este organismo estabelece com os frangos dá origem a uma colonização de carácter persistente. No entanto, este tipo de colonização não se verifica em frangos com apenas 2 a 3 semanas de vida, existindo uma fase *lag* até que se verifique a colonização do intestino por *Campylobacter* [41]. Os mecanismos responsáveis por este fenómeno são ainda desconhecidos mas poderão estar relacionados com diversos fatores como a presença de anticorpos maternos, antibióticos provenientes da ração ou devido à microbiota intestinal não se encontrar completamente desenvolvida. Uma vez infetada a primeira ave rapidamente ocorre a disseminação da infeção pelos restantes membros do bando, encontrando-se colonizadas com *Campylobacter* a partir do sétimo dia de exposição [41].

As espécies de *Campylobacter* spp. podem colonizar o trato intestinal das aves em níveis elevados, podendo contaminar as carcaças e vísceras comestíveis durante o abate, fazendo perpetuar o agente ao longo da linha de produção de alimentos, nomeadamente até à fase de produtos acabados e prontos para consumo [3]. As principais causas de campilobacteriose estão associadas à carne contaminada, não só através do seu consumo direto (mal cozinhada) como também como fonte de contaminação cruzada de outros alimentos consumidos crus, como por exemplo, as saladas [42].

O consumo de frangos constitui a principal forma de aquisição da gastroenterite em todo o mundo, estimando-se a sua implicação em cerca de 50 a 70% das infeções esporádicas

humanas [43]. A carcaça de frango possui grande importância na contaminação cruzada, uma vez que durante o seu descongelamento, a água descongelada em contacto com alimentos ingeridos *in natura* podem explicar a ocorrência de campilobacteriose. A dose infetante de *Campylobacter* é muito baixa e a ingestão por parte de humanos de apenas 500 microrganismos, que estão facilmente presentes numa gota de água descongelada contaminada, podem causar gastroenterites [44].

No entanto, o facto das estirpes de *Campylobacter* spp. serem omnipresentes no ambiente justifica a ocorrência de casos maioritariamente esporádicos em detrimento de surtos, que são raros. Este facto tem dificultado a determinação das fontes desta infeção. Assim, uma correta identificação das fontes e vias de transmissão depende do controlo de infeções alimentares que são causadas por esta bactéria.

A figura 5 apresenta a distribuição dos veículos alimentares mais comuns envolvidos nos surtos de *Campylobacter* com maior evidência em 2012. Tal como em anos anteriores, a carne de frango foi o alimento mais frequentemente identificado, associado a 44,0% desses surtos. O veículo alimentar próximo mais comumente implicado foi o leite com 20,0%, um aumento em comparação com 2011, quando apenas 13,5% dos surtos foram associados a este alimento [3].

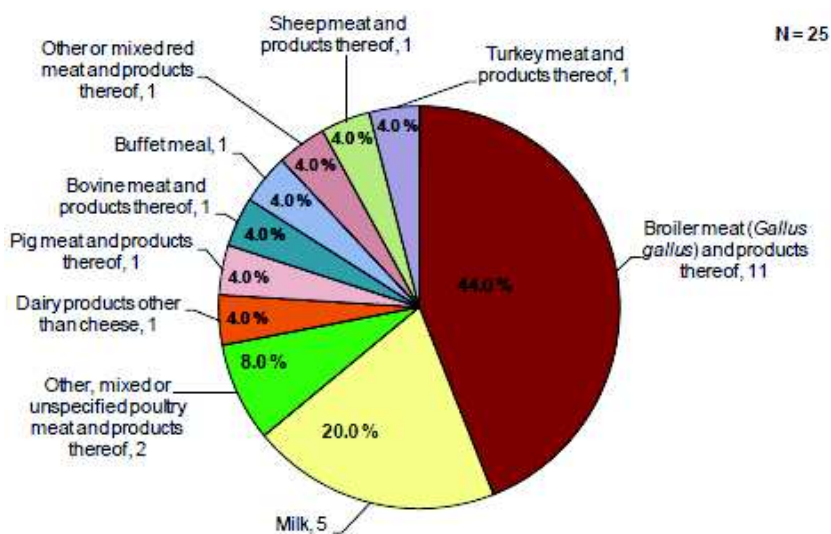


Figura 5 - Distribuição de meios alimentares com forte evidência de surtos causados por *Campylobacter* na União Europeia em 2012 (in EFSA, 2014)

As zoonoses transmissíveis através dos alimentos podem causar não só sofrimento humano, como também perdas económicas nos sectores da produção alimentar e da indústria alimentar [25].

### **Mecanismos de patogénese**

Apesar dos mecanismos de patogenicidade ainda não terem sido completamente esclarecidos, pensa-se que os potenciais fatores de virulência deste agente são a mobilidade, quimiotaxia, adesão, invasão e produção de toxinas. Numa fase inicial, *Campylobacter* coloniza o jejuno e o íleo e posteriormente o colón, em humanos, sendo que os processos de quimiotaxia e mobilidade são extremamente importantes nesta fase. Após a migração da bactéria para a zona das criptas intestinais revestidas de muco, esta inicia o processo de adaptação ao meio envolvente, promovendo desta forma a interação com as células intestinais do hospedeiro. A adesão às células do hospedeiro é um passo crucial no processo de patogénese deste organismo. Após a adesão às células do hospedeiro, a bactéria poderá iniciar o processo de internalização e invadir a célula. Ainda não é totalmente clara a contribuição da invasão celular para a severidade da doença [45, 46].

*Campylobacter* é também responsável pela destruição das células epiteliais do intestino, mais especificamente nas pontas das vilosidades intestinais. Esta necrose é provocada por uma ou mais toxinas, sendo a toxina CDT a única descrita até a data. Todo o processo de infeção é acompanhado por uma intensa resposta inflamatória, devido à produção de citocinas por parte das células do hospedeiro [47].

Apesar de provocar doença no Homem, esta bactéria estabelece-se de forma comensal em aves, ou seja, estas não manifestam sintomas (Figura 6). No entanto, tanto as estirpes encontradas nas aves, como as encontradas nos humanos, possuem os mesmos fatores de virulência, pelo que, estes devem interagir de forma diferente, consoante o hospedeiro que infetam.

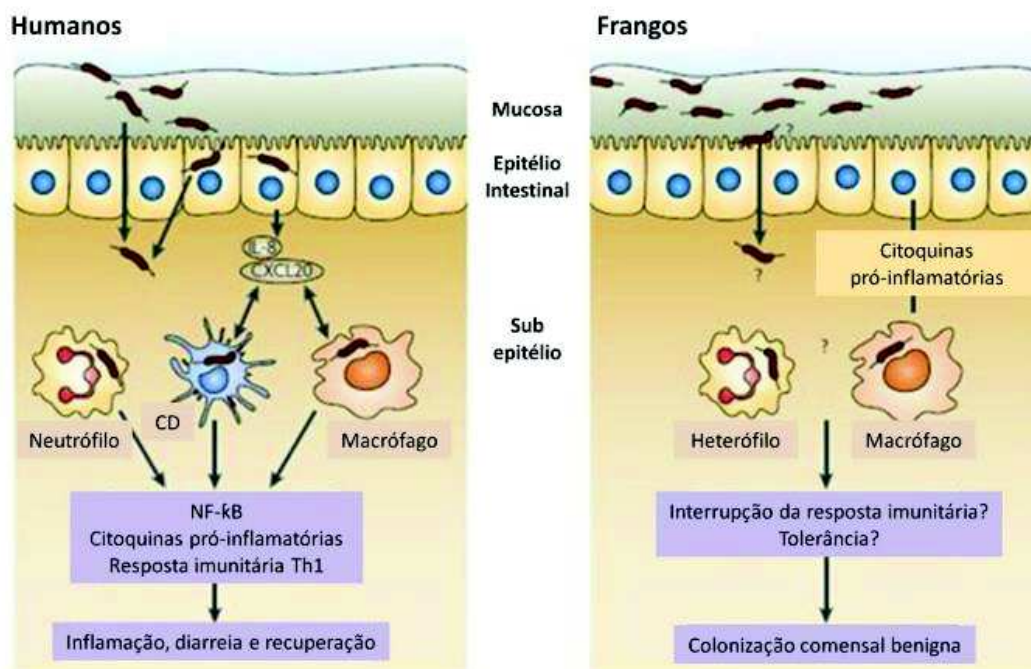


Figura 6 - Comparação da resposta imunitária à infecção por *Campylobacter* (in Young et al, 2007)

Estudos recentes demonstraram que a resposta inflamatória nos frangos à infecção por *Campylobacter* é lenta e moderada, e que esta se estabelece de forma sistêmica, podendo este organismo ser isolado de diversos locais (baço, fígado, intestino, sangue). A capacidade invasiva de *C. jejuni* apresentou uma correlação com a magnitude da capacidade do baço das aves infetadas, tendo-se verificado que existiam algumas estirpes que apresentavam uma elevada capacidade invasiva mas não conseguiam proliferar no interior das células, pelo que rapidamente se evadem das mesmas [48, 49].

Estas observações levaram à criação de um novo modelo do mecanismo de colonização de *Campylobacter*, que propõe que *C. jejuni* através de invasões/evasões rápidas de diversas células consegue escapar ao sistema imunitário, replicando-se de forma rápida no muco intestinal. No entanto, a forma específica como *Campylobacter* interage com o sistema imunitário dos frangos modelando uma resposta imunitária que lhe permita estabelecer uma infecção persistente mas benigna, ainda não é totalmente conhecida [49].



## **Importância do consumo de carne de aves**

Nutricionalmente 100 g de carne de frango sem penas contem 129 kcal, 25 g de proteína, 1,07 g de gordura saturada e 1,61 g de ferro [50].

Mundialmente, o consumo de carne continua a ser elevado, contudo existem hábitos distintos quanto ao tipo de carne que se consome. Exemplo disto é o aumento do consumo de carne de aves face ao de carnes vermelhas [51]. Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), o consumo de carne de aves teve um aumento a nível mundial nas últimas décadas. O fator determinante para esta alteração inicialmente era económico, uma vez que os métodos de exploração intensiva na indústria avícola e o recente desenvolvimento da tecnologia de abate, permitiram produzir carne de aves de capoeira a preços consideravelmente mais baixos comparativamente a carnes de outras espécies [52].

Em muitos países, as práticas culturais e religiosos têm um grande impacto na decisão de compra do consumidor, sendo que os produtos à base de carne de aves não apresentam qualquer tipo de restrições, sendo a escolha de eleição [53].

A constante exigência por parte dos consumidores de produtos “saudáveis”, associada a uma maior consciência do bem-estar animal e do impacto ambiental, conduziram a uma evolução do sector avícola nas últimas décadas [53].

A qualidade higio-sanitária da carne de aves decresceu consideravelmente com a passagem da produção da forma tradicional para a produção intensiva. Em explorações intensivas, o elevado número de aves e a sua proximidade, facilitam a passagem de microrganismos patogénicos para o Homem, dificultando as medidas de controlo e prevenção [54].

De acordo com os dados da AVEC (Association of Poultry Processors and Poultry Trade in the EU Countries), na última década o consumo e produção de carne de frango cresceram, tendo sido registado um aumento de 66 milhões de toneladas em 1999, para aproximadamente 75 milhões de toneladas em 2009. Esta subida deveu-se principalmente aos Estados Unidos, Brasil e China, que juntamente com a UE, são os maiores produtores e consumidores de carne de aves, representando cerca de 69% do total da produção e 59% dos consumidores (Figuras 7 e 8) [55].

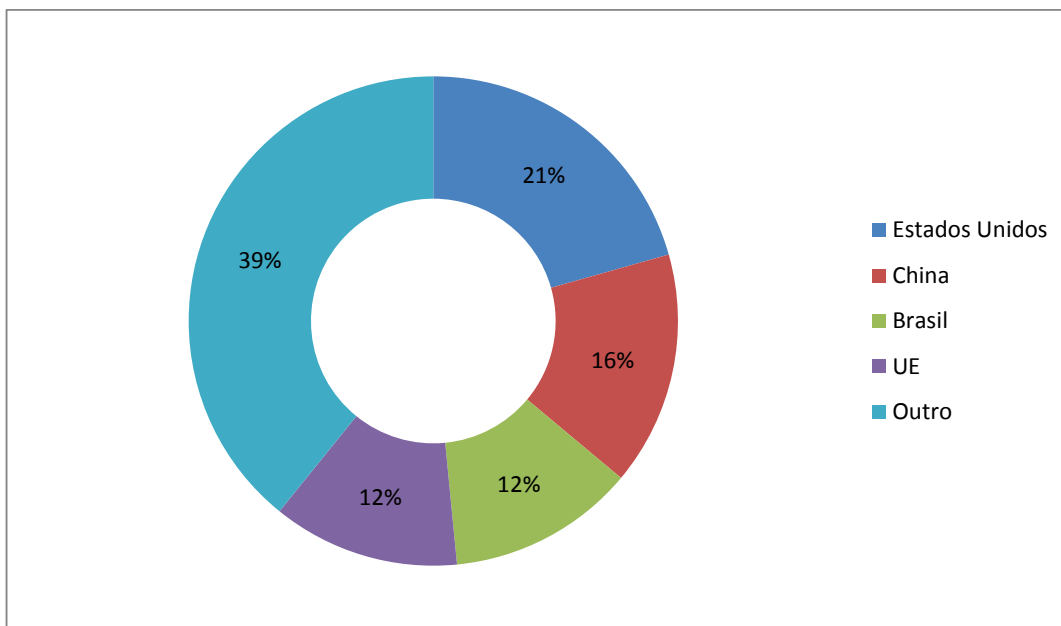


Figura 7 - Previsão da produção de carne de aves na União Europeia, Estados Unidos, China, Brasil e Outros (Adaptado de: AVEC, 2014)

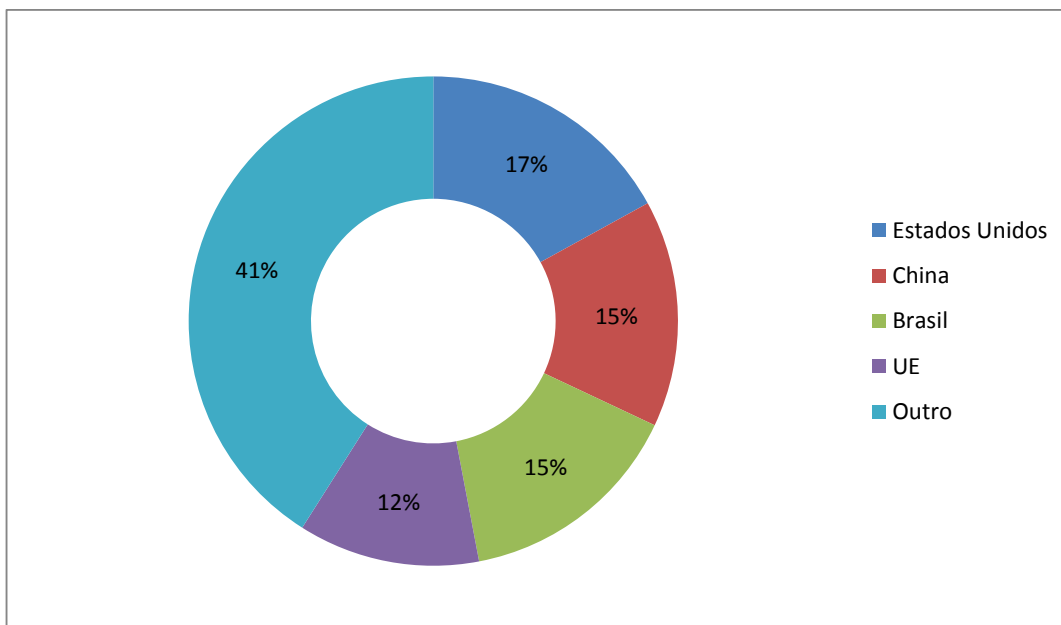


Figura 8 - Previsão do consumo de carne de aves, na União Europeia, Estados Unidos, China, Brasil e Outros (Adaptado de: AVEC, 2014)

Em Portugal, no período 2003-2005, o setor da carne das aves representou cerca de 12,5% do valor da produção animal. Em 2005, o total de carne de aves produzida atingiu as 296.000 toneladas, valor superior ao ano de 2003 com 270.000 toneladas registadas. No seio deste setor, a carne de frango representa mais de 95% do seu valor económico. Em 2003

existiam em Portugal 227.640 explorações de aves, as quais possuíam 35.434.100 animais, sendo 19.251.865 para produção de carne. A produção de carne de aves centra-se, na sua quase totalidade (86,5%) na Beira Litoral e no Ribatejo e Oeste (50% e 36%, respetivamente) [51].

Em 2010 o volume total de produção de animais de capoeira teve um aumento de 1,5% comparativamente a 2009, com 339 mil toneladas produzidas.

O consumo de carne entre 2009 e 2011 diminuiu 5% devido ao decréscimo do consumo das carnes de bovino e suíno, no entanto, a carne de animais de capoeira manteve-se estável devido essencialmente ao seu preço mais acessível, registando um consumo médio de 35 kg, por habitante por ano [56].

Com a mudança dos hábitos alimentares e as crescentes exigências do mercado, estima-se que em 2020, o consumo de carne de aves seja substancialmente elevado, sendo a carne mais consumida em todo o mundo [55].

## **Metodologia**

No âmbito da parceria estabelecida entre a ESB e a Lusiaves foram realizadas reuniões com os seguintes propósitos:

- 1ª Reunião- realizada na sede da VLM no dia 17/03/2015, onde foi delineado o plano de trabalhos a desenvolver.
- 2ª Reunião- Visita, no dia 26/06/2015, ao Matadouro da Lusiaves situado em Leiria, e reunião onde foi proposto a realização de uma sessão de formação (apresentação em PowerPoint e um Manual de Formação) sobre *Campylobacter*, tendo os trabalhadores da empresa como destinatários.
- 3ª Reunião – Realizada na ESB, no dia 23/09/2015 com o objetivo de analisar, entre outros, o trabalho já desenvolvido.

Com base nos contactos efetuados, foi estabelecido o seguinte plano de trabalho:

1-Análise do trabalho do Mestre Pedro Padilha sobre *Campylobacter*, previamente realizado no âmbito do seu programa de Mestrado em colaboração com a Lusiaves, como objetivo de elencar os “pontos críticos”;

2-Definição de plano de amostragem para identificação de potências focos de contaminação, para validação de suspeitas de pontos críticos levantados no trabalho do Mestre Pedro Padilha;

3-Levantamento de informação relevante sobre *Campylobacter*;

3.1- Levantamento de projetos nacionais e internacionais, terminados e em curso sobre *Campylobacter*;

3.2- Levantamento sobre legislação vigente e tendências futuras em Portugal, CE e países terceiros;

4- Elaboração de recomendações sobre possíveis estratégias de controlo;

5- Ação de formação e manual de formação;

6- Escrita e defesa de tese.

### Cronograma de desenvolvimento

Atividades	Período					
	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro
1	x	---	---	---	---	---
2	x	---	---	---	---	---
3.1	x	x	x	---	---	---
3.2	---	x	x	---	---	---
4	---	---	x	x	---	---
5	---	---	---	x	x	x

## Atividades desenvolvidas

### Levantamento de “pontos críticos”

Com base na análise realizada ao trabalho realizado pelo Mestre Pedro Padilha, foram realçados vários pontos críticos no que se refere a contaminações potenciais por *Campylobacter*:

- **Transmissão horizontal**- através do ambiente:
  - **Idade das aves**- Existe uma associação entre o aumento da idade das aves e o conseqüente risco de colonização, uma vez que a contaminação do ceco aumenta com a idade das aves, pelo que diminuir a idade das aves a abate sobretudo durante meses de verão, poderá levar a uma diminuição na prevalência de *Campylobacter*;
  - **Sexagem das aves**- Deverá ser ponderada a sexagem dos bandos e o abate dos bandos com base no seu sexo, o que permitirá uma maior uniformização de tamanho das aves no abate, minimizando deste modo a existência de contaminação cruzada no matadouro sobretudo durante a evisceração e depena.
- **Falta de medidas de biossegurança**, entre as quais:
  - **Instalações:**
    - **Presenças nos pavilhões.** O perímetro das instalações deve estar devidamente limitado e os pontos de acesso devem ser o mais restritos possível, sendo que as visitas devem ser limitadas ao pessoal essencial;
    - **Ar condicionado adjacente aos pavilhões.** Após a contaminação de um bando por *Campylobacter*, o ar dentro e fora dos pavilhões fica contaminado sendo esta contaminação influenciada pelo sistema de ventilação implementado. Assim, a ventilação horizontal é mais vantajosa, pois possibilita uma mais fácil limpeza e desinfecção, do que a ventilação vertical;

• **Falta de higiene nas instalações**- a melhoria das condições de higiene quer ao nível das explorações quer no matadouro será crucial para a redução de *Campylobacter* na cadeia alimentar. Assim é importante a implementação de diversas medidas de higiene e de biossegurança. Existe também uma maior presença de *Campylobacter* após um período de chuva. Neste sentido, é importante eliminar as águas estagnadas nas explorações;

• **Existência de vários pavilhões na exploração.** As explorações com um maior número de pavilhões, tem uma maior probabilidade de ocorrência de contaminação, devido à contaminação dos bandos entre si, bem como através da contaminação ambiental. Assim, a criação de barreiras higiénicas poderá ser uma estratégia importante na disseminação de *Campylobacter*;

• **Existência de zonas de solo ou relva em redor dos pavilhões.** Estas zonas devem ser substituídas por materiais que possibilitem uma melhor limpeza, de modo a melhorar a higiene geral da exploração, pois facilitam a sua limpeza e secagem. Nas zonas circundantes aos pavilhões deve ser implementada uma zona de drenagem composta por pedras, com cerca de 1 metro, e uma zona sem vegetação com pelo menos 3 metros.

• **Pragas:**

• **Presença de roedores na exploração.** Deve proceder-se à colocação de cercas e redes de proteção para impossibilitar a entrada de roedores nos pavilhões. Deve existir também, um plano de desratização devidamente implementado na exploração com a colocação de iscos em zonas chaves no exterior dos pavilhões;

• **Presença de outros animais** (ex: cães, gatos, etc), deve ser diminuída, pois as fezes destes animais poderão constituir uma fonte de contaminação direta;

• **Sazonalidade**- pico de prevalência no verão e diminuição nos meses de inverno. Esta variação sazonal pode estar relacionada com o período de reprodução das moscas, apontadas como importantes veículos da infeção durante o período de maior calor. Apesar das moscas não serem infetadas por *Campylobacter*, ao contactarem com as fezes dos animais infetados comportam-

se como um vetor mecânico de infecção. Assim, devem ser colocadas redes mosquiteiras em todas as janelas.

- **Água contaminada**- é necessário haver um tratamento da água recorrente.

- **Técnicas de desbaste implantadas.** O stresse causado pelo pessoal da apanha durante os desbastes, permite uma maior pré-disposição para a infecção, o que poderá ser a causa para o aumento da contaminação por *Campylobacter*. Assim, existem algumas recomendações no sentido de minimizar o risco de infecção que ocorre durante o desbaste, entre os quais:

- Nunca deve ser realizado mais do que um desbaste antes da realização do despovoamento final;
- O período entre o desbaste e o despovoamento final deverá ser o mais curto possível, não devendo exceder os 5 dias;
- O pessoal da apanha das aves, aquando a realização dos desbastes deve ter atenção aos seguintes aspetos:

- Garantir a limpeza e desinfeção corretas das rodas do empilhado antes da sua entrada no pavilhão;
- Garantir que a limpeza e desinfeção das caixas, módulos e dos camiões foram devidamente realizadas;
- As equipas de apanha devem utilizar equipamentos de proteção devidamente higienizados;
- As equipas de apanha devem cumprir todas as medidas de biossegurança implementadas, assim como, terem acesso a formação específica sobre a importância do cumprimento rigoroso destas medidas;
- A equipa de apanha deverá manter sempre uma postura séria e de respeito pelas aves, tendo em conta o bem-estar animal.

- **Transporte**- O veículo de transporte das aves para o abate, as jaulas de transporte, os módulos de transporte e outros materiais podem representar uma potencial fonte de *Campylobacter*. Assim, devem ser implementadas medidas para diminuir a contaminação das jaulas, módulos e veículos como:

- Os operadores deverão assegurar que as jaulas, os módulos e os veículos são efetivamente limpos e desinfetados. A lavagem deve ser realizada com a utilização de água quente e devem ser utilizadas as concentrações adequadas de desinfetante. A limpeza deve ser validada através da análise microbiológica periódica e incorporadas no sistema de gestão da segurança alimentar;
  - As jaulas e os módulos devem ser feitos de material não sujeito a corrosão, fácil de limpar e desinfetadas;
  - As cintas/cordas e as lonas devem ser também convenientemente higienizadas.
- **Bactéria maioritariamente assintomática em aves-** *Campylobacter* coloniza o trato intestinal, mais concretamente o intestino delgado e o ceco. O facto de ser uma doença assintomática, impossibilita a identificação das aves infetadas a partir dos seus sinais clínicos, sugerindo assim, uma boa adaptação da bactéria ao hospedeiro.
  - **Transmissão vertical-** dos progenitores à sua descendência (ocorre raramente). Esta transmissão apesar de ser rara pode ser transmitida através do sémen do progenitor.
  - **Manuseamento indevido dos consumidores-** será importante a implementação de ações de educação para a segurança alimentar dos consumidores, nomeadamente para as boas práticas de higiene e de confeção dos alimentos como por exemplo:
    - Cozinhar muito bem as carnes de aves;
    - Não lavar a carne de aves antes de cozinhar, pois corre-se o risco de contaminar a cozinha, outros alimentos ou até quem está a manusear a carne;
    - Sempre que existir manipulação de carne de aves lavar devidamente as mãos;
    - Utilizar tábuas de corte específicas para alimentos de origem animal;
    - Lavar todos os utensílios e superfícies usadas durante a manipulação dos alimentos;
    - Lavar sempre as mãos após contato com fezes de animais;
    - Beber leite pasteurizado;
    - Beber apenas água potável.



Através da observação do Mestre Pedro Padilha no local de produção de frango, foram identificadas diversas falhas neste processo, entre as quais:

- Em relação a apanha de aves:
  - Verificaram que o pessoal da apanha não utilizava vestuário ou calçado de uso restrito na exploração;
  - As barreiras higiênicas existentes muitas vezes não são utilizadas;
  - Verificaram que o motorista e o ajudante muitas vezes não realizavam a higienização da sua farda de trabalho periodicamente.
- Em relação ao transporte das aves:
  - Verificaram que as jaulas de transporte não são higienizadas corretamente, não sendo recorrente o uso de desinfetante, sendo observado por vezes a existência de fezes nas jaulas após a sua limpeza;
  - No equipamento de higienização das jaulas foi verificado a acumulação de resíduos resultantes da lavagem das jaulas;
  - Após a higienização das jaulas, estas permanecem ao lado do equipamento de higienização, podendo ocorrer contaminação das jaulas previamente higienizadas;
  - Verificaram que os veículos e os contentores não são corretamente higienizados, pois por vezes é apenas utilizada água na sua limpeza, apesar do desinfetante estar disponível a maioria das vezes.
- Em relação ao matadouro:
  - Verificaram que o tempo de espera das aves desde a sua chegada ao matadouro até ao início do seu processamento, é muito longo;
  - No cais de descarga observou-se frequentemente a acumulação de fezes e resíduos;
  - No cais, devido à natureza das operações que são executadas verificou-se a existência de um número elevado de vetores nomeadamente moscas, que são um veículo de transmissão de *Campylobacter*;
  - Verificou-se que o pessoal afeto ao matadouro tem à sua disposição um número limitado de aventais de plástico, observando-se que os trabalhadores passam os aventais aos trabalhadores do turno seguinte, não procedendo a uma higienização correta;

- Observou-se a acumulação de alguma condensação no teto junto à zona onde se realiza a evisceração;
- Na linha de abate, imediatamente após a realização da última lavagem do frango e antes da sua entrada no túnel de refrigeração, é executada uma operação de retirada de excesso de pele. Esta operação deveria ser executada antes da realização da lavagem final.

Com base nos vários pontos críticos identificados no âmbito do trabalho realizado pelo Mestre Pedro Padilha e aqui sumariados recomenda-se:

- Que seja verificado se foram implementadas medidas conducentes à redução/eliminação destes fatores;
- Que seja planeada e ministrada formação sobre “*Campylobacter*”:
  - Campylobacter* & campilobacteriose;
  - Campylobacter* em explorações avícolas;
  - Prevenção de *Campylobacter*, do “campo ao prato”.

Ainda no âmbito do trabalho do Mestre Pedro Padilha foram colhidas várias amostras para pesquisa de *Campylobacter* spp. Como observado na Tabela 4, não foi detetado *Campylobacter* em nenhuma das amostras analisadas.

Tabela 4 - Detecção de *Campylobacter* spp. em diferentes amostras.

<b>Data</b>	<b>Amostra</b>	<b>Local da colheita</b>	<b>Recolha de amostras efetuada por:</b>	<b>Resultado</b>
6/1/2015	Fezes	Pavilhão 170	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Fezes	Pavilhão 1B	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Fezes	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 170	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Linhas de água	Pavilhão 170	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 1B	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Linhas de água	Pavilhão 1B	Pedro Padilha	Negativo

6/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Linha de água	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Depenadora	Pavilhão 170	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Evisceradora	Pavilhão 170	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Ceco	Pavilhão 170	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Depenadora	Pavilhão 1B	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Evisceradora	Pavilhão 1B	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Ceco	Pavilhão 1B	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Frango Lote: 024317	Pavilhão 1B	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Frango Lote: 025413	Pavilhão 173 + 175	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Ceco	Pavilhão 173	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Depenadora	Pavilhão 173	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Evisceradora	Pavilhão 173	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Linha de água	Pavilhão 173	Pedro Padilha	Negativo
7/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 173	Pedro Padilha	Negativo
7/1/2015	Fezes	Pavilhão 173	Pedro Padilha	Negativo
7/1/2015	Fezes	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Linha de água	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Fezes	Pavilhão 3	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Linha de água	Pavilhão 3	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 3	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Ceco	Pavilhão P1A L033209	Ermelinda Paixão	Negativo
12/1/2015	Frango	Pavilhão P1A L033209	Ermelinda Paixão	Negativo
12/1/2015	Evisceradora	Pavilhão P1A L033209	Ermelinda Paixão	Negativo

12/1/2015	Depenadora	Pavilhão P1A L033209	Ermelinda Paixão	Negativo
12/1/2015	Ceco	Pavilhão P3A L033210	Ermelinda Paixão	Negativo
12/1/2015	Frango	Pavilhão P3A L033210	Ermelinda Paixão	Negativo

Dado este não ser um resultado expectável tendo em consideração a elevada prevalência de *Campylobacter* relatada na literatura científica, foi recomendada uma nova colheita de amostras para análise. Para além das amostras previamente analisadas, recomendou-se ainda a pesquisa de *Campylobacter* em:

- Fardas dos funcionários;
- Jaulas de transporte, antes e pós higienização;
- Veículo e contentores;
- Cais de descarga;
- Insetos apanhados nas instalações;
- Produto final pronto para expedição e produto recolhido no mercado.

Assim, no decurso deste trabalho, foi solicitado pela Lusiaves a pesquisa de *Campylobacter* spp. em diferentes amostras. Estas análises foram realizadas pelo Centro de Inovação e Apoio Empresarial (CINAT) da Escola Superior de Biotecnologia, sendo que a colheita de amostras foi da responsabilidade da Lusiaves. Os resultados obtidos apresentam-se na tabela 5.

Tal como previamente sugerido à Lusiaves, seria relevante a tipagem molecular dos isolados de amostras positivas de forma a avaliar a presença de estirpes residentes e principais fontes de contaminação do produto final.

Tabela 5 - Detecção de *Campylobacter* spp. em diferentes amostras realizadas pela Lusiaves.

<b>Data de Receção</b>	<b>Amostras</b>	<b>Relatório de Ensaio</b>	<b>Resultados</b>
30/09/2015	Fezes	201506692	Positivo em 10 g
30/09/2015	Fezes	201506693	Negativo em 10 g
30/09/2015	Fezes	201506694	Negativo em 10g

30/09/2015	Fezes	201506695	Negativo em 10 g
30/09/2015	Fezes	201506696	Negativo em 10g
30/09/2015	Cecos	201506697	Negativo em 10g
30/09/2015	Cecos	201506698	Negativo em 10g
30/09/2015	Cecos	201506699	Negativo em 10 g
30/09/2015	Cecos	201506700	Negativo em 10 g
30/09/2015	Cecos	201506701	Positivo em 10 g
30/09/2015	Água Escaldão (Início 29/09-23h)	201506702	Negativo em 100 ml
30/09/2015	Água Escaldão (após 4h)	201506703	Positivo em 100 ml
30/09/2015	Água Escaldão (após 8h)	201506704	Positivo em 100 ml
30/09/2015	Frango perninha + coxa + asa-1	201506705	Negativo em 25 g
30/09/2015	Frango 2 asas + peito-2	201506706	Negativo em 25 g
30/09/2015	Frango perninha + peito- 3	201506707	Negativo em 25 g
30/09/2015	Frango perna + asa- 4	201506708	Positivo em 25 g
30/09/2015	Frango perna + peito-5	201506709	Negativo em 25 g

Na sequência destas análises, *Campylobacter* spp. foi detetado em 20% das amostras de fezes, de seco e de produto final.

Com base nestes resultados, ressalvando aqui o reduzido número de amostras (20% corresponde a uma amostra positiva num total de cinco amostras), foi demonstrada a colonização intestinal de aves (amostras de ceco e de fezes positiva) e a contaminação cruzada do produto final (amostra composta de perna de frango e asa) no ambiente de processamento. Dado o elevado número de aves processadas, é elevada a possibilidade de contaminação cruzada durante o processo de evisceração mecânica.

Quanto aos resultados obtidos para as amostras de fezes e de cecos, não pode ser excluída a hipótese de alguns destes resultados poderem ser “falsos negativos”. É reconhecida

a dificuldade no isolamento de colónias suspeitas de *Campylobacter* para confirmação neste tipo de amostras dada a diversidade, elevado número e complexidade da sua microbiota.

No que se refere às amostras de água de escaaldão, mais uma vez ressaltando o reduzido número de amostras analisadas, os resultados evidenciam que os processos de higienização dos tanques e de tratamento da água serão eficazes na destruição de *Campylobacter* spp. uma vez que este agente não foi detetado na amostra colhida no início do processo. Contudo, esta etapa assume-se como crítica na disseminação do agente após o abate uma vez que *Campylobacter* spp. foi detetado nas amostras de água de escaaldão colhidas posteriormente (4 e 8 horas após o início do processo).

Assumindo que, à luz do conhecimento atual, será difícil evitar a entrada de aves portadoras de *Campylobacter* spp., caberá à Lusivaves implementar medidas que, por um lado, reduzam a contaminação das carcaças durante o processo de evisceração e, por outro, previnam as contaminações cruzadas durante as etapas seguintes e reduzam a contaminação no produto final.

Algumas das medidas possíveis são apresentadas na secção seguinte, das Medidas de Controlo.

### **Legislação vigente e tendências futuras em Portugal, CE e países terceiros**

Todos os operadores do sector alimentar têm a responsabilidade legal de produzir alimentos seguros (Regulamento nº 178/2002). A segurança dos produtos alimentares é assegurada por uma abordagem preventiva, ou seja, a implementação de um sistema de gestão da segurança alimentar baseado nos princípios da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP). Este sistema permite que os perigos sejam identificados e controlados para que a segurança dos alimentos seja assegurada.

Os operadores das empresas, com exceção dos produtores primários, são legalmente obrigadas a pôr em prática, implementar e manter um ou mais procedimentos com base nos princípios HACCP (artigo 5º do Regulamento 852/2004). Além disso, todos os operadores do sector alimentar, incluindo os produtores primários, são legalmente obrigados a implementar boas práticas de higiene (BPH). O regulamento 852/2004 estabelece requisitos de higiene para todos os géneros alimentícios; enquanto o Regulamento 853/2004 estabelece requisitos de higiene mais específicas para os alimentos de origem animal. O Regulamento 2073/2005, estabelece critérios microbiológicos para vários microrganismos, as suas toxinas ou

metabolitos em diferentes alimentos. De acordo com este regulamento, os operadores do setor alimentar devem tomar medidas, como parte de seus procedimentos baseados nos princípios HACCP, e BPH para assegurar o cumprimento dos critérios microbiológicos relevantes. Até o momento, não foram estabelecidos critérios na legislação para *Campylobacter* spp. em alimentos. Os requisitos para seu controle são cobertos pelos requisitos da UE de segurança alimentar em geral.

A Agência de Proteção da Saúde do Reino Unido (HPA) publicou orientações sobre níveis aceitáveis de microrganismos em vários alimentos “prontos a comer”. De acordo com estas orientações, os alimentos prontos a comer colocados no mercado devem ser isentos de *Campylobacter* spp. termotolerantes. Quando presentes, os alimentos são considerados “insatisfatórios: potencialmente prejudiciais para a saúde” e / ou os produtos são impróprios para consumo humano.

Está em avaliação uma proposta da USDA (*US Department of Agriculture*) para redução de *Salmonella* e de *Campylobacter* em produtos avícolas ([http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/b0790997-2e74-48bf-979985814bac9ceb/28\\_IM\\_PR\\_Sal\\_Campy.pdf?MOD=AJPERES](http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/b0790997-2e74-48bf-979985814bac9ceb/28_IM_PR_Sal_Campy.pdf?MOD=AJPERES)).

### **Medidas de controlo**

Como foi referido anteriormente, na produção primária, uma intervenção multifacetada é fundamental no combate à *Campylobacter* spp. A primeira abordagem será impedir a infeção dos bandos através de medidas de biossegurança. Em caso de falha desta medida de controlo, é necessário reduzir a suscetibilidade à infeção das aves por *Campylobacter* através da redução da idade do abate das aves e vacinação. Caso ambas as estratégias não resultem na prevenção da infeção, a meta seguinte será reduzir a infeção no intestino das aves no momento da colheita, por exemplo, através da utilização de bacteriocinas e de bacteriófagos [57].

### **1. Medidas de Biossegurança**

A adoção de medidas de segurança é extremamente importante para a prevenção e controlo de doenças infecciosas como a campilobacteriose. Um programa de biossegurança na produção de aves significa o desenvolvimento e a implementação de um conjunto de políticas

e de normas operacionais rígidas que terão a função de proteger as aves contra a introdução de qualquer tipo de agentes infecciosos, sejam eles vírus, bactérias (*Campylobacter* spp.) fungos e/ou parasitas [58].

O desenvolvimento e a aplicação diária de procedimentos de biossegurança sob a forma de melhores práticas de gestão em explorações avícolas reduzirão a possibilidade de introdução de agentes microbianos zoonóticos, como *Campylobacter*. Os produtores de aves de capoeiras e os operadores do matadouro devem compreender a importância das medidas de biossegurança e estar familiarizados com as respectivas especificidades, trabalhando em estreita cooperação para aplicar estas medidas, mantendo um nível de biossegurança sistematicamente elevado (Figura 9) [59].



Figura 9 - Cadeia de componentes de um programa de biossegurança. (in SESTI, 2000).

## 1.1 Na exploração

### 1.1.1 Localização das explorações

As explorações avícolas devem estar idealmente afastadas de outras explorações e de diferentes possíveis fontes de contaminação, tais como estações de tratamento de águas residuais e aterros [59].

### 1.1.2 No aviário

Medidas adequadas de biossegurança são extremamente importantes para prevenir a introdução de um grande número de microrganismos nos aviários. O projeto das instalações, assim como as práticas de gestão devem ser planeadas, de modo a facilitar a implementação destas medidas [59].



As explorações com um grande número de pavilhões, tem uma maior probabilidade de ocorrência de infeção por *Campylobacter*, mesmo quando é implementado o sistema “*all-in all-out*” (“tudo dentro, tudo fora”) [60].

O perímetro das instalações deve estar bem identificado e, preferencialmente, bem vedado. O acesso às instalações deve ser controlado e, por conseguinte, apenas autorizado em pontos de entrada específicos, claramente identificados e limitados o mais possível a profissionais familiarizados com as medidas de biossegurança [59, 61]. Fatores como o elevado número de visitas diárias à exploração, de trabalhadores na exploração encarregues de determinado pavilhão manipularem outros animais na exploração, aumentam o risco de infeção dos bandos [62].

Apesar da existência de uma diversidade de barreiras higiénicas na entrada dos bandos de aves, o seu objetivo deverá ser sempre criar uma delimitação clara entre a zona suja e a zona limpa, por exemplo, por utilização de uma barreira física ou de uma linha pintada no chão do pavilhão. As barreiras higiénicas também devem assegurar a mudança de roupa ou colocação de vestuário de proteção, assim como a troca de botas e lavagem de mãos [61].

Recomenda-se que as instalações estejam equipadas, à entrada, com um vestiário limpo, onde o pessoal e os visitantes possam calçar botas e vestir um fato-macaco, disponibilizados pela exploração. As mãos devem ser preferencialmente lavadas, secas e desinfetadas entre pavilhões. Em caso do visitante usar as unhas pintadas deve calçar luvas [59].

O parque de estacionamento dos visitantes deve ficar próximo da entrada da exploração mas afastado dos pavilhões onde estão alojadas as aves. O parque de estacionamento deve preferencialmente ser constituído por uma superfície sólida e de fácil limpeza [59].

Os pavilhões devem ser construídos com um material resistente, de fácil limpeza e desinfecção. O espaço exterior adjacente aos pavilhões deve ser mantido livre de vegetação e as áreas circundantes mantidas limpas para evitar pragas e animais selvagens [59].

Os edifícios secundários, tais como locais de armazenamento, salas de repouso, sanitários, devem ser mantidos em boas condições à semelhança dos pavilhões [59].

### **1.1.3 Equipamento**

O equipamento utilizado na exploração deve ser construído com materiais resistentes e de fácil higienização e desinfecção. Todos os equipamentos partilhados entre pavilhões, devem ser cuidadosamente limpos e desinfetados antes de serem utilizados [59].

### **1.1.4 Controlo de pragas, animais selvagens, insetos e animais domésticos**

Todos os pavilhões devem estar protegidos, o mais eficazmente possível, contra a entrada de animais selvagens, roedores, aves selvagens e animais domésticos. A presença deste tipo de animais deve ser diminuída, devido ao facto das fezes destes animais poderem constituir uma fonte de contaminação direta, mas também contaminação ambiental consequentemente elevando o risco de infeção por *Campylobacter* nas aves [59, 62].

Alguns autores referem a existência de uma variação sazonal na prevalência nos bandos de *Campylobacter*, encontrando-se diminuída no inverno e aumentada no verão e outono [60, 61]. A sazonalidade identificada indica que a importância relativa dos potenciais reservatórios e formas de transmissão pode variar ao longo do ano [62].

Apesar das moscas não serem infetadas por *Campylobacter*, ao contactarem com fezes de animais infetados vão comportar-se como um vetor mecânico de infeção [62].

O controlo de pragas deve ser da responsabilidade de pessoal com formação adequada, onde deve ser definido um plano rigoroso para a exploração. A eficácia das medidas implementadas deve ser cuidadosamente monitorizada e as medidas alteradas caso seja necessário [59].

### **1.1.5 Apanha**

As equipas da apanha das aves para serem transportadas para o matadouro, devem manter medidas de higiene restritas (Figura 10). Por outro lado, os elementos que compõem as equipas da apanha devem fazer parte do pessoal afeto ao trabalho na exploração onde esta se irá realizar [63].

Uma rápida disseminação de *Campylobacter* numa exploração a partir do instante em que esta é infetada poderá sugerir que os procedimentos de higiene devem ser realizados não só ao entrar no pavilhão mas também à saída. A formação do pessoal assim como o empenho na realização das atividades desempenhadas podem prevenir a disseminação de *Campylobacter* para bandos livres da bactéria [62].

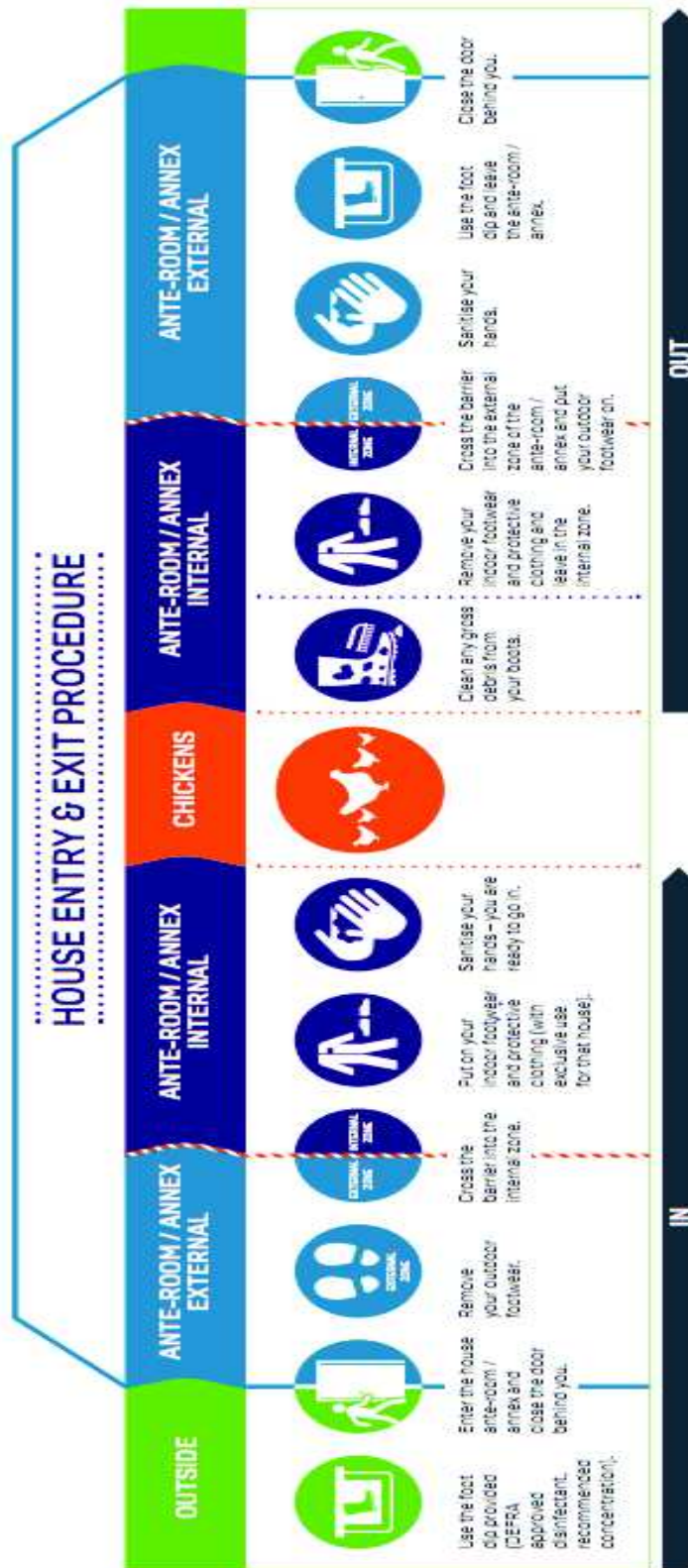


Figura 10 - Medidas de higiene na entrada e saída dos pavilhões. (in *Campylobacter* biosecurity guide, FSA).

### **1.1.6 Veículos de transporte**

O veículo de transporte das aves para o abate, as jaulas de transporte, os módulos de transporte e outros materiais representam uma potencial fonte de contaminação de *Campylobacter* [61, 62].

Durante o transporte as aves defecam nas jaulas de transporte, podendo contaminar as aves que se encontram em localizações inferiores, levando ao aumento da contaminação das carcaças por *Campylobacter*. Ainda que visualmente limpas, após limpeza as jaulas de transporte podem continuar a representar uma fonte de contaminação das aves. A utilização de detergente, mostrou-se eficaz na redução do número de *Campylobacter* em suspensão na água e nas superfícies das jaulas de transporte. O armazenamento de jaulas de transporte de aves por um período de 48 horas entre usos, resultou numa diminuição do número destas bactérias, no entanto esta medida é pouco prática, quer devido aos custos quer devido ao espaço necessário [62].

Durante esta fase existe um elevado stresse, levando a um aumento da contaminação fecal externa das aves. O stresse leva a uma diminuição da resistência às infeções pelo que os microrganismos patogénicos intestinais podem difundir-se e atingir rapidamente órgãos vitais como o coração e o fígado [54]. Durante o transporte e o repouso no matadouro, a contaminação fecal externa ocorre, dado que as aves defecam e as fezes vão contaminar as jaulas e as penas das aves situadas por baixo. De modo a reduzir esta contaminação é vantajoso que as aves tenham um período de jejum antes do transporte [64]. Os veículos e equipamentos de transporte depois de vazios e antes de serem reutilizados, devem ser lavados e desinfetados [65].

### **1.2 No matadouro**

A contaminação e disseminação de *Campylobacter* ao nível do matadouro é fortemente influenciada por todas as etapas que o antecedem, no entanto existem diversos pontos críticos durante o processo de abate.

Para que os métodos de prevenção de contaminação por *Campylobacter* tenham alguns resultados, é necessário determinar quais as operações que contribuem para o aumento da contaminação, assim como para a sua diminuição. Tal conhecimento possibilita a elaboração de um plano de ação com maior aplicabilidade [66].

### **1.2.1 Receção e Pendura:**

De acordo com o Regulamento (CE) nº 852/2004, os operadores dos matadouros não devem admitir animais nas suas instalações a menos que o tenham solicitado e adquirido informações pertinentes de segurança alimentar contida nos registos mantidos na exploração de proveniência [67].

O abate inicia-se com a pendura das aves nos ganchos da linha de abate. A dor e o desconforto provocados pela pendura são responsáveis pelo batimento das asas, o que por sua vez está na origem de fraturas ósseas e luxações que se repercutem na qualidade da carne [54].

Os matadouros são locais propícios à contaminação por via aérea, que permite aos microrganismos entrar e alojar-se nas superfícies de trabalho, equipamento e nas próprias mãos dos manipuladores. Existe uma elevada prevalência de microrganismos na zona de receção e sangria, devido ao excessivo bater de asas e movimento das aves. À medida que nos aproximamos da zona de expedição, esta quantidade diminui [68].

### **1.2.2 Insensibilização/ Atordoamento:**

Esta fase tem como objetivo proteger os animais da dor e garantir uma adequada sangria. A insensibilização é alcançada com o recurso a choque elétrico, as aves são suspensas pelas patas e a cabeça é introduzida num tanque de água eletrificado onde recebem uma descarga elétrica que as atravessa e insensibiliza [54].

### **1.2.3 Sangria:**

A sangria deve realizar-se a seguir à insensibilização, através do corte dos principais vasos sanguíneos do pescoço (artérias carótidas), de modo a que ocorra imediatamente a morte cerebral. Durante a sangria os animais não devem apresentar movimentos respiratórios nem batimento das asas. Esta etapa deve ser realizada durante o intervalo de tempo necessário (1,5 a 2 minutos) para que as aves fiquem corretamente sangradas antes de entrarem no tanque de escaldão, de modo a evitar a conspurcação da água do escaldão [54].

A secção dos vasos pode ser feita manualmente ou por meio de uma faca automática, sendo neste caso conveniente que um operador esteja atrás da faca automática para poder atuar prontamente sempre que haja uma falha na mesma. Depois de cada ave se as facas não forem desinfetadas, pode dar origem a contaminações cruzadas entre as aves [54].

#### **1.2.4 Escaldão:**

O escaldão tem por objetivo facilitar a remoção das penas. Esta etapa dá-se por imersão em tanques de água quente e a temperatura depende da espécie abatida. Para frangos (*broilers*) recomendam-se temperaturas de escaldão de 59 a 60 °C com um tempo aproximado de 1 a 2 minutos. O efeito de lavagem da água do escaldão pode reduzir o número de microrganismos da superfície das carcaças, se a água for continuamente renovada e mantida à temperatura desejada. O escaldão tende a ser seletivo para mesófilos termorresistentes e microrganismos esporulados e serve como meio de contaminação cruzada [52].

Num estudo que avaliou a prevalência de *Campylobacter* spp. em carcaças durante o seu processamento, observaram que após o processo de escaldão com a água a uma temperatura média de 53 °C, a prevalência de *Campylobacter* na superfície da carcaça foi considerada elevada, não havendo reduções significativas das concentrações iniciais [69].

Noutro estudo, Osiriphum *et al.* (2012) propuseram desenvolver um novo parâmetro de temperaturas de escaldão de frangos que permitisse a redução efetiva de *Campylobacter* spp. na superfície das carcaças. Assim, obtiveram bons resultados quando a temperatura da água estava entre 54,1 a 60 °C, onde a maior queda da concentração do microrganismo se deu entre 58 e 60 °C [70].

#### **1.2.5 Depena:**

Esta fase tem por finalidade eliminar as penas das aves, sendo realizada após o escaldão e é realizada mecanicamente. As aves penduradas na linha de abate atravessam a máquina, que possui de ambos os lados os discos depenadores com dedos de borracha, localizados a várias alturas para atingirem as diferentes partes do corpo dos animais [54].

Esta operação não é muito higiénica, sendo considerada uma das principais responsáveis por contaminação cruzada [52, 71]. Após a depena, ocorre um aumento da contaminação por *Campylobacter* spp. em frangos, devido à ação peristáltica dos dedos da depenadora quando contactam com as carcaças e provocam a expulsão de fezes [71].

#### **1.2.6 Corte e separação da cabeça:**

A seguir à fase da depena é feita a separação da cabeça através de um dispositivo que as arranca por tração. Esta operação pode estar na origem de contaminações cruzadas da pele do pescoço [54].

### **1.2.7 Corte das patas:**

O corte das patas é feito ao nível da articulação do tarso, tendo o cuidado de regular bem a altura dos discos de modo a não lesionar ou cortar as superfícies articulares, esta operação tem uma reduzida influência na contaminação da carcaça, sendo no entanto conveniente uma limpeza e desinfeção adequada do equipamento [54].

### **1.2.8 Evisceração:**

Sabe-se que a evisceração é uma das operações de maior criticidade durante o processamento e que a possibilidade de contaminação por *Campylobacter* é elevada [72].

Nesta fase separam-se o intestino com gordura intestinal, o esófago, a traqueia, o coração, o fígado, o baço, o estômago e nas aves adultas também os genitais. Na evisceração a saída do conteúdo intestinal pela cloaca, devido ao corte ou rutura do intestino, pode contribuir para a contaminação da carcaça [54]. Tanto o colón como a cloaca são órgãos que apresentam uma elevada quantidade de *Campylobacter* spp., de tal modo que será de esperar que a saída dos seus conteúdos durante este processo seja uma fonte de contaminação tanto para a pele como para a carne, aumentando a contagem deste microorganismo nas carcaças [73].

### **1.2.9 Lavagem final:**

A lavagem final deve incluir as superfícies externas e internas da carcaça, sendo a sua finalidade reduzir os microrganismos e melhorar a apresentação devido ao arrasto dos restos de sangue e outras sujidades.

Quando praticada corretamente, a lavagem durante e depois da evisceração tem a capacidade de reduzir 10 vezes a contaminação microbiana das carcaças [54].

Procedimentos sistemáticos de lavagem de carcaça podem ser bastante úteis na redução da contaminação das superfícies de carcaças, porém a possibilidade de contaminação posterior não pode ser excluída, uma vez que poderá ocorrer até mesmo no ambiente de refrigeração em câmaras [66].

### **1.2.10 Corte e separação do pescoço:**

Esta operação tem pouca relevância na contaminação da carcaça, porém não se deve descurar os cuidados de limpeza e desinfeção dos equipamentos [54].

### **1.2.11 Marca de identificação e salubridade:**

De acordo com o Regulamento (CE) nº 853/2004, os operadores das empresas do setor alimentar devem assegurar que os produtos de origem animal possuem uma marca de identificação e de salubridade aposta em conformidade com os requisitos pertinentes no referido regulamento [65].

### **1.2.12 Arrefecimento:**

No final das operações de abate, as carcaças de ave e as miudezas comestíveis devem ser submetidas rapidamente à ação do frio, até que seja alcançada a temperatura de 4 °C no centro térmico da carne.

O Regulamento (CE) nº 853/2004 não estipula o intervalo de tempo em que se deve realizar, apenas obriga a que após a inspeção e a evisceração, os animais abatidos devem ser limpos e refrigerados até atingirem a temperatura referida [65].

A técnica que utiliza água fria pode ser feita por imersão ou pulverização. Na Europa, as carcaças com destino à refrigeração são arrefecidas em ar frio, enquanto as que vão ser congeladas são arrefecidas por imersão em água fria [54].

### **1.2.13 Conservação:**

Após o arrefecimento, as carcaças devem ser conservadas em câmaras frigoríficas a temperaturas próximas de 0 °C, devendo assegurar-se que esta não ultrapassa os 4 °C durante o período de conservação [54].

De acordo com Malher *et al.*, após a análise de todas as etapas da cadeia produtiva avícola e de abate, o melhor método de contenção da contaminação de carcaça durante o processamento e com maior custo-benefício, seria a redução ao máximo da fuga de material fecal durante as etapas de processamento [74].

Todos os métodos de contenção de contaminação da carcaça, são de grande importância, porém muitos são limitados pela sua praticabilidade, legalidade ou aceitabilidade pelo mercado consumidor [66].

## **2. Água potável**

Outro fator ligado à biossegurança é a qualidade da água potável. Vários estudos têm demonstrado que a água não potável está diretamente ligada ao aumento do risco dos frangos



serem contaminados por *Campylobacter* [57]. A água representa uma potencial fonte de contaminação, onde estas bactérias podem sobreviver durante semanas [62]. Se não houver hipótese da utilização de água potável de boa qualidade, devem ser aplicadas medidas de tratamento da água (ex: cloração, filtração, irradiação UV) na exploração agrícola, mesmo que não tenha algum impacto sobre a infecção por *Campylobacter* [57]. Medidas como higienizar os reservatórios de água e as linhas de fornecimento de água entre bandos devem ser igualmente implementadas [61, 62].

### **3. Redução da idade do abate**

A prevalência de *Campylobacter* nos bandos está diretamente relacionada com a idade do abate das aves e o consequente risco de colonização, uma vez que a contaminação do ceco aumenta com a idade das aves, pelo que diminuir a idade das aves a abate sobretudo durante meses de verão, poderá levar a uma diminuição na prevalência de *Campylobacter* [57]. Em países como a Suécia, onde a maioria dos rebanhos são colhidos aos 33 a 35 dias de idade, o aumento da idade para 42 a 44 dias aumentou a positividade de *Campylobacter* nos bandos cerca de duas vezes, enquanto o aumento de 48 a 61 dias de idade aumentou a positividade em cerca de quatro vezes.

### **4. Desbastes e densidade das aves**

Por razões de bem estar animal, existe uma limitação da densidade de aves por pavilhão, de modo a assegurar que o espaço é suficiente para as aves à medida que se aproximam da idade necessária para o abate. No entanto, com o intuito de aumentar a produtividade e consequentemente o retorno financeiro, os produtores por vezes excedem o limite imposto. As aves em excesso são retiradas normalmente 7 dias antes do abate (desbaste), o que significa um aumento do risco de infecção por *Campylobacter*, para as restantes aves do bando [61]. Parar com o desbaste iria reduzir o risco da introdução de *Campylobacter* na exploração, tanto devido à redução da idade de abate de um ou de mais lotes para abate, como ao tráfego reduzido na exploração durante o tempo de vida do bando [57].

### **5. Bacteriocinas**

As bacteriocinas são toxinas proteicas produzidas por bactérias que inibem o crescimento de estirpes bacterianas similares. Atualmente conhecem-se quatro bacteriocinas

com capacidade comprovada para reduzir a colonização de *Campylobacter* em aves, entre as quais: SRCAM 602 produzida por *Paenibacillus polymyxa* NRRL -30509, OR-7 produzida por *Lactobacillus salivarius*, e E-760 e E 50-52 produzidas por *Enterococcus* spp. [75].

Vários estudos demonstraram que quando as bacteriocinas são administradas pouco antes do abate, podem reduzir *Campylobacter* no ceco dos frangos para níveis indetetáveis. No entanto, a validação da utilização das bacteriocinas em campo ainda não foi realizada, levando a que as estimativas atuais sejam baseadas em estudos experimentais com algumas limitações. Assim, é necessário que se façam ensaios em grande escala para determinar a praticabilidade do tratamento com bacteriocinas [75].

## **6. Bacteriófagos**

Os bacterió(fagos) são predadores naturais das bactérias, estão presentes no ambiente e apresentam especificidade elevada para o hospedeiro e capacidade para evoluir superando a resistência bacteriana. Estas características tornam os fagos uma opção bastante atrativa no controlo de bactérias patogénicas, como *Campylobacter* [76].

Para o controlo de *Campylobacter*, os bacteriófagos são normalmente propostos como terapêuticos para as aves nos aviários, sendo que tal estratégia deve ser realizada dois a três dias antes do abate dos bandos. A atividade lítica dos bacteriófagos pode ser usada para matar esta bactéria [75].

Atualmente não existe nenhuma regulamentação específica a nível Europeu sobre a utilização de fagos na produção primária, sendo que podem ser considerados aditivos alimentares ou uma droga veterinária [78]. A utilização dos fagos como terapêuticos é atraente por permitir eliminar bactérias suscetíveis e não causar danos na microbiota intestinal dos frangos. Assim, foi realizado um estudo onde fagos ativos contra *Campylobacter* foram administrados oralmente numa suspensão com antiácido a frangos com 25 dias de idade, que tinham sido inoculadas com *C. jejuni* aos 18 a 20 dias de idade. 24 horas após o tratamento, o isolamento de *Campylobacter* viável foi reduzido em amostras intestinais, mas a contagem de *Campylobacter* começou a aumentar 72 horas após a administração do fago [76].

## **7. Vacinação**

Assumindo que a biossegurança pode não ser totalmente eficaz, a vacinação dos bandos pode ser uma medida para reduzir a suscetibilidade à infeção por *Campylobacter* [57].

Diversos estudos foram realizados mas ainda não existe uma vacina efetiva, devido aos resultados inconsistentes, mas o conhecimento do ciclo biológico, melhoria nas questões de biossegurança e investimentos em novas pesquisas são premissas para controlar o aumento da contaminação de *Campylobacter* na avicultura [77].

Para que o processo de controlo de *Campylobacter* seja conseguido com sucesso, foi desenvolvida uma *check list* no âmbito do projeto “*Campylobacter control- Novel approaches in primary poultry production*” (*CamCon*), com diversos parâmetros de certificação com o intuito de proporcionar aos produtores e matadouros aviários, uma auditoria interna e independente para fiscalizar as medidas implementadas para garantir uma produção de frango com qualidade e de forma a reduzir a contaminação por *Campylobacter* [78].

#### **Check list – Parâmetros de certificação**

<b>No aviário</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
O local onde está o aviário é cercado?		
Os exteriores dos pavilhões estão limpos e arrumados, e sem vegetação?		
A produção de frangos é a única produção no local?		
Outra produção animal está ausente das imediações do aviário?		
Animais como cães e gatos são excluídos das redondezas do aviário?		

<b>Gestão do aviário</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
A produção é gerida segundo o princípio do sistema "todos dentro todos fora" ( <i>all-in all-out</i> )?		
O desbaste dos frangos é evitado?		
Nos pavilhões, durante o período de pausa, é realizada uma limpeza de todos os frangos entre ciclos?		
Todas as superfícies, bebedouros e outros equipamentos são higienizados entre cada ciclo?		
Existe algum procedimento para a eliminação de aves mortas/abatidas sem violar a biossegurança no local?		

<b>Nos pavilhões</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
Os são edifícios construídos de material durável como tijolos ou de elementos pré-fabricados?		
As ranhuras, falhas ou aberturas estão ausente dos muros, portas e portões dos pavilhões?		
São as janelas e as aberturas de ventilação à prova de aves selvagens?		

As superfícies interiores estão sem ranhuras e são fáceis de limpar?		
Existe algum acesso cimentado ou asfaltado nas entradas dos pavilhões?		
Existe apenas um acesso aos pavilhões durante o período de produção?		
Todas as outras entradas estão bloqueadas durante o período de produção?		
Só existe uma entrada nos pavilhões durante o período de produção?		
Existe uma antecâmara antes dos pavilhões?		
A antecâmara está dividida entre uma zona suja e limpa?		
Há facilidade em lavar as mãos na antecâmara?		

<b>Medidas de biossegurança (entrada e saída)</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
São disponibilizados proteções de calçado e batas de proteção, em cada pavilhão, para funcionários como e visitantes?		
As proteções de calçado e as batas de proteção da zona limpa são sempre usados pelos funcionários e visitantes quando entram na zona limpa e nos pavilhões?		
Existem lavatórios e desinfetantes disponíveis antes da entrada na zona limpa e dos pavilhões?		
Existe uma zona de desinfeção do calçado nas entradas dos pavilhões?		
Todas as roupas de trabalho são lavadas ou descartadas entre pavilhões?		

<b>Equipamentos, ferramentas e utensílios do aviário</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
Todas as ferramentas e equipamentos são de uso exclusivo de cada pavilhão?		
Todas as ferramentas e equipamentos são limpos e desinfetados entre pavilhões?		
Todas as ferramentas que entram nos pavilhões para trabalhos urgentes de reparação são sempre desinfetadas antes e depois do trabalho?		
A maquinaria é limpa e desinfetada depois de usada nos pavilhões ?		

<b>Controlo de pragas</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
Existem medidas preventivas para evitar a entrada de ratos e ratazanas nos pavilhões?		
Existe um planeamento de desratização no exterior dos pavilhões?		
Existem medidas preventivas para evitar a entrada de aves selvagens nos pavilhões?		
As pragas de insetos são controladas?		

<b>Abastecimento de água</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
A água fornecida na exploração é potável?		
A qualidade da água é analisada anualmente num laboratório certificado?		
Se a água não for da companhia, é tratada com desinfetante na exploração?		

<b>Ração</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
A ração é armazenada em silos ou em sacos fechados que não permitam o acesso de roedores ou aves selvagens?		

<b>Fornecimento e disposição das camas</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
As novas camas são armazenadas em sítios secos protegidas de pássaros e vermes?		
As camas usadas e o estrume são removidos diretamente para o exterior da exploração?		

<b>Treino e educação</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
Todos os trabalhadores têm formação em biossegurança e medidas de higiene?		
Existem registos da formação, ex: certificados de formação?		

Fonte: Adaptado do projeto “*Campylobacter control- Novel approaches in primary poultry production*”  
CamCon, 2015

### **Prevenção pelo Consumidor**

A segurança alimentar constitui uma preocupação crescente para os consumidores e indústria alimentar. A prevenção de doenças transmitidas por alimentos poderá ser minimizada mediante educação alimentar dos consumidores e a adoção de práticas de manipulação de alimentos de forma segura.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) o consumidor, para prevenir a infeção por *Campylobacter* através do manuseamento de carne de frango, deve [75]:

- Cozinhar bem a carne de aves;
- Nunca lavar a carne de aves antes de cozinhar;
- Após o manuseamento de carne fresca de aves lavar convenientemente as mãos;

- Utilizar tábuas de corte específicas para alimentos de origem animal.
- Manter a cozinha limpa, bem como os equipamentos/utensílios;
- Separar alimentos crus de cozinhados;
- Cozinhar bem os alimentos;
- Manter os alimentos a temperaturas seguras;
- Usar água potável;
- Usar matérias-primas seguras.
- Lavar todos os utensílios e superfícies utilizados na preparação dos alimentos;
- Após contato com fezes animais lavar as mãos;
- Beber apenas água potável;
- Beber apenas leite pasteurizado.

Para que esta informação chegue de forma mais eficaz aos consumidores a FSA criou uma campanha online designada “The Chicken Challenge summer campaign”, com o objetivo de diminuir para metade a prevalência de campilobacteriose até ao final de 2015, tendo cerca de 3,500 seguidores (<https://www.food.gov.uk/news-updates/campaigns/chicken-challenge-summer>) [79].

## Conclusões gerais

A elevada incidência de sintomatologia clínica associada a infeção por *Campylobacter* spp., assim como a duração da mesma e o possível aparecimento de sequelas coloca esta infeção alimentar na frente de todas as outras em importância, quando analisadas numa perspectiva de saúde pública, e com um significativo impacto socioeconómico que deve ser tomado em linha de conta [26].

Campilobacteriose continuou a ser a zoonose mais comumente relatada em seres humanos, na UE, desde 2005. Em 2012, o número de casos notificados de infeção por *Campylobacter* na UE diminuíram 4,3% em comparação com 2011, para aproximadamente o mesmo nível que em 2010. O número de casos de campilobacteriose humanos tem mostrado uma tendência estatisticamente significativa nos últimos cinco anos (2008-2012). As razões para esta tendência de aumento não são completamente compreendidos no presente. Devido às características deste patogénico multi-hospedeiro e sua prevalência no ambiente, onde os fatores climáticos podem desempenhar um papel importante, é difícil de compreender todos os aspetos de sua epidemiologia e as possíveis razões para o aumento de casos humanos [3].

Considerando o elevado número de casos de campilobacteriose, a gravidade em termos de mortes relatadas foi baixa (0,03%).

Uma vez que o consumo de carne de aves parece estar intimamente associado ao aparecimento de campilobacteriose no Homem, torna-se assim, necessário o estudo e a caracterização das estirpes que sejam isoladas das carcaças e da carne fresca de aves, e dos isolados encontrados no Homem quando surge doença neste. São também necessários estudos epidemiológicos que permitam tipificar e averiguar quais são as fontes de infeção do Homem, cruzando dados encontrados nas principais fontes de infeção, como carne de aves e outros alimentos.

A prevalência e a contaminação por *Campylobacter* spp. na cadeia produtiva avícola é nitidamente um grave problema.

Assim, um dos maiores desafios da cadeia produtiva avícola, é desenvolver ações que envolvam medidas de controlo e higiene no ambiente da exploração, bem como no processo de abate, tendo como principal objetivo a redução significativa da contaminação de *Campylobacter* spp. no produto final, garantindo assim a saúde dos seus consumidores.

Com este trabalho pretendeu-se fazer uma caracterização geral de *Campylobacter*, bem como analisar as diversas medidas de prevenção e combate a esta bactéria.

Assim, para que esta informação chegue de forma eficaz a todos os avicultores, bem como, aos trabalhadores do matadouro foi desenvolvido um PowerPoint (Anexo 1) e um Manual de Formação (Anexo 2) explicativo. Foi também realizada uma pesquisa sobre os projetos nacionais e internacionais, terminados e em curso, sobre *Campylobacter* (Anexo 3).



## Trabalho futuro

O aumento da incidência da infecção humana por *Campylobacter* tem-se verificado, mesmo sem que a maioria dos casos sejam notificados. Nos últimos anos tem-se verificado uma melhoria nos sistemas de notificação, das técnicas de diagnóstico e um aumento da consciencialização dos consumidores, o que pode justificar o aumento do número de casos relatados da infecção por *Campylobacter* [80].

Devido ao aumento da incidência de *Campylobacter*, existem diversas perspetivas sobre qual o caminho a seguir para que se verifique uma diminuição da prevalência da campilobacteriose. Assim, alguns autores referem que o controlo dos mecanismos no matadouro poderá ser mais efetivo no controlo de *Campylobacter* quando comparado com as medidas aplicadas apenas na exploração avícola, enquanto outros autores defendem que a implementação de medidas de biossegurança na exploração e no matadouro [63, 69].

No entanto, parece consensual afirmar que, se o número de bandos e carcaças infetadas com *Campylobacter* forem diminuídos poderá surgir uma repercussão positiva na saúde dos consumidores [60].

Os consumidores de carne de frango também têm um papel essencial na prevenção da infecção por *Campylobacter*. Assim, torna-se essencial que sejam criadas ações de educação de segurança alimentar que cheguem a toda a população de forma eficaz.

Seria também importante a criação de um sistema de epidemovigilância efetivo em Portugal, onde se produzissem dados sobre a prevalência de *Campylobacter* spp., de modo a caracterizar a situação portuguesa no que diz respeito à campilobacteriose e ao mesmo tempo criar estratégias de controlo devidamente fundamentadas e com o objetivo de travar a evolução desta zoonose.

Uma vez que é difícil evitar a entrada de aves portadoras de *Campylobacter* spp., cabe à Lusiaves implementar medidas que reduzam a contaminação das carcaças durante o processo de evisceração e que previnam as contaminações cruzadas durante as etapas seguintes, reduzindo assim, a contaminação no produto final e, conseqüentemente, a sua transmissão aos consumidores.

Será importante, que a Lusiaves realize análises a novas colheitas de amostras periodicamente e que teste as medidas de controlo apresentadas ao longo do trabalho,

perspetivando a sua implementação em toda a cadeia, como forma de confirmar a diminuição da infecção por *Campylobacter* assegurando a qualidade dos produtos produzidos bem como, a segurança alimentar dos consumidores.

## Bibliografia

1. *Direção Geal de Saúde (2004). Plano Nacional de Saúde 2004-2010. Volume II-Orientações Estratégicas. Acedido em 11 de Dezembro de 2014, disponível em: <http://www.acs.min-saude/wp-content/uploads/2008/07/pnsvii.pdf>.*
2. *Sallam, K. (2007). Prevalence of Campylobacter in Chicken and chicken by-products retailed in Sapporo area, Hokkaido, Japan. Food Control, 18, 1113-1120.*
3. *European Food Safety Authority (EFSA). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. EFSA Journal. 12(2), 3547 2014.*
4. *Callicott, K. A., Haoardóttir, H., Georgsson, F., Reiersen, J., Frioriksdóttir, V., Gunnarsson, E., Michel, P., Bisailon, J.R., Kristinsson, K. G., Briem, P., Hielt, K. L., Needleman, D. S. & Stern, N. J. (2008). Broiler Campylobacter contamination and human campylobacteriosis in Iceland. Applied and Environmental Microbiology, 74 (21), 6483-6494.*
5. *Boysen, L., S. Knochel, and H. Rosenquist, Survival of Campylobacter jejuni in different gas mixtures. FEMS Microbiol Lett, 2007. 266(2): p. 152-7.*
6. *Jang, K.I., et al., Morphology and adhesion of Campylobacter jejuni to chicken skin under varying conditions. J Microbiol Biotechnol, 2007. 17(2): p. 202-6.*
7. *Boxall, N. (2005). The Epidemiology of Campylobacter jejuni in Commercial Broiler Flocks in New Zealand. Doctoral Thesis. New Zealand: Massey University.*
8. *Kelly, A.F., Park, S.F., Bovill, R. e Mackey, B.M. (2001). Survival of Campylobacter jejuni during stationary phase: evidence for the absence of a phenotypic stationary-phase response. Applied and Environmental Microbiology. 67, 2248-2254.*
9. *Fraser, A.D., Chandan, V., Yamazaki, H., Brooks, B.W. and Garcia, M.M. (1992)- Simple and economical culture of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in CO<sub>2</sub> in moist air. Int. J. Food Microbiol. 15: 377-382.*
10. *Vandamme, P (2000). Microbiology of Campylobacter infections: taxonomy of the family Campylobacteracea. In I. Nachamkin & M. J. Blaser (Eds.), Campylobacter. p. 3-26. Washington, DC: ASM Press.*
11. *Theobald Smith, M.D. and Taylor, M.S. (1919)- Some morphological and biological characters of Spirilla (Vibrio fetus, n. sp.) associated with disease of the fetal membranes in cattle. J. Exp. Med., 30: 299-311.*
12. *Jones, F.S., Little, R.B. and Orcutt, M. (1932)- Continuation of the study of the etiology of infectious diarrhea (winter scours) in cattle. J. Am. Vet. Med. Ass. 81: 610.*
13. *Doyle, L (1994)- A Vibrio associated with swine dysentery. Am. J. Vet. Res. 5: 3-5.*
14. *Levy, A.J. (1946)- A gastroenteritis outbreak probably due to a bovine stain of vibrio. Yale J. Biol. Med. 18: 243-248.*

15. King, E.O. (1957)- *Humaninfection with Vibrio fetus and closely related Vibrio*. *J. Infect. Dis.* 101: 119-128.
16. Sebald, M., and Véron, M. (1963)- *Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions*. *Ann. Inst. Pasteur.* 105: 897-910.
17. Vandamme, P., Dewhirst, F.E., Paster, B.J. and On, S.L.W (2005). *Family I. Campylobacteraceae*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2<sup>nd</sup> ed* (G. M. Garrity, Ed.) *Volume 2: The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta- and Epsilon-proteobacteria*. D.J. Brenner, N.R. Krieg and J.T. Staley, eds pp. 1145-1160. Springer: New York.
18. Levin, R (2007). *Campylobacter jejuni: A review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection*. *Food Biotechnology*, 21, 271-347.
19. Klena, J., Parker, C., Knibb, K., Ibbitt, J., Devane, P., Horn, S., Miller, W. & Konkel, M. (2004). *Differentiation of Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Campylobacter lari and Campylobacter upsaliensis by a multiplex PCR developed from the nucleotide sequence of the lipid A gene lpxA*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42 (12), 5549-5557.
20. *European Food Security Authority (2009) The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. The EFSA Journal*, 109-134.
21. Skirrow, M.B. (1977)- *Campylobacter enteritis: a "new" disease*. *Br. Med. J.* 2: 9-11.
22. Uyttendaele, M., Schukkink, R., van Gemen, B. and Debevere, J. (1994) - *Identification of Campylobacter jejuni, Campylobacter coli and Campylobacter lari by the nucleic acid amplification system NASBAR*. *J. Appl. Bacteriol.* 77: 694-701.
23. Park, P. (2002). *The physiology of Campylobacter species and its relevance to their role as foodborne pathogens*. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 177-188.
24. Wassenaar, T.M. and Newell, D. G. (2000) - *Genotyping of Campylobacter spp.* *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1-9.
25. *Directiva 2003/99/CE do Parlamento Europeu e do Conselho. Relativa à vigilância das zoonoses e dos agentes zoonóticos, que altera a Decisão 90/424/CEE e revoga a Directiva 92/117/CEE. Comissão Europeia. Bruxelas.*
26. *European Food Security Authority (2005) Opinion of the scientific panel on biological hazards on the request from the Commission related to Campylobacter in animals and foodstuffs. The EFSA Journal (2005) 173, 1-10.*
27. Moore, J. E., Wilson, T.S., Wareig, D.R.A., Humphrey, T.J. & Murphy, P.G. (2005). *Prevalence of thermophilic Campylobacter spp. in ready-to-eat foods and raw poultry in Northern Ireland*. *Journal of Food Protection*, 65 (8), 1326- 1328.

28. *Allos, B.M., Campylobacter jejuni Infections: update on emerging issues and trends. Clin Infect Dis, 2001. 32(8): p. 1201-6.*
29. *Moore, J.E., Barton, M.D, Blair, I.S., Corcoran, D., Dooley, J.S.G., Fanning, S., KEMPF, I., Lastovica, A. J., Lowery, C.J., Matsuda, M., Mcdowell, D. A., McMahon, A., Millar, B. C., Rao, J. R., Rooney, P. J., Seal, B. S., Snelling, W. J., Tolba, O. The epidemiology of antibiotic resistance in Campylobacter. Microbes and Infection, v.8, p.1955-1966, 2006.*
30. *EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. The European Union Summary Report On Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013. EFSA Journal 2015; 13 (1): 3991, 162 pp. doi: 10.2903/j.efsa.2015.3991.*
31. *Scallan, E., Hoekstra, M.R., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M., Roy, S.L., Jones, J.L., Griffi, P.M. Foodborne illness Acquired in the United States - Major Pathogens. Emerging Infectious Disease, v. 17, n.1, p. 7-15, 2011.*
32. *DHA (Department of Health and Ageing) Monitoring the incidence and causes of diseases potentially transmitted by food in Australia: Annual Report of the OzFoodNet Network, 2010.*
33. *Fraqueza, M.J. (2009). Ocorrência de Campylobacter em Portugal: contribuição para a caracterização de um perigo emergente em segurança alimentar [versão electrónica]. In Resumos do III Ciclo de Conferências de Saúde Pública Veterinária: Saúde Animal e Saúde Humana, Uma Única Saúde, Porto, 3-4 de Julho. Acedido em Dezembro, 07, 2014, em [http://www.skyros-congressos.com/images/congressos/foto2/cartaz\\_SPV.pdf](http://www.skyros-congressos.com/images/congressos/foto2/cartaz_SPV.pdf).*
34. *Vicente, A., et al., High rates of fluoroquinolone-resistant Campylobacter in Portugal-need for surveillance. Euro Surveill, 2008. 13(6).*
35. *Fernandes, M., Mena, C., Silva, J. & Teixeira, P. (2009). Study of Cytolethal Distending Toxin (cdt) in Campylobacter coli Using a Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay and its Distribution Among Clinical and Food Strains.*
36. *Cabrita, J., Rodrigues, J., Bragança, F., Morgado, C., Pires, I. & Penha Gonçalves, A. (1992). Prevalence, biotypes, plasmid profile and antimicrobial resistance of Campylobacter isolated from wild and domestic animals from Northeast Portugal. Journal of Applied Microbiology, 73, 279-285.*
37. *Veloso, M.G.L (1994). Contribuição para o estudo de Campylobacter jejuni e Campylobacter coli em alimentos de origem animal em Portugal. Tese de Doutoramento. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.*
38. *Young, K.T., L.M. Davis, and V.J. Dirita, Campylobacter jejuni: molecular biology and pathogenesis. Nat Rev Microbiol, 2007. 5(9): p. 665-79.*
39. *Microbiological Safety of Food Funders Group (MSFFG) (2014). Retail survey on levels of Campylobacter in chicken published. Last update 2014. Acedido em 30 de*

- Janeiro de 2015, disponível em: <http://www.food.gov.uk/news-updates/news/2014/13251/campylobacter-survey>.
40. Oliveira, K.A.M., Mendonça, R.C.S., Andrade, N.J., Albino, L.F.T. Ocorrência de *Campylobacter* no ambiente de criação de frango de corte. *Revista Ceres*, v. 55, p.556-561, 2008.
  41. Lin, J. (2009). Novel approaches for *Campylobacter* control in poultry. *Foodborne Pathogens and Disease*. 6 (7), 755-765.
  42. FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization) 2009. Risk assessment of *Campylobacter* Spp. in broiler chickens: Technical Report. Microbiological Risk Assessment Series N° 12. Geneva. 132pp.
  43. Thomé, J.D.S. Citotoxinas e hemolisinas produzidas por *Campylobacter jejuni* isolados de diferentes origens. 88f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, 2006.
  44. Carvalho, A.C.F.B., Lima, V.H.C., Pereira, G.T., Schocken-Iturrino, R.P. *Campylobacter* em granja avícola. *RPCV*, v.96, p. 191-195, 2001.
  45. Snelling, W.J., Matsuda, M., Moore, J.E. and Doodley, J.S. (2005). Under the microscope. *Campylobacter jejuni*. *Letters in Applied Microbiology*. 41, 297-302.
  46. Bhavsar, S. and Kapadnis, B. (2007). Virulence factors of *Campylobacter*. *The Internet Journal of Microbiology*, 3. Acedido em Abril, 2015, disponível em: <http://www.ispub.com>.
  47. Konkel, M.E., Klena, J.D., Rivera-Amill, V., Monteville, M.R., Biswas, D., Raphael, B. and Mickelson, J. (2004). Secretion of virulence proteins from *Campylobacter jejuni* is dependent on a functional flagellar export apparatus. *Journal of Bacteriology*. 186, 3296-3303.
  48. Knudsen K.N. , Bang D.D., Andresen L.O. and Madsen M. (2006). *Campylobacter jejuni* strains of human and chicken origin are invasive in chickens after oral challenge. *Avian Dis*. 50, 10-14.
  49. Van Deun, K., Pasmans, F., Ducatelle, R., Flahou, B., Vissenberg, K., Martel, A., Van den, B.W., Van Immerseel, F. and Haesebrouck, f. (2008). Colonization strategy of *Campylobacter jejuni* results in persistent infection of the chicken gut. *Vet Microbiol*. 130, 285-297.
  50. Venturini, K. S., Sarcinelli, M. F. & Silva, L. C. (2007). Características da carne de frang. Acedido a Novembro 28, 2014, disponível em: <http://www.agais.com/telomc/b01307caracteristicascarnefrango.pdf>.
  51. Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas (MADRP) (2007). "Carne Diagnóstico Sectorial." P.36-37.
  52. Goksöy, E. O., Kirkan, S., Kök, F. (2004). "Microbiological quality of broiler carcasses during processing in two slaughterhouses in Turkey." *Poultry Science*, v.83, p.1427-1432.

53. Meade, G. C. (2004). *Meat quality and consumer requirement*. In Meade, G. C. (Ed), *Poultry meat processing and quality*. England: Woodhead Publishing Limited.
54. Moreno, B. (2006). "Higiene e inspección de carnes – I." Espanha: Ediciones Díaz de Santos.
55. AVEC (2014). *Annual Report: Association of Poultry Processors and Poultry Trade in the EU Countries*. Acedido em Fevereiro 6, 2015, disponível em: [www.avec-poultry.eu](http://www.avec-poultry.eu).
56. Instituto Nacional de Estatísticas (INE) (2013). "Estatísticas Agrícolas 2012." INE, Lisboa, Portugal, ISBN 978-989-25-0198-7, p.36-44.
57. EFSA. Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); *Scientific Opinion on Campylobacter in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of food chain*. EFSA Journal 2011; 9(4):2105. [141pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2011.2105.
58. Jaenisch, F.R.F. *Biossegurança e cuidados sanitários para frangos*. Embrapa-Instrução técnica para o avicultor, 1998.
59. *Guia europeu da industria da carne de aves de capoeira (EPIG)- avec 2010*.
60. Lawes, J., Vidal, A., Clifton-Hadley, A., Sayers, R., Rodgers, J., Snow, L., Evans, S. and Powell, L. 2012. *Investigation of prevalence and risk factors for Campylobacter in broiler flocks at slaughter: results from a UK survey/ Cambridge University Press*, 140: 1725-1737.
61. Humphrey, T., O'Brien, S and Madsen, M. 2007. *Campylobacter as zoonotic pathogens: A food production perspective/ International Journal of Food Microbiology*, 117:237-257.
62. Newell, D., Elvers, K., Dopfer, D., Hansson, I., Jones, P., Jones, P., James, S., Gittins, J., Stern, N., Davies, R., Connerton, I., Pearson, D., Salvat, G. and Allen, V. 2011. *Biosecurity- Based Interventions and Strategies to Reduce Campylobacter spp. on Poultry Farms/ Applied and Environmental Microbiology*, 77, 24:8605-8614.
63. Barrios, P., Reiersen, J., Lowman, R., Bisailon, JR., Michel, P., Fridriksdo'ttir, V., Gunnarsson, E., Stern, N., Berke, O., McEwen, S. and Martin, W. 2006. *Risk factors for Campylobacter spp. clonization in broiler flocks in Iceland/ Preventive Veterinary Medicine*, 74:264-278.
64. Buhr, R. J., Cason, J. A., Dickens, J. A., Hinton, A. Jr.; Ingram, K. D. (2000). "Influence of flooring type during transport and holding on bacteria recovery from broiler carcass rinses before and after defeathering." *Poultry Science*, v.79, p.436-441.
65. *Regulamento (CE) nº853/2004 de 29 de Abril de 2004. Jornal Oficial da União Europeia. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia*.
66. Hue, O., Bouquin, S.L., Laisney, M.J., Allain, V., Lalande, F., Petetin, I., Rouxel, S., Quesne, S., Gloaguen, P.Y., Picherot, M., Santolini, J., Bougeard, S., Salvat, G.,

- Chemaly, M. Prevalence of and risk factors for Campylobacter spp. Contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse. Food Microbiology, v. 27, p. 992-999, 2010.*
67. *Regulamento (CE) n°852/2004 de 29 de Abril de 2004. Jornal Oficial da União Europeia. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia.*
  68. *Lues, J. F. R., Theron, M. M., Venter, P., Rasephei, M. H. R. (2007). "Microbial composition in bioaerosols of a high-throughput chicken-slaughtering facility." Poultry Science, v.86, p.142-149.*
  69. *Reich, F., Atanassova, V., Haunhorst, E., Klein, G. The effects of Campylobacter numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with Campylobacter. International Journal of Food Microbiology, v. 127, p. 116-120, 2008.*
  70. *Osiriphun, S., Tuitemwong, P., Koetsinchai, W., Tuitemwong, K. Model of inactivation of Campylobacter jejuni in poultry scalding. Journal of Food Engineering, v. 110, p. 38-43, 2012.*
  71. *Nde, C. W., McEvoy, J. M., Sherwood, J. S., logue, C. M. (2007). "Cross contamination of turkey carcasses by Salmonella species during defeathering." Poultry Science, v.86, p.162-167.*
  72. *Rosenquist, H., Sommer, H.M., Nielsen, N.L., Christensen, B.B. The effect of slaughter operation on the contamination of chicken carcasses with thermotolerant Campylobacter. International Journal of Food Microbiology, v. 108, p. 226-232, 2006.*
  73. *Berrang, M. E., Dickens, J. A., Musgrove, M. T. (2000). "Effects of hot water application after defeathering on the levels of Campylobacter, coliform bacteria and Escherichia coli on broiler carcasses." Poultry Science, v.79, p.1689-1693.*
  74. *Malher, X., Simon, M., Charnay, V., Deserts, R.D., Lehebel, A., Belloc, C. Factors associated with carcass contamination by Campylobacter at slaughterhouse in cecal-carrier broilers. International Journal of Food Microbiology, v. 150, p. 8-13, 2011.*
  75. *FAO/WHO [food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization]. 2009. Salmonella and Campylobacter in chicken meat: Meeting report. Microbiological Risk Assessment Series No. 19. Rome. 56pp.*
  76. *Barton, M. D., Heuzenroeder, M.W., Owens, J. (2011) The use of Bacteriophages to control Campylobacter jejuni from chickens. Australian Government. Publication No. 11/005.*
  77. *Hermans, D., Van Deun, K., Messsens, W., Martel, A., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F., Rasschaert, G., Heyndrickx M., and Pasmans, F. 2011. Campylobacter control in poultry by current intervention measures ineffective: Urgent need intensified fundamental research/ Veterinary Microbiology, 152: 219-228.*
  78. *Campylobacter control- Novel approaches in primary poultry production. CamCon, 2015.*



79. FSA [Food Standards Agency] 2015. *The Chicken Challenge summer campaign*. Acedido em Setembro 2015, disponível em: [www.food.gov.uk/chickenchallenge](http://www.food.gov.uk/chickenchallenge).
80. Jore, S., Viljugrein, H., Brun, E., Heier, B., Borck, B., Ethelberg, S., Hakkinen, M., Kuusi, M., Reiersen, J., Hansson, I., Olsson Engvall, E., Lofdahl, M., Wagenaar, J., Pelt, W. and Hofshagen, M. 2010. *Trends in Campylobacter incidence in broiler and humans in six European countries, 1997-2007/ Preventive Veterinary Medicine*, 93:33.



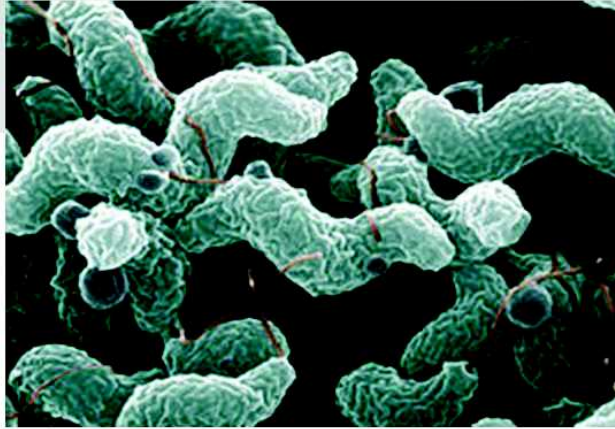
## **Anexos**



## **Anexo 1**



# *Campylobacter*



# *Campylobacter*

- Vídeo sobre *Campylobacter* no Reino Unido, realizado pelo jornal *The Guardian*.



## Caracterização de *Campylobacter*

As bactérias pertencentes ao gênero *Campylobacter* spp. são:

- Bacilos Gram-negativo;
- Não formadoras de esporos;
- Bastonetes curvos em forma de S ou em forma espiral;
- Microaerofílicas (necessitam de uma atmosfera contendo 3 a 15% de oxigênio);
- Oxidase positivo;

## Condições de crescimento

Tabela 1- Condições de crescimento de *Campylobacter*

	Mínimo	Ótimo	Máximo
Temperatura (°C)	32	35-40	45
pH	4,9	5,8-8,0	9
O <sub>2</sub> (%)	3	5	21
CO <sub>2</sub> (%)	3	5	---



## Caracterização de *Campylobacter*

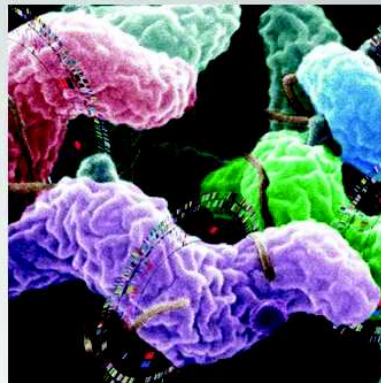
Segundo a 2ª edição do Manual de Bergey de Bacteriologia Sistemática, o género *Campylobacter* pertence ao:

- Reino Bacteria;
- Filo Proteobacteria;
- Classe Epsilonproteobacteria;
- Ordem Campylobacterales;
- Família *Campylobacteraceae*.

## Caracterização de *Campylobacter*

Das todas as espécies (16) e subespécies (6), as mais importantes são as que pertencem ao grupo das termófilas, nomeadamente:

- *C. jejuni*
- *C. coli*
- *C. lari*



## Caracterização de *Campylobacter*

*C. jejuni* e *C. coli* constituem as espécies que são, com maior frequência, isoladas em casos de gastroenterites em humanos e animais.

Tabela 2 - Distribuição dos isolamentos por estirpe de *Campylobacter* spp. em amostras de humanos no ano de 2012.

	C. jejuni (%)	C. coli (%)	Outras espécies identificadas (%)	Estirpe desconhecida (%)
Total EU	81,1	6,2	0,27	53,7

(Adaptado de EFSA, 2014)

## *Campylobacter*

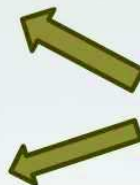


Trato gastrointestinal



Maior doença emergente de origem alimentar em Humanos

Problema de saúde pública, com um grande impacto socioeconómico na EU



*Campylobacteriose*

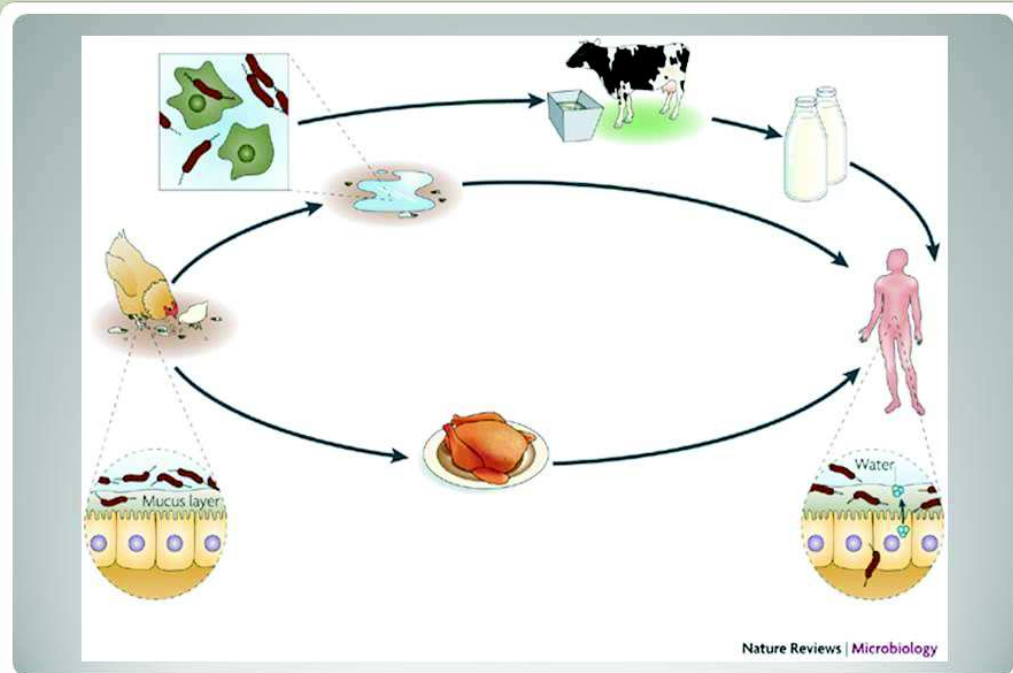
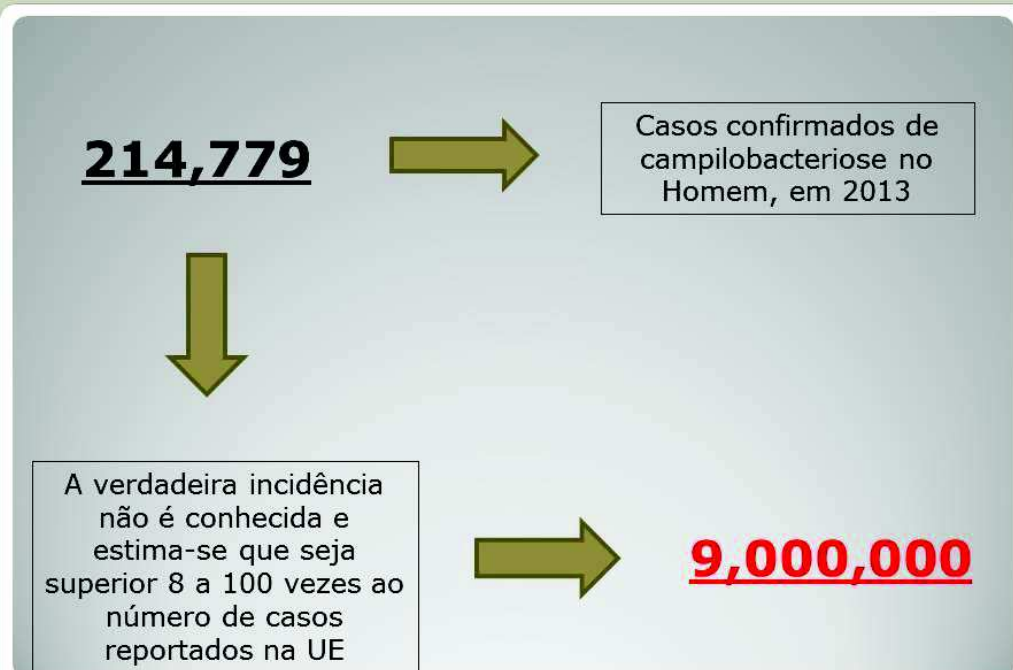


Figura 1: Fontes de contaminação de Campylobacter (adaptado de Young et al., 2007)



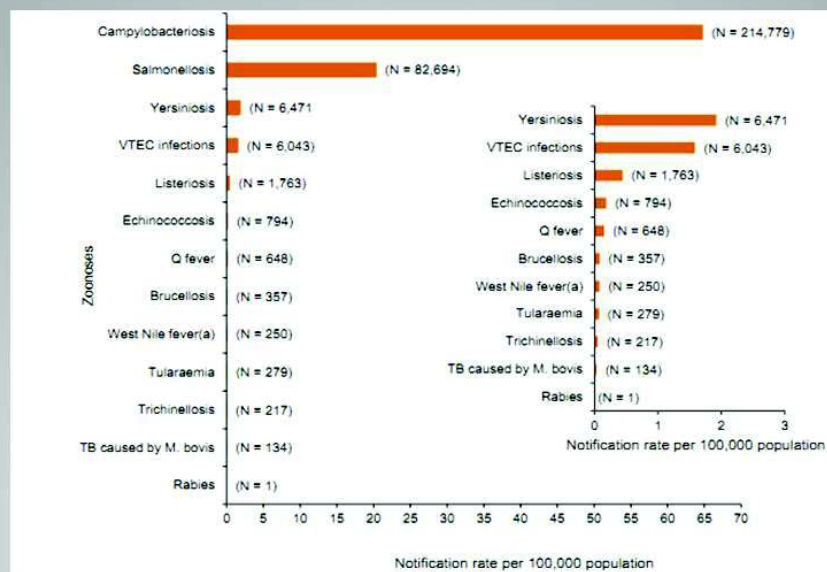


Figura 2- Taxa de notificação de casos de zoonoses confirmados em humanos na União Europeia em 2013 (EFSA 2015)

## Campilobacteriose em Humanos

- Os sinais clínicos geralmente associados a infecção por *Campylobacter* spp, em humanos, abrangem:
  - Dor abdominal;
  - Febre;
  - Náuseas;
  - Diarreia;
  - Associação com o aparecimento de casos de artrite reativa e de síndrome de Guillain-Barré;
  - Morte (em casos muito extremos).



## Vias de transmissão

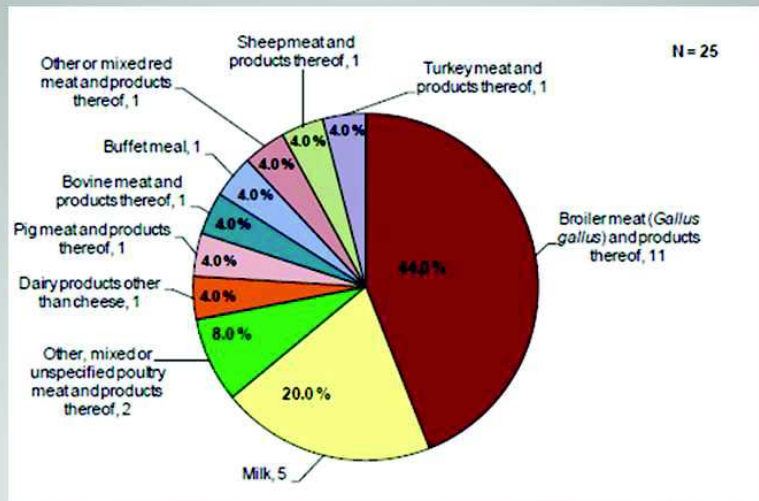


Figura 3 - Distribuição de meios alimentares com forte evidência de surtos causados por *Campylobacter* na União Europeia em 2012 (EFSA, 2014)

## Qual a sua importância na avicultura?

- A carne de frango e produtos derivados são o principal veículo de *Campylobacter* a humanos;
- As aves são considerados potenciais hospedeiros de *Campylobacter* e por via fecal acaba por contaminar o ambiente, nomeadamente o solo, a água, as pastagens, entre outros;
- O número de aves infetadas varia a sua prevalência conforme a época do ano, havendo um pico no verão e uma diminuição nos meses de inverno.



## Qual a sua importância na avicultura?

- Entre 2009 e 2013, houve uma tendência sazonal clara em casos confirmados de campilobacteriose comunicados na UE, com picos nos meses de verão.

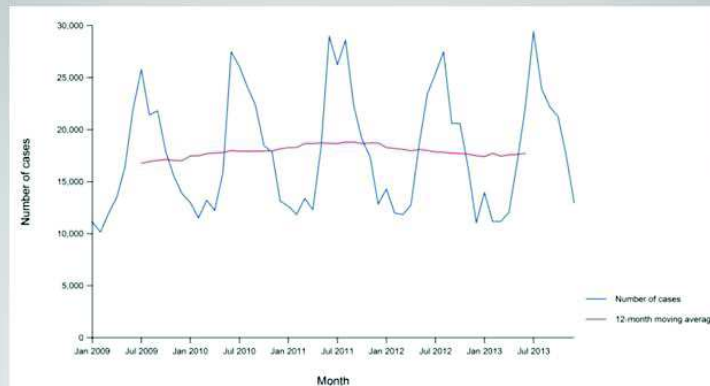


Figura 4 - Tendência dos casos notificados confirmados de campilobacteriose em humanos na União Europeia, entre 2009-2013 (in EFSA 2015)

## Qual a sua importância na avicultura?

- Nos países industrializados verificam-se picos epidêmicos nos meses de verão, ao contrário dos países em desenvolvimento, onde não se verifica preferência sazonal.
- O carácter sazonal observado no aumento do número de casos confirmados de campilobacteriose, segundo alguns autores, pode ser devido às moscas atuarem como vetor de transmissão mecânico ou biológico, no entanto, esta teoria carece de estudos confirmatórios.
- Um estudo realizado na Dinamarca, demonstrou que, quando a temperatura aumenta, existe um aumento correspondente na incidência de campilobacteriose humana, assim como a percentagem de bandos de frangos infectados no momento do abate.

## Qual a sua importância na avicultura?

- Outro estudo realizado na Grã Bretanha, demonstrou que os fatores climáticos, como o número de horas expostos ao sol e a combinação de temperatura no momento do abate, aumentaram 46% a prevalência de bandos colonizados por *Campylobacter*.



## Colonização das aves

A colonização das aves pode ocorrer por diversas fontes, tais como:

- Água;
- Ração;
- Contacto fezes de outras aves;
- Contacto com outras espécies de animais presentes no aviário.



## Qual a sua importância na avicultura?

- Assim, é necessário haver a realização de intervenções para controlar a infeção das aves, passando:



Exploração



Transporte



Abate

Num estudo realizado em Portugal em 2008 , as amostras recolhidas num matadouro de aves revelaram que :

- 86 a 100%** dos bandos de aves avaliados estavam contaminados com *C. jejuni* e *C. coli*.
- Nas carcaças de frango de diferentes sistemas produtivos (biológico, extensivo e intensivo) a frequência de *C. jejuni* e *C. coli* situou-se entre os **80 a 86%**.
- Após desmancha a maioria (**93%**) dos peitos apresentaram *Campylobacter* spp. (positivo em 25g amostra), sendo a espécie *C. jejuni* a predominante (**56%**)

Fraqueza, M.J. (2009). Ocorrência de *Campylobacter* em Portugal: contribuição para a caracterização de um perigo emergente em segurança alimentar [versão eletrónica]. In Resumos do III Ciclo de Conferências de Saúde Pública Veterinária: Saúde Animal e Saúde Humana, Uma Única Saúde, Porto, 3-4 de Julho.



Num estudo realizado pela FSA, entre Fevereiro de 2014 e Fevereiro de 2015 em Inglaterra, verificou-se a prevalência de contaminação por *Campylobacter* em frangos inteiros frescos, refrigerados e as embalagens, em que os resultados foram:

- ❖ **19%** dos frangos testados deram positivo para *Campylobacter* entre a maior banda de contaminação\* ;
- ❖ **73%** dos frangos testados deram positivo para a presença de *Campylobacter*;
- ❖ **7%** das embalagens testadas deram positivo para a presença de *Campylobacter*;



## Pesquisa de *Campylobacter* no aviário

No âmbito do trabalho do Mestre Pedro Padilha foram colhidas várias amostras para pesquisa de *Campylobacter* spp. Como observado na Tabela 3 (presente no Manual de Formação), não foi detetado *Campylobacter* em nenhuma das amostras analisadas.

Assim, foi solicitado pela Lusiaves a pesquisa de *Campylobacter* spp. em diferentes amostras. Estas análises foram realizadas pelo Centro de Inovação e Apoio Empresarial (CINAT) da Escola Superior de Biotecnologia, sendo que a colheita de amostras foi da responsabilidade da Lusiaves.

Os resultados obtidos apresentam-se na tabela 5:

Data de Receção	Amostras	Relatório de Ensaio	Resultados
30/09/2015	Fezes	201506692	Positivo em 10 g
30/09/2015	Fezes	201506693	Negativo em 10 g
30/09/2015	Fezes	201506694	Negativo em 10g
30/09/2015	Fezes	201506695	Negativo em 10 g
30/09/2015	Fezes	201506696	Negativo em 10g
30/09/2015	Cecos	201506697	Negativo em 10g
30/09/2015	Cecos	201506698	Negativo em 10g
30/09/2015	Cecos	201506699	Negativo em 10 g
30/09/2015	Cecos	201506700	Negativo em 10 g
30/09/2015	Cecos	201506701	Positivo em 10 g
30/09/2015	Água Escaldão (Início 29/09-23h)	201506702	Negativo em 100 ml
30/09/2015	Água Escaldão (após 4h)	201506703	Positivo em 100 ml
30/09/2015	Água Escaldão (após 8h)	201506704	Positivo em 100 ml
30/09/2015	Frango perninha + coxa + asa-1	201506705	Negativo em 25 g
30/09/2015	Frango 2 asas + peito-2	201506706	Negativo em 25 g
30/09/2015	Frango perninha + peito- 3	201506707	Negativo em 25 g
30/09/2015	Frango perna + asa- 4	201506708	Positivo em 25 g
30/09/2015	Frango perna + peito-5	201506709	Negativo em 25 g

Na sequência destas análises, *Campylobacter* spp. foi detetado em 20% das amostras de fezes, de seco e de produto final.

Com base nestes resultados, ressalvando aqui o reduzido número de amostras podemos retirar as seguintes conclusões:

- Foi demonstrada a colonização intestinal de aves (amostras de ceco e de fezes positiva) e a contaminação cruzada do produto final (amostra composta de perna de frango e asa) no ambiente de processamento.
- Dado o elevado número de aves processadas, é elevada a possibilidade de contaminação cruzada durante o processo de evisceração mecânica.
- Quanto aos resultados obtidos para as amostras de fezes e de cecos, não pode ser excluída a hipótese de alguns destes resultados poderem ser "falsos negativos".

- Em relação às amostras de água de escaaldão, os resultados evidenciam que os processos de higienização dos tanques e de tratamento da água serão eficazes na destruição de *Campylobacter* spp., uma vez que este agente não foi detetado na amostra colhida no início do processo. Contudo, esta etapa assume-se como crítica na disseminação do agente após o abate uma vez que *Campylobacter* spp. foi detetado nas amostras de água de escaaldão colhidas posteriormente (4 e 8 horas após o início do processo).



## Como prevenir?

- **Medidas de Biossegurança** podem impedir a introdução de *Campylobacter* na cadeia de produção.
- Estas práticas e procedimentos visam prevenir ou bloquear todas as vias de transmissão de *Campylobacter* em matadouros.



## Prevenção- avicultura

Assim, é importante prevenir e reduzir os potenciais pontos críticos à contaminação por *Campylobacter spp.*, entre os quais:

### Instalações:

- **Presenças nos pavilhões** - O perímetro das instalações deve estar devidamente limitado e os pontos de acesso devem ser o mais restritos possível, sendo que as visitas devem ser limitadas ao pessoal essencial;
- **Ar condicionado adjacente aos pavilhões.** Após a contaminação de um bando por *Campylobacter*, o ar dentro e fora dos pavilhões fica contaminado sendo esta contaminação influenciada pelo sistema de ventilação implementado. Assim, a ventilação horizontal é mais vantajosa, pois possibilita uma mais fácil limpeza e desinfecção, do que a ventilação vertical;

Com base na análise realizada ao trabalho realizado pelo Mestre Pedro Padilha.

## Prevenção- avicultura

- **Falta de higiene nas instalações-** a melhoria das condições de higiene quer ao nível das explorações quer no matadouro será crucial para a redução de *Campylobacter* na cadeia alimentar. Assim é importante a implementação de diversas medidas de higiene e de biossegurança.
- **Existência de vários pavilhões na exploração-** As explorações com um maior número de pavilhões, tem uma maior probabilidade de ocorrência de contaminação, devido à contaminação dos bandos entre si, bem como através da contaminação ambiental. Assim, a criação de barreiras higiénicas poderá ser uma estratégia importante na disseminação de *Campylobacter*.

Com base na análise realizada ao trabalho realizado pelo Mestre Pedro Padilha.



## Prevenção- avicultura

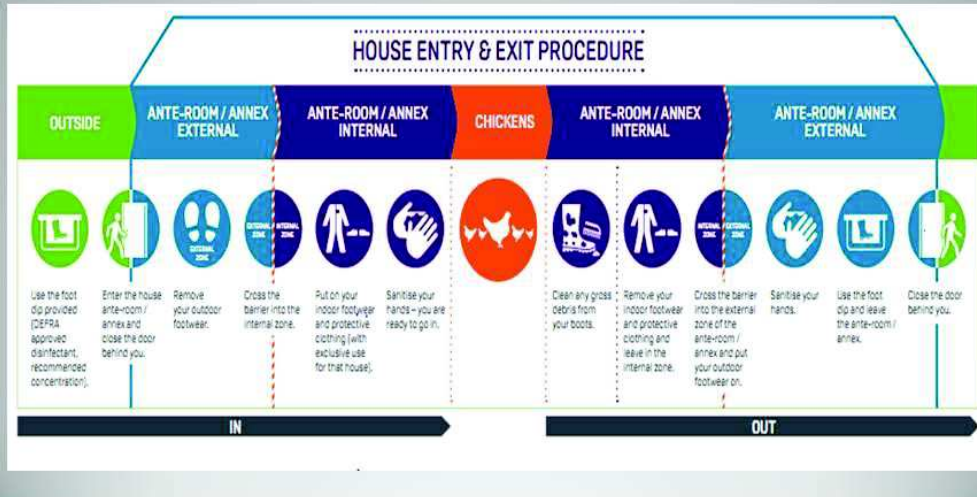


Figura 5 - Medidas de higiene na entrada e saída dos pavilhões. (in *Campylobacter* biosecurity guide, FSA).

## Prevenção na avicultura

- **Idade das aves**-Uma vez que a contaminação do ceco aumenta com a idade das aves, seria importante diminuir a idade das aves a abate sobretudo durante meses de verão, o que levaria a uma diminuição na prevalência de *Campylobacter*;
- **Sexagem das aves**- Deverá ser ponderada a sexagem dos bandos e o seu abate com base no sexo, o que permitirá uma maior uniformização de tamanho das aves no abate, minimizando deste modo a existência de contaminação cruzada no matadouro sobretudo durante a evisceração e depena;

Com base na análise realizada ao trabalho realizado pelo Mestre Pedro Padilha.

## Prevenção na avicultura

- **Apanha das aves-** Uma rápida disseminação de *Campylobacter* numa exploração a partir do instante em que esta é infetada poderá sugerir que os procedimentos de higiene devem ser realizados não só ao entrar no pavilhão mas também à saída. A formação do pessoal assim como o empenho na realização das atividades desempenhadas podem prevenir a disseminação de *Campylobacter* para bandos livres da bactéria.

Com base na análise realizada ao trabalho realizado pelo Mestre Pedro Padilha.

## Prevenção na avicultura

### Transporte

- O veículo de transporte das aves para o abate, as jaulas de transporte, os módulos de transporte e outros materiais podem representar uma potencial fonte de *Campylobacter*.



Com base na análise realizada ao trabalho realizado pelo Mestre Pedro Padilha.

## Prevenção na avicultura

### Transporte

Durante o transporte as aves defecam nas jaulas de transporte, podendo contaminar as aves que se encontram em localizações inferiores, levando ao aumento da contaminação das carcaças por *Campylobacter*. Assim deve-se:

- Lavar e desinfetar os veículos e equipamentos de transporte depois de vazios e antes de serem reutilizados;
- Armazenar as jaulas de transporte de aves por um período de 48 horas entre usos, resulta numa diminuição do número destas bactérias, no entanto esta medida é pouco prática, quer devido aos custos quer devido ao espaço necessário.

## Prevenção na avicultura

Assim, devem ser implementadas medidas para diminuir a contaminação das jaulas, módulos e veículos como:

- Os operadores deverão assegurar que as jaulas, os módulos e os veículos são efetivamente limpos e desinfetados.
- A limpeza deve ser validada através da análise microbiológica periódica e incorporadas no sistema de gestão da segurança alimentar;
- As jaulas e os módulos devem ser feitos de material não sujeito a corrosão, fácil de limpar e desinfetadas;
- As cintas/cordas e as lonas devem ser também convenientemente higienizadas.

Com base na análise realizada ao trabalho realizado pelo Mestre Pedro Padilha.

## Prevenção na avicultura

### Pragas:

- **Presença de roedores na exploração.** Deve proceder-se à colocação de cercas e redes de proteção para impossibilitar a entrada de roedores nos pavilhões. Deve existir também, um plano de desratização devidamente implementado na exploração com a colocação de iscos em zonas chaves no exterior dos pavilhões;
- **Presença de outros animais** (ex: cães, gatos, etc), deve ser diminuída, pois as fezes destes animais podem constituir uma fonte de contaminação direta;
- **Água contaminada**- é necessário haver um tratamento da água recorrente.

Com base na análise realizada ao trabalho realizado pelo Mestre Pedro Padilha.

## Prevenção na avicultura

### Equipamento:

- O equipamento utilizado na exploração deve ser construído com materiais resistentes e de fácil higienização e desinfecção. Todos os equipamentos partilhados entre pavilhões, devem ser cuidadosamente limpos e desinfetados antes de serem utilizados.



## Prevenção na avicultura

**Matadouro-** A contaminação e disseminação de *Campylobacter* ao nível do matadouro é fortemente influenciada por todas as etapas que o antecedem, no entanto existem diversos pontos críticos durante o processo de abate.

Num estudo que avaliou a prevalência de *Campylobacter* spp. em carcaças durante o seu processamento, observaram que após o processo de **escaldão** com a água a uma temperatura média de 53 °C, a prevalência de *Campylobacter* na superfície da carcaça foi considerada elevada, não havendo reduções significativas das concentrações iniciais.

## Prevenção na avicultura

### Matadouro- Descontaminação da carcaça

Inúmeras tecnologias de descontaminação foram encontradas, para reduzir a contaminação microbiana das carcaças, entre as quais:



## Prevenção na avicultura

- Uma **gestão adequada** do local reduz o risco de contaminação por *Campylobacter*.



## Prevenção na avicultura

### Remoção de *Campylobacter* por higiene química

- Nos EUA, é realizada a pulverização ou imersão das carcaças com solução de higiene química em matadouros para reduzir a contaminação bacteriana.
- Os químicos utilizados são o ácido láctico, o ácido peracético, dióxido de cloro e cloreto de sódio acidificado.
- Atualmente, na UE, não é permitido a utilização de nenhum tipo de higiene química na descontaminação da carcaça.
- Segundo o Regulamento nº 853/2004, os operadores das empresas do sector alimentar não podem utilizar nenhuma substância além da água potável para removerem qualquer eventual contaminação das superfícies dos produtos de origem animal, exceto se a utilização dessa substância tiver sido aprovada pela Comissão Europeia.

## Prevenção na avicultura

### Remoção de *Campylobacter* por higiene química

- Recentemente a Comissão Europeia propôs para aprovação o uso do controverso banho de ácido peroxiacético, dos frangos nos matadouros, para controlar as infeções por *Campylobacter* provenientes dos frangos.
- A proposta foi apresentada no Standing Committee e aos eurodeputados, no dia 15 de Setembro, faz parte de um pacote de três medidas para controlar aquela infeção, entre as quais:

## Prevenção na avicultura

### Remoção de *Campylobacter* por higiene química

- 1- Limpar, parar a cadeia de abate e verificar de onde provém a contaminação;
- 2- Obrigatoriedade dos Estados Membros em colherem amostras e verificar se são compatíveis com os níveis de higiene apresentados pelos matadouros;
- 3- Possibilidade de uso do ácido peroxiacético para a descontaminação das carcaças.

Mas esta situação não se tem mostrado nada pacífica. Este método de desinfecção de carcaças no matadouro tem sido altamente polémico, sobretudo em países como a Alemanha, que tem sido um obstáculo às negociações com os EUA, país onde o método é correntemente utilizado.

## Prevenção na avicultura

- Para que o processo de controlo de *Campylobacter* seja conseguido com sucesso, foi desenvolvida uma *check list* no âmbito do projeto "Campylobacter control- Novel approaches in primary poultry production" (CamCon), com diversos parâmetros de certificação com o intuito de proporcionar aos produtores e matadouros aviários, uma auditoria interna e independente para fiscalizar as medidas implementadas para garantir uma produção de frango com qualidade e de forma a reduzir a contaminação por *Campylobacter*.
- *Check list* presente no Manual de Formação.

## Prevenção - consumidor

Segundo a OMS o consumidor deve:

- Manter a cozinha limpa, bem como os equipamentos/utensílios;
- Separar alimentos crus de cozinhados;
- Cozinhar bem os alimentos;
- Manter os alimentos a temperaturas seguras;
- Usar água potável;
- Usar matérias-primas seguras.



## Prevenção- consumidor

Em relação ao uso de carne de aves o consumidor deve:

- Cozinhar bem a carne de aves;
- Nunca lavar a carne de aves antes de cozinhar;
- Após o manuseamento de carne fresca de aves lavar convenientemente as mãos;
- Utilizar tábuas de corte específicas para alimentos de origem animal.



## Prevenção- consumidor

O consumidor deve:

- Lavar todos os utensílios e superfícies utilizados na preparação dos alimentos;
- Após contato com fezes animais lavar as mãos;
- Beber apenas água potável;
- Beber apenas leite pasteurizado.







## ***Campylobacter***

Realizado por: Rita Aguiar Nogueira

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Paula Teixeira

Porto, 2016

## **Anexo 2**





# Manual de Formação

## *Campylobacter*



Realizado por: Rita Aguiar Nogueira

Orientadora: Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Paula Teixeira

Porto, Abril de 2016

### **Slide 1- Capa**

### **Slide 2- Vídeo sobre *Campylobacter* no Reino Unido**

### **Slide 3- Caracterização de *Campylobacter***

As bactérias pertencentes ao gênero *Campylobacter* spp. são bacilos Gram-negativo não formadoras de esporos, encurvadas ou em forma de S, cujo tamanho varia entre 0,2 a 0,5 µm de diâmetro e 0,5 a 5,0 µm de comprimento.

### **Slide 4 – Condições de crescimento**

A temperatura ótima de crescimento varia entre os 35 e os 40°C, não crescendo em ambientes com temperaturas inferiores a 32°C, sendo no geral bactérias de crescimento lento. O pH ótimo para o desenvolvimento do gênero *Campylobacter* situa-se entre 5,8 e 8,0 ficando inativos a pH inferior a 4,9 [1].

A maioria das espécies de *Campylobacter* são microaerofílicas (necessitam de uma atmosfera contendo 3 a 15% de oxigênio), com um metabolismo do tipo respiratório, oxidase positivo.

Embora uma concentração de O<sub>2</sub> mais elevada no meio de cultura possa permitir o crescimento de algumas estirpes de *Campylobacter* spp., concentrações acima dos 21% são consideradas prejudiciais para o crescimento desta bactéria.

As concentrações de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) podem variar entre 3 e 5%, enquanto que as concentrações em azoto podem atingir os 85% em relação ao crescimento ótimo destas bactérias [2].

### **Slide 5- Caracterização de *Campylobacter***

Segundo a 2ª edição do Manual de Bergey de Bacteriologia Sistemática [3] , o gênero *Campylobacter* pertence ao Reino Bacteria, Filo Proteobacteria, Classe Epsilonproteobacteria, Ordem Campylobacterales, Família *Campylobacteriaceae* [4], englobando as seguintes espécies (três delas com subdivisão a nível de subespécie):

*Campylobacter fetus* (espécie-tipo)

*Campylobacter fetus* subsp. *fetus*

*Campylobacter fetus* subsp. *fetus venerealis*

*Campylobacter coli*

*Campylobacter concisus*

*Campylobacter curvus*

*Campylobacter gracilis*

*Campylobacter helveticus*

*Campylobacter hominis*

*Campylobacter hyointestinalis*

*Campylobacter hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*

*Campylobacter hyointestinalis* subsp. *lawsonii*

*Campylobacter jejuni*

*Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*

*Campylobacter jejuni* subsp. *doytei*

*Campylobacter lanienae*

*Campylobacter lari*

*Campylobacter mucosalis*

*Campylobacter rectus*

*Campylobacter showae*

*Campylobacter sputorum*

*Campylobacter upsaliensis*

### **Slide 6/7- Caracterização de *Campylobacter***

Das espécies e subespécies identificadas, as mais importantes são as que pertencem ao grupo das termófilas, nomeadamente *C. jejuni*, *C. coli* e *C. lari*. De salientar que *C. jejuni* e *C. coli* constituem as espécies que são, com maior frequência, isoladas em casos de gastroenterites em humanos e animais [5].

### **Slide 8- *Campylobacter***

Nos últimos anos tem-se reconhecido *Campylobacter* spp. como um microrganismo emergente de origem alimentar, que se encontra amplamente distribuído no ambiente [6].

*Campylobacter* spp. encontra-se na natureza, sendo o principal reservatório o trato gastrointestinal de aves, bovinos, suínos, ovinos, canídeos e felinos, bem como animais selvagens [7].

As zoonoses são doenças infecciosas transmitidas direta ou indiretamente dos animais ao ser humano e vice-versa, sendo a principal via o consumo de alimentos de origem animal contaminados. A campilobacteriose surge como a mais comum zoonose bacteriana, com origem alimentar em diversos países desenvolvidos [7].

O custo para os sistemas de saúde, por campilobacteriose na UE, é estimado pela EFSA como sendo cerca de 2.4 mil milhões de euros/ano [7].

### **Slide 9- Figura 1: Fontes de contaminação de *Campylobacter***

*Campylobacter* spp. encontra-se disseminado pela natureza, estando presente em diferentes organismos e ambientes, sendo o seu principal reservatório, o trato gastrointestinal de animais selvagens e domésticos. De facto, *Campylobacter* spp. é frequentemente encontrado em animais cuja a sua carne é consumida pelo Homem, como aves, bovinos, ovinos e suínos; em animais domésticos, como cães e gatos, mas também em animais selvagens como aves e mamíferos [8].

A figura demonstra que a campilobacteriose pode ser contraída pelo ser humano tanto pelo contacto direto com animais infetados ou carcaças de animais contaminados, como através da ingestão de géneros alimentícios ou água contaminados.

### **Slide 10- Número de casos relatados de *Campylobacter***

De acordo com o último relatório dos estados membros da União Europeia (European Food Safety Authority [EFSA]), *Campylobacter* continua a ser o agente patogénico gastrointestinal com o maior número de casos, havendo 214,779 de casos relatados em 2013 [9].

No entanto, a incidência de *Campylobacter* não é conhecida, uma vez que existem países como Portugal que não apresentam um sistema de vigilância para esta zoonose ativo. Assim, estima-se que a verdadeira incidência seja 8 a 100 vezes superior ao número de casos que são reportados na União Europeia (UE) [6].

### **Slide 11- Figura 2- Taxa de notificação de zoonoses confirmados em humanos na UE.**

Nos países industrializados a campilobacteriose é considerada a causa mais frequente de gastroenterite aguda no ser humano, ultrapassando mesmo as infecções causadas por *Salmonella* e *Listeria* [10].

### **Slide 12- Campilobacteriose em Humanos**

Os sinais clínicos geralmente associados a infecção por *Campylobacter* spp., em humanos, incluem dor abdominal, febre, náuseas, e diarreia. A dor abdominal e a febre precedem geralmente à diarreia. Apesar da diarreia ser severa, a desidratação poderá ser a única consequência da infecção em indivíduos sem alterações no funcionamento do sistema imunitário. O período de incubação varia entre 2 a 7 dias após a ingestão de água ou alimentos contaminados e a doença geralmente dura 7 a 10 dias. Passada a fase aguda, mesmo na ausência de sinais clínicos, *Campylobacter* spp. continua a ser excretado nas fezes durante diversas semanas [11].

A doença em pessoas muito jovens e idosos pode ser grave e deixar sequelas, bem como por vezes a associação com o aparecimento de casos de artrite reativa e de síndrome de Guillain-Barré (doença autoimune que se manifesta por uma polineuropatia inflamatória aguda progressiva caracterizada por debilidade muscular que, por vezes, conduz à paralisia) pode levar à necessidade de hospitalização [12].

Embora rara, a morte também pode ser uma das consequências da campilobacteriose; pode acontecer quando há generalização infecção em indivíduos imunocomprometidos ou em indivíduos muito jovens ou idosos. As mortes por infecções associadas a *Campylobacter* spp. rondam os 0,05 casos por cada 1000 infecções [12].

### **Slide 13- Figura 3: Distribuição de meios alimentares com forte evidência de surtos causados por *Campylobacter* na UE, em 2012**

A figura mostra a distribuição alimentos mais comuns associados a surtos de campilobacteriose com maior evidência em 2012. Tal como em anos anteriores, a carne de frango foi o alimento mais frequentemente identificado, associado a 44,0% desses surtos. Para além da carne de frango, o alimento mais comumente implicado foi o leite cru com 20,0%, com um aumento em comparação com 2011, quando apenas 13,5% dos surtos eram devido a este alimento [6].

#### **Slide 14 – Qual a sua importância na avicultura?**

- A carne de frango e produtos derivados são o principal veículo de transmissão de *Campylobacter* a humanos;
- As aves são considerados potenciais hospedeiros de *Campylobacter* que, por via fecal, acaba por contaminar o ambiente, nomeadamente o solo, a água, as pastagens, entre outros;
- A prevalência do número de aves infetadas varia conforme a época do ano, havendo um pico no verão e uma diminuição nos meses de inverno.

#### **Slide 15/16/17- Qual a sua importância na avicultura? Figura 4: Tendência dos casos notificados confirmados de campilobacteriose em humanos na União Europeia, entre 2009-2013.**

Entre 2009 e 2013, houve uma tendência sazonal clara em casos confirmados de campilobacteriose comunicados na UE, com picos nos meses de verão.

Nos países industrializados verificam-se picos epidémicos nos meses de verão, ao contrário dos países em desenvolvimento, onde não se verifica preferência sazonal.

O carácter sazonal observado no aumento do número de casos confirmados de campilobacteriose, segundo alguns autores, pode ser devido às moscas atuarem como vetor de transmissão mecânico ou biológico, no entanto, esta teoria carece de estudos confirmatórios.

Um estudo realizado na Dinamarca, demonstrou que, quando a temperatura aumenta, existe um aumento correspondente na incidência de campilobacteriose humana, assim como a percentagem de bandos de frangos infetados no momento do abate. [13]

Outro estudo realizado na Grã Bretanha, demonstrou que os fatores climáticos, como o número de horas expostos ao sol e a combinação de temperatura no momento do abate, aumentaram 46% a prevalência de bandos colonizados por *Campylobacter* [14].

#### **Slide 18- Colonização das aves**

A colonização das aves ocorre por várias fontes, como água, ração, contacto com outras espécies de animais e fezes de outras aves ou animais presentes no aviário. *Campylobacter* spp. geralmente coloniza o trato gastrointestinal de aves sem causar qualquer alteração patológica. A presença do agente patogénico é restrita à mucosa intestinal, que é um local que

favorece o seu crescimento, porque a sua temperatura ótima de crescimento de 42°C coincide com a temperatura do intestino das aves, que difere da temperatura encontrada em mamíferos de 37°C [15].

#### **Slide 19- Qual a sua importância na avicultura?**

Para prevenir e controlar a infecção de aves por *Campylobacter* aos níveis da exploração, do transporte e do abate é necessário realizar intervenções direcionadas para um correto processamento da carne. Estas intervenções são importantes para uma redução substancial da incidência de campilobacteriose no ser humano.

#### **Slide 20- Estudo sobre a ocorrência de *Campylobacter* em Portugal**

Num estudo realizado em Portugal em 2008, as amostras recolhidas num matadouro de aves revelaram que:

- **86 a 100%** dos bandos de aves avaliados estavam contaminados com *C. jejuni* e *C. coli*.
- Nas carcaças de frango de diferentes sistemas produtivos (biológico, extensivo e intensivo) a frequência de *C. jejuni* e *C. coli* situou-se entre os **80** e os **86%**.
- Após desmancha a maioria (**93%**) dos peitos apresentaram *Campylobacter* spp. (positivo em 25g amostra), sendo a espécie *C. jejuni* a predominante (**56%**) [15].

#### **Slide 21- Estudo FSA sobre a prevalência de contaminação por *Campylobacter* em frangos**

Num estudo realizado pela FSA, entre Fevereiro de 2014 e Fevereiro de 2015 em Inglaterra, cujo objetivo era avaliar a prevalência de contaminação por *Campylobacter* em frangos inteiros frescos, refrigerados e as embalagens, os resultados foram:

- 19% dos frangos testados deram resultado positivo para *Campylobacter* entre a maior banda de contaminação(\*);
- 73% dos frangos testados foram positivos para a presença de *Campylobacter*;
- 7% das embalagens testadas deram positivo para a presença de *Campylobacter*.

Mais de 4.000 amostras de frangos inteiros frescos refrigerados e embalagem foram testados. Os frangos foram comprados de grandes lojas de retalho no Reino Unido e lojas independentes menores. Os dados mostram variações entre os retalhistas, mas nenhum atingiu a meta de redução de *Campylobacter* [15].

(\*mais de 1000 Unidades Formadoras de Colónias por grama ( $> 1.000$  UFC / g) . Este valor indica o grau de contaminação em cada amostra)

#### Slide 22- Pesquisa de *Campylobacter* no aviário

No âmbito do trabalho do Mestre Pedro Padilha foram colhidas várias amostras para pesquisa de *Campylobacter* spp. Como observado na Tabela 3, não foi detetado *Campylobacter* em nenhuma das amostras analisadas.

Tabela 3 - Detecção de *Campylobacter* spp. em diferentes amostras.

<b>Data</b>	<b>Amostra</b>	<b>Local da colheita</b>	<b>Recolha de amostras efetuada por:</b>	<b>Resultado</b>
6/1/2015	Fezes	Pavilhão 170	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Fezes	Pavilhão 1B	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Fezes	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 170	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Linhas de água	Pavilhão 170	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 1B	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Linhas de água	Pavilhão 1B	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Linha de água	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
6/1/2015	Depenadora	Pavilhão 170	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Evisceradora	Pavilhão 170	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Ceco	Pavilhão 170	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Depenadora	Pavilhão 1B	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Evisceradora	Pavilhão 1B	Ermelinda Paixão	Negativo



6/1/2015	Ceco	Pavilhão 1B	Ermelinda Paixão	Negativo
6/1/2015	Frango Lote: 024317	Pavilhão 1B	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Frango Lote: 025413	Pavilhão 173 + 175	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Ceco	Pavilhão 173	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Depenadora	Pavilhão 173	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Evisceradora	Pavilhão 173	Ermelinda Paixão	Negativo
7/1/2015	Linha de água	Pavilhão 173	Pedro Padilha	Negativo
7/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 173	Pedro Padilha	Negativo
7/1/2015	Fezes	Pavilhão 173	Pedro Padilha	Negativo
7/1/2015	Fezes	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Linha de água	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 1	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Fezes	Pavilhão 3	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Linha de água	Pavilhão 3	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Antecâmara	Pavilhão 3	Pedro Padilha	Negativo
12/1/2015	Ceco	Pavilhão P1A L033209	Ermelinda Paixão	Negativo
12/1/2015	Frango	Pavilhão P1A L033209	Ermelinda Paixão	Negativo
12/1/2015	Evisceradora	Pavilhão P1A L033209	Ermelinda Paixão	Negativo
12/1/2015	Depenadora	Pavilhão P1A L033209	Ermelinda Paixão	Negativo
12/1/2015	Ceco	Pavilhão P3A L033210	Ermelinda Paixão	Negativo
12/1/2015	Frango	Pavilhão P3A L033210	Ermelinda Paixão	Negativo

Dado este não ser um resultado expectável tendo em consideração a elevada prevalência de *Campylobacter* relatada na literatura científica, foi recomendada uma nova colheita de amostras para análise.

Assim, no decurso deste trabalho, foi solicitado pela Lusiaves a pesquisa de *Campylobacter* spp. em diferentes amostras. Estas análises foram realizadas pelo Centro de Inovação e Apoio Empresarial (CINAT) da Escola Superior de Biotecnologia, sendo que a colheita de amostras foi da responsabilidade da Lusiaves.

**Slide 23/24/25- Resultados obtidos da pesquisa de *Campylobacter***

Tabela 6 - Detecção de *Campylobacter* spp. em diferentes amostras realizadas pela Lusiaves.

<b>Data de Receção</b>	<b>Amostras</b>	<b>Relatório de Ensaio</b>	<b>Resultados</b>
30/09/2015	Fezes	201506692	Positivo em 10 g
30/09/2015	Fezes	201506693	Negativo em 10 g
30/09/2015	Fezes	201506694	Negativo em 10g
30/09/2015	Fezes	201506695	Negativo em 10 g
30/09/2015	Fezes	201506696	Negativo em 10g
30/09/2015	Cecos	201506697	Negativo em 10g
30/09/2015	Cecos	201506698	Negativo em 10g
30/09/2015	Cecos	201506699	Negativo em 10 g
30/09/2015	Cecos	201506700	Negativo em 10 g
30/09/2015	Cecos	201506701	Positivo em 10 g
30/09/2015	Água Escaldão (Início 29/09-23h)	201506702	Negativo em 100 ml
30/09/2015	Água Escaldão (após 4h)	201506703	Positivo em 100 ml
30/09/2015	Água Escaldão (após 8h)	201506704	Positivo em 100 ml
30/09/2015	Frango perninha + coxa + asa-1	201506705	Negativo em 25 g
30/09/2015	Frango 2 asas + peito-2	201506706	Negativo em 25 g
30/09/2015	Frango perninha + peito- 3	201506707	Negativo em 25 g
30/09/2015	Frango perna + asa- 4	201506708	Positivo em 25 g
30/09/2015	Frango perna + peito-5	201506709	Negativo em 25 g

Na sequência destas análises, *Campylobacter* spp. foi detetado em 20% das amostras de fezes, de seco e de produto final.

Com base nestes resultados, ressaltando aqui o reduzido número de amostras (20% corresponde a uma amostra positiva num total de cinco amostras), foi demonstrada a colonização intestinal de aves (amostras de ceco e de fezes positiva) e a contaminação cruzada do produto final (amostra composta de perna de frango e asa) no ambiente de processamento. Dado o elevado número de aves processadas, é elevada a possibilidade de contaminação cruzada durante o processo de evisceração mecânica.

Quanto aos resultados obtidos para as amostras de fezes e de cecos, não pode ser excluída a hipótese de alguns destes resultados poderem ser “falsos negativos”. É reconhecida a dificuldade no isolamento de colónias suspeitas de *Campylobacter* para confirmação neste tipo de amostras dada a diversidade, elevado número e complexidade da sua microbiota.

No que se refere às amostras de água de escaldão, mais uma vez ressaltando o reduzido número de amostras analisadas, os resultados evidenciam que os processos de higienização dos tanques e de tratamento da água serão eficazes na destruição de *Campylobacter* spp. uma vez que este agente não foi detetado na amostra colhida no início do processo. Contudo, esta etapa assume-se como crítica na disseminação do agente após o abate uma vez que *Campylobacter* spp. foi detetado nas amostras de água de escaldão colhidas posteriormente (4 e 8 horas após o início do processo).

Assumindo que, à luz do conhecimento atual, será difícil evitar a entrada de aves portadoras de *Campylobacter* spp., caberá à Lusiaves implementar medidas que, por um lado, reduzam a contaminação das carcaças durante o processo de evisceração e, por outro, previnam as contaminações cruzadas durante as etapas seguintes e reduzam a contaminação no produto final.

### **Slide 26: Como prevenir?**

Medidas de Biossegurança podem impedir a introdução de *Campylobacter* na cadeia de produção.

Entende-se por biossegurança a soma das medidas preventivas globais instauradas na exploração agrícola e no meio ambiente, a fim de impedir a entrada acidental de *Campylobacter* em bandos de aves de capoeira criadas em casas de confinamento.

Estas práticas e procedimentos visam prevenir ou bloquear todas as vias de transmissão de *Campylobacter* em matadouros.

### **Slide 27/28- Prevenção avicultura**

É necessário que existam medidas de prevenção e de redução dos potenciais pontos críticos de contaminação por *Campylobacter*, entre os quais:

#### **-Instalações:**

- **Presenças nos pavilhões** - O perímetro das instalações deve estar devidamente limitado e os pontos de acesso devem ser o mais restritos possível, sendo que as visitas devem ser limitadas ao pessoal essencial;
- **Ar condicionado adjacente aos pavilhões.** Após a contaminação de um bando por *Campylobacter*, o ar dentro e fora dos pavilhões fica contaminado sendo esta contaminação influenciada pelo sistema de ventilação implementado. Assim, a ventilação horizontal é mais vantajosa, pois possibilita uma mais fácil limpeza e desinfecção, do que a ventilação vertical
- **Falta de higiene nas instalações-** a melhoria das condições de higiene quer ao nível das explorações quer no matadouro será crucial para a redução de *Campylobacter* na cadeia alimentar. Assim é importante a implementação de diversas medidas de higiene e de biossegurança.
- **Existência de vários pavilhões na exploração-** As explorações com um maior número de pavilhões, têm uma maior probabilidade de ocorrência de contaminação, devido à contaminação dos bandos entre si, bem como através da contaminação ambiental. Assim, a criação de barreiras higiénicas poderá ser uma estratégia importante para diminuir a disseminação de *Campylobacter*.

### **Slide 29- Figura 5 - Medidas de higiene na entrada e saída dos pavilhões.**

Medidas adequadas de biossegurança são extremamente importantes para prevenir a introdução de um grande número de microrganismos nos aviários. O projeto das instalações, assim como as práticas de gestão devem ser planeadas, de modo a facilitar a implementação destas medidas [16].

As explorações com um grande número de pavilhões, tem uma maior probabilidade de ocorrência de infeção por *Campylobacter*, mesmo quando é implementado o sistema “*all-in all-out*” (“tudo dentro, tudo fora”) [17].

O perímetro das instalações deve estar bem identificado e, preferencialmente, bem vedado. O acesso às instalações deve ser controlado e, por conseguinte, apenas autorizado em pontos de entrada específicos, claramente identificados e limitados o mais possível a profissionais familiarizados com as medidas de biossegurança. Fatores como o elevado número de visitas diárias à exploração, de trabalhadores na exploração encarregues de determinado pavilhão manipularem outros animais na exploração, aumentam o risco de infeção dos bandos [18].

Apesar da existência de uma diversidade de barreiras higiénicas na entrada dos bandos de aves, o seu objetivo deverá ser sempre criar uma delimitação clara entre a zona suja e a zona limpa, por exemplo, por utilização de uma barreira física ou de uma linha pintada no chão do pavilhão. As barreiras higiénicas também devem assegurar a mudança de roupa ou colocação de vestuário de proteção, assim como a troca de botas e lavagem de mãos [19].

Recomenda-se que as instalações estejam equipadas, à entrada, com um vestiário limpo, onde o pessoal e os visitantes possam calçar botas e vestir um fato-macaco, disponibilizados pela exploração. As mãos devem ser preferencialmente lavadas, secas e desinfetadas entre pavilhões. Em caso do visitante usar as unhas pintadas deve calçar luvas [20].

### **Slide 30/31/32/33/34/35/36- Prevenção na avicultura**

**-Idade das aves-** Uma vez que a contaminação do ceco aumenta com a idade das aves, seria importante diminuir a idade das aves a abate sobretudo durante meses de verão, o que levaria a uma diminuição na prevalência de *Campylobacter*;

**-Sexagem das aves-** Deverá ser ponderada a sexagem dos bandos e o seu abate com base no sexo, o que permitirá uma maior uniformização de tamanho das aves no abate, minimizando deste modo a existência de contaminação cruzada no matadouro sobretudo durante a evisceração e depena;

**-Apanha das aves-** Uma rápida disseminação de *Campylobacter* numa exploração a partir do instante em que esta é infetada poderá sugerir que os procedimentos de higiene devem ser realizados não só ao entrar no pavilhão mas também à saída. A formação do pessoal assim

como o empenho na realização das atividades desempenhadas podem prevenir a disseminação de *Campylobacter* para bandos livres da bactéria.

**-Transporte-**O veículo de transporte das aves para o abate, as jaulas de transporte, os módulos de transporte e outros materiais podem representar uma potencial fonte de *Campylobacter*.

Durante o transporte as aves defecam nas jaulas de transporte, podendo contaminar as aves que se encontram em localizações inferiores, levando ao aumento da contaminação das carcaças por *Campylobacter*. Assim deve-se:

- Lavar e desinfetar os veículos e equipamentos de transporte depois de vazios e antes de serem reutilizados;
- Armazenar as jaulas de transporte de aves por um período de 48 horas entre usos, resulta numa diminuição do número destas bactérias, no entanto esta medida é pouco prática, quer devido aos custos quer devido ao espaço necessário.

É importante serem implementadas medidas para haver uma diminuição da contaminação por *Campylobacter* nas jaulas, módulos e veículos, entre as quais:

- -Os operadores deverão assegurar que as jaulas, os módulos e os veículos são efetivamente limpos e desinfetados.
- A limpeza deve ser validada através da análise microbiológica periódica e incorporadas no sistema de gestão da segurança alimentar;
- As jaulas e os módulos devem ser feitos de material não sujeito a corrosão, fácil de limpar e desinfetadas;
- As cintas/cordas e as lonas devem ser também convenientemente higienizadas.

**-Pragas:**

- **Presença de roedores na exploração.** Deve proceder-se à colocação de cercas e redes de proteção para impossibilitar a entrada de roedores nos pavilhões. Deve existir também, um plano de desratização devidamente implementado na exploração com a colocação de iscos em zonas chaves no exterior dos pavilhões;

- **Presença de outros animais** (ex: cães, gatos, etc), deve ser diminuída, pois as fezes destes animais podem constituir uma fonte de contaminação direta;
- **Água contaminada**- é necessário haver um tratamento da água corrente.

**Equipamento:** O equipamento utilizado na exploração deve ser construído com materiais resistentes e de fácil higienização e desinfecção. Todos os equipamentos partilhados entre pavilhões, devem ser cuidadosamente limpos e desinfetados antes de serem utilizados.

### **Slide 37- Prevenção na avicultura**

**Matadouro:** A contaminação e disseminação de *Campylobacter* ao nível do matadouro é fortemente influenciada por todas as etapas que o antecedem, no entanto existem diversos pontos críticos durante o processo de abate.

Num estudo que avaliou a prevalência de *Campylobacter* spp. em carcaças durante o seu processamento, observaram que após o processo de **escaldão** com a água a uma temperatura média de 53 °C, a prevalência de *Campylobacter* na superfície da carcaça foi considerada elevada, não havendo reduções significativas das concentrações iniciais.

### **Slide 38- Prevenção na avicultura- Matadouro- descontaminação da carcaça**

Inúmeras tecnologias de descontaminação foram encontradas, para reduzir a contaminação microbiana das carcaças, entre as quais:

- **Descontaminação física**

Diversas tecnologias físicas tem vindo a ser usadas ou estão ainda a ser desenvolvidas com o objetivo de reduzir e/ou controlar a contaminação microbiana.

- **Água quente**

Lavar com água é frequentemente usado nos aviários e está comprovado ser eficaz na remoção de contaminantes físicos como terra, penas, fezes e outros detritos. O tratamento da carcaça com água quente (55 a 60° C), através da lavagem, após a evisceração e antes da refrigeração, reduz a contaminação de *Campylobacter*.

- Vapor

Uma alternativa ao tratamento com água quente, é a aplicação de vapor. A principal vantagem da utilização de vapor é que o vapor a 100° C tem uma capacidade de calor melhor do que a mesma quantidade de água a essa temperatura e, portanto, é capaz de penetrar cavidades, fendas e folículos das penas. Foi provado, que tratamentos a vapor até 20 segundos, à pressão atmosférica, reduzem *C. jejuni*, tendo como desvantagem a hipótese de ser danificado a aparência das carcaças.

- Congelação

O congelamento e o posterior armazenamento em temperaturas negativas, irá reduzir a prevalência de *Campylobacter* em carnes de aves. O congelamento a -20° C, reduz o número de *Campylobacter* na carcaça de frangos em cerca de 1 log<sub>10</sub>.

Num estudo realizado na Dinamarca, a congelação da carne de bandos positivos de *Campylobacter* foi implementado como uma intervenção para a diminuição desta bactéria, em conjunto com outras estratégias de intervenção, tais como a segurança biológica e a educação dos consumidores. Assim, observou-se uma diminuição de 20% na prevalência de *Campylobacter* em carne de frango.

- **Descontaminação química**

O tratamento por descontaminação química, envolve a aplicação de uma substância química durante o processo de abate. Algumas substâncias utilizadas na descontaminação química das carcaças, têm sido extensivamente estudadas, entre as quais:

-Ácido láctico;

-Cloro;

-Cloreto de sódio acidificado

-Polifosfatos;

-Ácido peroxiacético

Atualmente, na UE, não é permitido a utilização de nenhum tipo de higiene química na descontaminação da carcaça.



- **Descontaminação biológica**

As bacteriocinas são toxinas proteicas produzidas por bactérias que inibem o crescimento de estirpes bacterianas similares. Atualmente conhecem-se quatro bacteriocinas com capacidade comprovada para reduzir a colonização de *Campylobacter* em aves, entre as quais: SRCAM 602 produzida por *Paenibacillus polymyxa* NRRL. -30509, OR-7 produzida por *Lactobacillus salivarius*, e E-760 e E 50-52 produzidas por *Enterococcus* spp.[21].

Vários estudos demonstraram que quando as bacteriocinas são administradas pouco antes do abate, podem reduzir *Campylobacter* no ceco dos frangos para níveis indetetáveis. No entanto, a validação da utilização das bacteriocinas em campo ainda não foi realizada, levando a que as estimativas atuais sejam baseadas em estudos experimentais com algumas limitações. Assim, é necessário que se façam ensaios em grande escala para determinar a praticabilidade do tratamento com bacteriocinas [21].

Os bacterió(fagos) são predadores naturais das bactérias, estão presentes no ambiente e apresentam especificidade elevada para o hospedeiro e capacidade para evoluir superando a resistência bacteriana. Estas características tornam os fagos uma opção bastante atrativa no controlo de bactérias patogénicas, como *Campylobacter* [22].

Para o controlo de *Campylobacter*, os bacteriófagos são normalmente propostos como terapêuticos para as aves nos aviários, sendo que tal estratégia deve ser realizada dois a três dias antes do abate dos bandos. A atividade lítica dos bacteriófagos pode ser usada para matar esta bactéria [21].

Atualmente não existe nenhuma regulamentação específica a nível Europeu sobre a utilização de fagos na produção primária, sendo que podem ser considerados aditivos alimentares ou uma droga veterinária [21]. A utilização dos fagos como terapêuticos é atraente por permitir eliminar bactérias suscetíveis e não causar danos na microbiota intestinal dos frangos. Assim, foi realizado um estudo onde fagos ativos contra *Campylobacter* foram administrados oralmente numa suspensão com antiácido a frangos com 25 dias de idade, que tinham sido inoculadas com *C. jejuni* aos 18 a 20 dias de idade. 24 horas após o tratamento, o isolamento de *Campylobacter* viável foi reduzido em amostras intestinais, mas a contagem de *Campylobacter* começou a aumentar 72 horas após a administração do fago [22].

### **Slide 39- Prevenção na avicultura**

Um período de descanso para remoção de aves mortas, remoção de fezes, limpeza geral, desinfecção e secagem do aviário deve ocorrer a seguir ao período de produção. É importante que o aviário tenha tempo suficiente para secar antes de a nova cama ser colocada.

### **Slide 40/41/42- Prevenção na avicultura- Remoção de *Campylobacter* por higiene química**

- Nos EUA, é realizada a pulverização ou imersão das carcaças com solução de higiene química em matadouros para reduzir a contaminação bacteriana.
- Os químicos utilizados são o ácido láctico, o ácido peracético, dióxido de cloro e cloreto de sódio acidificado.
- Atualmente, na UE, não é permitido a utilização de nenhum tipo de higiene química na descontaminação da carcaça.
- Segundo o Regulamento nº 853/2004, os operadores das empresas do sector alimentar não podem utilizar nenhuma substância além da água potável para removerem qualquer eventual contaminação das superfícies dos produtos de origem animal, exceto se a utilização dessa substância tiver sido aprovada pela Comissão Europeia.
- Recentemente a Comissão Europeia propôs para aprovação o uso do controverso banho de ácido peroxiacético, dos frangos nos matadouros, para controlar as infeções por *Campylobacter* provenientes dos frangos.
- A proposta foi apresentada no Standing Committee e aos eurodeputados, no dia 15 de Setembro, faz parte de um pacote de três medidas para controlar aquela infeção, entre as quais:
  - 1- Limpar, parar a cadeia de abate e verificar de onde provém a contaminação;
  - 2- Obrigatoriedade dos Estados Membros em colherem amostras e verificar se são compatíveis com os níveis de higiene apresentados pelos matadouros;
  - 3- Possibilidade de uso do ácido peroxiacético para a descontaminação das carcaças.

Mas esta situação não se tem mostrado nada pacífica. Este método de desinfecção de carcaças no matadouro tem sido altamente polémico, sobretudo em países como a Alemanha,

que tem sido um obstáculo às negociações com os EUA, país onde o método é correntemente utilizado.

### Slide 43-Prevenção na avicultura

Para que o processo de controlo de *Campylobacter* seja conseguido com sucesso, foi desenvolvida uma *check list* no âmbito do projeto “*Campylobacter control- Novel approaches in primary poultry production*” (*CamCon*), com diversos parâmetros de certificação com o intuito de proporcionar aos produtores e matadouros aviários, uma auditoria interna e independente para fiscalizar as medidas implementadas para garantir uma produção de frango com qualidade e de forma a reduzir a contaminação por *Campylobacter* [23].

#### *Check list* – Parâmetros de certificação

<b>No aviário</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
O local onde está o aviário é cercado?		
Os exteriores dos pavilhões estão limpos e arrumados, e sem vegetação?		
A produção de frangos é a única produção no local?		
Outra produção animal está ausente das imediações do aviário?		
Animais como cães e gatos são excluídos das redondezas do aviário?		

<b>Gestão do aviário</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
A produção é gerida segundo o princípio do sistema "todos dentro todos fora" ( <i>all-in all-out</i> )?		
O desbaste dos frangos é evitado?		
Nos pavilhões, durante o período de pausa, é realizada uma limpeza de todos os frangos entre ciclos?		
Todas as superfícies, bebedouros e outros equipamentos são higienizados entre cada ciclo?		
Existe algum procedimento para a eliminação de aves mortas/abatidas sem violar a biossegurança no local?		

<b>Nos pavilhões</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
Os são edifícios construídos de material durável como tijolos ou de elementos pré-fabricados?		
As ranhuras, falhas ou aberturas estão ausente dos muros, portas e portões dos pavilhões?		
São as janelas e as aberturas de ventilação à prova de aves selvagens?		

As superfícies interiores estão sem ranhuras e são fáceis de limpar?		
Existe algum acesso cimentado ou asfaltado nas entradas dos pavilhões?		
Existe apenas um acesso aos pavilhões durante o período de produção?		
Todas as outras entradas estão bloqueadas durante o período de produção?		
Só existe uma entrada nos pavilhões durante o período de produção?		
Existe uma antecâmara antes dos pavilhões?		
A antecâmara está dividida entre uma zona suja e limpa?		
Há facilidade em lavar as mãos na antecâmara?		

<b>Medidas de biossegurança (entrada e saída)</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
São disponibilizados proteções de calçado e batas de proteção, em cada pavilhão, para funcionários como e visitantes?		
As proteções de calçado e as batas de proteção da zona limpa são sempre usados pelos funcionários e visitantes quando entram na zona limpa e nos pavilhões?		
Existem lavatórios e desinfetantes disponíveis antes da entrada na zona limpa e dos pavilhões?		
Existe uma zona de desinfeção do calçado nas entradas dos pavilhões?		
Todas as roupas de trabalho são lavadas ou descartadas entre pavilhões?		

<b>Equipamentos, ferramentas e utensílios do aviário</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
Todas as ferramentas e equipamentos são de uso exclusivo de cada pavilhão?		
Todas as ferramentas e equipamentos são limpos e desinfetados entre pavilhões?		
Todas as ferramentas que entram nos pavilhões para trabalhos urgentes de reparação são sempre desinfetadas antes e depois do trabalho?		
A maquinaria é limpa e desinfetada depois de usada nos pavilhões ?		

<b>Controlo de pragas</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
Existem medidas preventivas para evitar a entrada de ratos e ratazanas nos pavilhões?		
Existe um planeamento de desratização no exterior dos pavilhões?		
Existem medidas preventivas para evitar a entrada de aves selvagens nos pavilhões?		
As pragas de insetos são controladas?		

<b>Abastecimento de água</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
A água fornecida na exploração é potável?		
A qualidade da água é analisada anualmente num laboratório certificado?		
Se a água não for da companhia, é tratada com desinfetante na exploração?		

<b>Ração</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
A ração é armazenada em silos ou em sacos fechados que não permitam o acesso de roedores ou aves selvagens?		

<b>Fornecimento e disposição das camas</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
As novas camas são armazenadas em sítios secos protegidas de pássaros e vermes?		
As camas usadas e o estrume são removidos diretamente para o exterior da exploração?		

<b>Treino e educação</b>	<b>Sim</b>	<b>Não</b>
Todos os trabalhadores têm formação em biossegurança e medidas de higiene?		
Existem registos da formação, ex: certificados de formação?		

Fonte: Adaptado do projeto “*Campylobacter control- Novel approaches in primary poultry production*”

CamCon, 2015

#### **Slide 44-Prevenção consumidor**

Segundo a OMS o consumidor deve:

- Manter a cozinha limpa, bem como os equipamentos/utensílios;
- Separar alimentos crus de cozinhados;
- Cozinhar bem os alimentos;
- Manter os alimentos a temperaturas seguras;
- Usar água potável;
- Usar matérias-primas seguras.

#### **Slide 45- Prevenção consumidor**

Em relação ao uso de carne de aves o consumidor deve:

- Cozinhar bem a carne de aves;
- Nunca lavar a carne de aves antes de cozinhar;
- Após o manuseamento de carne fresca de aves lavar convenientemente as mãos;
- Utilizar tábuas de corte específicas para alimentos de origem animal.

#### **Slide 46- Prevenção consumidor**

O consumidor deve:

- Lavar todos os utensílios e superfícies utilizados na preparação dos alimentos;
- Após contato com fezes animais lavar as mãos;
- Beber apenas água potável;
- Beber apenas leite pasteurizado.



## Bibliografia

- 1- Boxall, N. (2005). *The Epidemiology of Campylobacter jejuni in Commercial Broiler Flocks in New Zealand. Doctoral Thesis. New Zealand: Massey University.*
- 2- Fraser, A.D., Chandan, V., Yamazaki, H., Brooks, B.W. and Garcia, M.M. (1992)- *Simple and economical culture of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in CO<sub>2</sub> in moist air. Int. J. Food Microbiol. 15: 377-382.*
- 3- Vandamme, P., Dewhirst, F.E., Paster, B.J. and On, S.L.W (2005). *Family I. Campylobacteraceae. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2<sup>nd</sup> ed (G. M. Garrity, Ed.) Volume 2: The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta- and Epsilon-proteobacteria. D.J. Brenner, N.R. Krieg and J.T. Staley, eds pp. 1145-1160. Spinger: New York.*
- 4- Levin, R (2007). *Campylobacter jejuni: A review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. Food Biotechnology, 21, 271-347.*
- 5- Klena, J., Parker, C., Knibb, K., Ibbitt, J., Devane, P., Horn, S., Miller, W. & Konkel, M. (2004). *Differentiation of Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Campylobacter lari and Campylobacter upsaliensis by a multiplex PCR developed from the nucleotide sequence of the lipid A gene lpxA. Journal of Clinical Microbiology, 42 (12), 5549-5557.*
- 6- Callicott, K. A., Haoardóttir, H., Georgsson, F., Reiersen, J., Frioriksdóttir, V., Gunnarsson, E., Michel, P., Bisailon, J.R., Kristinsson, K. G., Briem, P., Hielt, K. L., Needleman, D. S. & Stern, N. J. (2008). *Broiler Campylobacter contamination and human campylobacteriosis in Iceland. Applied and Environmental Microbiology, 74 (21), 6483- 6494.*
- 7- *European Food Safety Authority (EFSA). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. EFSA Journal. 12(2), 3547 2014.*
- 8- Young, K.T., L.M. Davis, and V.J. Dirita, *Campylobacter jejuni: molecular biology and pathogenesis. Nat Rev Microbiol, 2007. 5(9): p. 665-79.*
- 9- *EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. The European Union Summary Report on Trend and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013. EFSA Journal 2015; 13(1): 3991, 162 pp. doi: 10.2903/j.efsa.2015.3991*
- 10- Moore, J. E., Wilson, T.S., Wareig, D.R.A., Humphrey, T.J. & Murphy, P.G. (2005). *Prevalence of thermophilic Campylobacter spp. in ready-to-eat foods and raw poultry in Northern Ireland. Journal of Food Protection, 65 (8), 1326- 1328.*
- 11- Ilos, B.M., *Campylobacter jejuni Infections: update on emerging issues and trends. Clin Infect Dis, 2001. 32(8): p. 1201-6.*



- 12- Fraqueza, M.J. (2009). *Ocorrência de Campylobacter em Portugal: contribuição para a caracterização de um perigo emergente em segurança alimentar [versão eletrônica]. In Resumos do III Ciclo de Conferências de Saúde Pública Veterinária: Saúde Animal e Saúde Humana, Uma Única Saúde, Porto, 3-4 de Julho.*
- 13- Patrick ME, Christiansen LE, Wainø M, Ethelberg S, Madsen H, Wegener HC. *Effects of climate on incidence of Campylobacter spp. in humans and prevalence in broiler flocks in Denmark.*; 70(12): 7474–7480. *Appl Environ Microbiol.* Dec 2004.
- 14- Jorgensen. F, Ellis-Iversen, J., Rushton, S., Bull, S., Harris, A., Gonzalez, A. and Humphrey, T. *Influence of Season and Geography on Campylobacter jejuni and C. coli Subtypes in Housed Broiler Flocks Reared in Great Britain. Appl. Environ. Microbiol.* June 2011 vol. 77 no. 11 3741-3748.
- 15- Oliveira, K.A.M., Mendonça, R.C.S., Andrade, N.J., Albino, L.F.T. *Ocorrência de Campylobacter no ambiente de criação de frango de corte. Revista Ceres, v. 55, p.556-561, 2008.*
- 16- <http://www.food.gov.uk/science/microbiology/campylobacterevidenceprogramme/retail-survey#toc-1>
- 17- *Guia europeu da industria da carne de aves de capoeira (EPIG)- avec 2010.*
- 18- Lawes, J., Vidal, A., Clifton-Hadley, A., Sayers, R., Rodgers, J., Snow, L., Evans, S. and Powell, L. 2012. *Investigation of prevalence and risk factors for Campylobacter in broiler flocks at slaughter: results from a UK survey/ Cambridge University Press, 140: 1725-1737.*
- 19- Newell, D., Elvers, K., Dopfer, D., Hansson, I., Jones, P., Jones, P., James, S., Gittins, J., Stern, N., Davies, R., Connerton, I., Pearson, D., Salvat, G. and Allen, V. 2011. *Biosecurity- Based Interventions and Strategies to Reduce Campylobacter spp. on Poultry Farms/ Applied and Environmental Microbiology, 77, 24:8605-8614.*
- 20- Humphrey, T., O'Brien, S and Madsen, M. 2007. *Campylobacter as zoonotic pathogens: A food production prespective/ International Journal of Food Microbiology, 117:237-257.*
- 21- FAO/WHO [food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization]. 2009. *Salmonella and Campylobacter in chicken meat: Meeting report. Microbiological Risk Assessment Series No. 19. Rome. 56pp.*
- 22- Barton, M. D., Heuzenroeder, M.W., Owens, J. (2011) *The use of Bacteriophages to control Campylobacter jejuni from chickens. Australian Government. Publication No. 11/005.*
- 23- *Campylobacter control- Novel approaches in primary poultry production. CamCon, 2015*

## **Anexo 3**



# Projetos Europeus

## *Campylobacter*



Realizado por: Rita Aguiar Nogueira

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr.<sup>ª</sup>. Paula Teixeira

Porto, Abril 2016



**Título:** Control of *Campylobacter* infection in broiler flocks through two-steps strategy: nutrition and vaccination

**Entidade coordenadora:** Imasde Agroalimentaria SL- Espanha

**Estado do projeto:** Em curso. De 1/09/2013 a 31/08/2016

**Países parceiros:** Noruega, Espanha, França, Holanda, Hungria.

**Objetivos:** Campilobacteriose é a doença mais frequentemente relatada de zoonóticos na UE em 2011, com 9 milhões de casos humanos, e um custo total anual de 2,4 mil milhões de € por ano na UE-27. A carne de frango é a principal fonte individual de infeção humana. Estudos recentes têm mostrado que na União Europeia, os bandos de frangos têm uma elevada prevalência de colonização por *Campylobacter* com uma média de 71%. No entanto, existe ainda uma estratégia eficaz, fiável e prática disponível para prevenir ou diminuir a colonização de *Campylobacter* em frangos.

O objetivo do presente projeto foi desenvolver uma estratégia em duas etapas, a fim de lutar contra *Campylobacter* na produção primária de aves. Uma primeira abordagem nutricional, foi avaliada em frangos infetados em condições experimentais e em situações reais através do uso de uma combinação sinérgica de produtos diferentes tais como extratos de plantas (PE), ácidos orgânicos (OA), prebióticos (PRE), probióticos (PRO), administrados via alimentação. Num segundo passo, a abordagem de vacinação com base no desenvolvimento de uma nova vacina (vacinação reversa). Espera-se que os resultados do projeto possam ser implementados a curto prazo, através de novas estratégias nutricionais baseadas numa combinação sinérgica dos produtos para alimentação animal e alimentos para animais e apresentação de uma estratégia a médio prazo através de uma nova vacina para reduzir a prevalência de *Campylobacter* em bandos de frangos.

**Link:** [http://cordis.europa.eu/project/rcn/110744\\_en.html](http://cordis.europa.eu/project/rcn/110744_en.html)

**Título:** *Campylobacter* control - novel approaches in primary poultry production

**Entidade coordenadora:** Norwegian Veterinary Institute

**Estado do projeto:** Finalizado. De 1/05/2010 a 30/04/2015

**Países parceiros:** Noruega, Espanha, Portugal, Dinamarca, Inglaterra, Holanda e Polónia.

**Objetivos:** CamCon visa melhorar o controlo de *Campylobacter* na produção primária de aves em várias partes da Europa e, assim, permitir a produção de frangos de corte de baixo risco. O projeto coloca grande ênfase na garantia de disseminação rápida e eficaz das realizações científicas para os utilizadores finais, em particular a indústria avícola da UE. CamCon foi um projeto com a duração de 4 anos com um orçamento total de 4.170.000€, onde o trabalho científico foi organizado em cinco partes:

- 1- Estudar a epidemiologia da *Campylobacter* em frangos de corte em determinadas regiões e climas da UE e comparar o sub- tipos encontrados em frangos;
- 2- Investigar a eficácia das intervenções;
- 3- Implementar métodos de deteção no local baseados em telecomunicações de mãos-livres e desenvolver métodos de rastreio quantitativos;
- 4- Desenvolver a "segunda geração" da exploração até à mesa, modelos de contaminação para as avaliações de risco quantitativos mais precisos;
- 5- Preparar orientações, vídeos educacionais, ferramentas baseadas na Internet, e propor normas da UE para os produtores, reguladores e consumidores, que são baseadas nos resultados da pesquisa realizada noutros pacotes de trabalho.

### **Resultados:**

Ao combinar os dados retrospectivos sobre *Campylobacter* em bandos de frangos entre 2010 e 2011 com os dados obtidos a partir de um inquérito por questionário, foi realizada uma análise de risco com os dados da Noruega e Dinamarca. Para o estudo 20 matadouros, no Reino Unido, num total de 210 bandos, foram analisados no momento do abate, com 51% (n=107) positivos para *Campylobacter* no primeiro abate. Em Espanha, 287 amostras foram obtidas no momento do abate, que incluindo amostras do primeiro e do último abate, com 71% (n=204) positivos para *Campylobacter*. Considerando apenas amostras do primeiro abate, um total de 164 bandos foram analisados, com 65% (n=107) positivos para *Campylobacter*. Um total de noventa e seis frangos foram analisados longitudinalmente no Reino Unido. Destas, 48 (50%) deram positivos para *Campylobacter*. Nos cinco matadouros de estudo em Espanha, um total de 49 bandos foram analisados longitudinalmente, com 29 positivos (59%). Nenhum dos matadouros se manteve consistentemente negativo por toda a parte. A idade média em que bandos se tornam positivos foi de 23,72 dias no Reino Unido. A deteção de *Campylobacter* foi feita a frangos com 9 dias de idade. Em

Espanha, a primeira detecção de *Campylobacter* foi aos 12 dias de idade. Em ambos os países, o momento em que bandos se tornaram *Campylobacter* - positivo é significativamente mais cedo do que foi previamente relatado na literatura e podem refletir o método de detecção de inicialização altamente sensível. No Reino Unido e em Espanha, é esperada uma amostragem longitudinal do matadouro para terminar em outubro de 2013, que marcará dois anos de análises sobre os oito matadouros em estudo. Os dados recolhidos até à data, para fatores de risco na exploração, foram enviados para Newcastle e estão atualmente em processo análise. O conjunto completo de dados serão analisados em outubro, após a conclusão da amostragem no Reino Unido.

Os dados referentes à sequenciação de *C. jejuni* por *multilocus sequence typing* (MLST) estão disponíveis e serão comparados com os dados provenientes de outros países para avaliar padrões de subtipos em circulação em toda a Europa.

O papel das moscas na transmissão de espécies de *Campylobacter* no Reino Unido e em Espanha foi investigado. A prevalência de *Campylobacter* em moscas, foi considerada baixa (<2%), enquanto que a entrada de moscas para pavilhões avícolas foi alta. Os resultados até agora confirmam as moscas como um fator de risco para a introdução de *Campylobacter* em pavilhões avícolas. Esta perceção é corroborada pela similaridade de tipos de *Campylobacter* (MLST) encontrados entre moscas e frangos de corte.

No âmbito deste projeto foram ainda realizados outros estudos.

Num primeiro ensaio *in vivo* num galinheiro (janeiro de 2013) com terapia fágica, não se observou qualquer redução significativa das contagens de *Campylobacter*, quando se utilizou um cocktail estabelecida de fagos. Um segundo ensaio está previsto. Neste ensaio novos parâmetros são testados. Além disso, antecipando a resistência adquirida de *Campylobacter* aos fagos estirpes da coleção de fagos será caracterizada para determinar se as estirpes de *Campylobacter* prevalentes nas aves em estudo apresentam resistência aos fagos *in vivo*.

Várias técnicas, incluindo a amostragem do ar e perfil de tamanho de partículas, foram avaliadas como forma de monitorização do era. Os resultados demonstram que a



amostragem do ar foi o método mais adequado, recorrendo a um sistema de filtros acoplado a um sistema quantitativo de reação em cadeia da polimerase (qPCR).

**Link:** [http://cordis.europa.eu/result/rcn/90253\\_en.html](http://cordis.europa.eu/result/rcn/90253_en.html)

**Título:** Efficacy, practicality, and costs of using currently available intervention methods to reduce *Campylobacter* contamination in slaughterhouses

**Entidade coordenadora:** Campden BRI

**Estado do projeto:** Finalizado (Fevereiro de 2011 a Dezembro de 2013)

**Objetivos:** Este projeto tem como objetivo reunir e analisar os dados existentes, incluindo trabalhos originais, sobre uma série de intervenções que poderiam ser usadas no processamento de aves para reduzir os níveis de *Campylobacter*, incluindo:

- água quente;
- vapor;
- água eletrolisada;
- radiação ultravioleta;
- eletro-oxidação da água de escaaldamento;
- dióxido de cloro / cloro em níveis permitidos.

As informações serão utilizadas para definir as condições a serem testadas em ensaios preliminares.

As intervenções selecionadas serão testadas em ensaios à escala real. As amostras serão testadas para *Campylobacter* no dia do tratamento e, embora nenhum crescimento seja antecipado, os testes para *Campylobacter* também vão ser levados a cabo no final do armazenamento para verificar se qualquer alteração (recuperação) ocorre durante o armazenamento. A amostragem e as análises microbiológicas seguirão um protocolo comum desenvolvido com um projeto financiado.

**Link:** <https://www.food.gov.uk/science/research/foodborneillness/b15programme/b15projects/fs121014a>

**Título:** Efficacy, practicality, and costs of using lactic acid solutions, ozonated water, or ozonated carbon dioxide pellets to reduce *Campylobacter* contamination in slaughterhouses

**Entidade coordenadora:** FSA

**Estado do projeto:** Finalizado (Fevereiro de 2011 a Março de 2013)

**Objetivos:** As informações serão utilizadas para definir as condições a serem testadas em ensaios preliminares.

Este projeto tem como objetivo rever os dados existentes, incluindo as três intervenções seguintes que a indústria indicou ser um potencial significativo para reduzir a contaminação *Campylobacter*:

- ácido láctico;
- água ozonizada;
- dióxido de carbono ozonizado.

Esta informação será usada para realizar ensaios preliminares à escala real, e fornecer dados que sejam necessários para uma proposta de utilização na UE. As amostras serão testadas para *Campylobacter* no dia do tratamento e, embora nenhum crescimento seja antecipado, os testes para *Campylobacter* também devem ser levados a cabo no final de armazenamento para verificar se qualquer alteração (recuperação) ocorreu durante o armazenamento. Amostragem e análises microbiológicas seguirá um protocolo comum desenvolvido com o projeto paralelo examinando intervenções existentes.

**Link:** <http://www.food.gov.uk/science/research/foodborneillness/b15programme/b15projects/fs121024B#toc-3>

**Título:** Protective effect of increased n3 polunsaturated fatty acid in feed on *Campylobacter* spp. colonisation of broiler chickens

**Entidade coordenadora:** Universidade de Bristol

**Estado do projeto:** Finalizado (2011-2013)

**Objetivos:** O objetivo do trabalho proposto é determinar o teor de ácidos gordos polinsaturados n3 (PUFA) na alimentação necessária para controlar a infeção por *Campylobacter* em galinhas de corte. O resultado do projeto prevê o desenvolvimento de uma

dieta de frangos de corte comercializável com esta propriedade em conjunto com os parceiros industriais.

As atividades incluirão:

1. Formação de um grupo de gestão do projeto;
2. Determinação do efeito de uma dieta de óleo de peixe no conteúdo de PUFA de carne, e gosto da carne, textura e aceitação pelos consumidores;
3. Análise do efeito do uso de um ou outro vegetal ou óleo de peixe com base na redução do transporte por *Campylobacter* em frangos de corte;
4. Determinação da quantidade ideal de PUFA necessária na dieta para controlar *Campylobacter* sem comprometer a saúde, bem-estar ou lucro;
5. Determinação do efeito da idade na infecção de aves sobre a eficácia da dieta PUFA;
6. Avaliação dos efeitos da dieta sobre a fisiologia de frangos de corte;
7. Realização de uma análise de custo / benefício e formulação de uma dieta para uso comercial.

**Link:**<http://randd.defra.gov.uk/Default.aspx?Menu=Menu&Module=More&Location=None&Completed=2&ProjectID=17669>

**Título:** *Campylobacter* and *E. coli* – a network Project (CampEc- NET)

**Países parceiros:** Noruega, Alemanha, Holanda, Finlândia, Inglaterra,

**Entidade coordenadora:** Instituto Veterinário Nacional, Noruega

**Objetivos:** *Campylobacter* e a produção de *Verocytotoxin Escherichia coli* (VTEC) têm um grande impacto na saúde pública. Este projeto tem como objetivo a articulação entre a veterinária, alimentação e vigilância médica laboratorial através de uma série de atividades, incluindo a comparação e harmonização dos métodos utilizados nos laboratórios em toda a Europa.

A epidemiologia de *Campylobacter* e VTEC é complexa. Lacunas na diversidade ao nível das espécies, na evolução da doença e na determinação da dose infecciosa são recorrentes. Este projeto centrou-se nestas questões, combinando a recolha de dados com atividades em rede e uma coordenação de forma otimizada, fazendo o uso dos conhecimentos europeus.

Um objetivo importante deste projeto foi aumentar o conhecimento epidemiológico molecular, a imunidade do hospedeiro e a fonte de atribuição de *Campylobacter* e VTEC, possibilitando o desenvolvimento de recomendações, a longo e a curto prazo, sobre a necessidade de reduzir estas infeções de origem alimentar.

Este projeto foi dividido em 5 áreas de trabalho:

1. Epidemiologia molecular de *Campylobacter*: comparando as regiões europeias;
2. Epidemiologia molecular de VTEC: identificação do risco de VTEC;
3. Papel específico do patogénico humano para gerar VTEC;
4. Desenvolvimento de métodos de atribuição de origem para *Campylobacter*;
5. Desenvolvimento de métodos de atribuição de origem para VTEC.

**Resultados:** Várias instituições participaram no processo de harmonização e recolha de dados sobre *Campylobacter* e VTEC. O conhecimento foi transmitido entre laboratórios com o objetivo de troca de experiências e aprendizagem de novos métodos. Foi proporcionada uma revisão do impacto da imunidade adquirida em campilobacteriose, em seres humanos, e a possibilidade de modelagem matemática deste sistema complexo e dinâmico tem sido explorada como estratégia para obter mais dados de observação experimental.

Também foram fornecidas novas técnicas computacionais e modelo de alimentos na área da zoonose, para avaliar os riscos. Necessárias futuras Investigações foram identificadas.

**Link:** [http://www.elika.eus/datos/redes\\_europeas\\_docs/Documento17/CampEcNET\\_Technical%20report%20at%20the%20end%20of%20the%20project%20300508.pdf](http://www.elika.eus/datos/redes_europeas_docs/Documento17/CampEcNET_Technical%20report%20at%20the%20end%20of%20the%20project%20300508.pdf)

**Título:** PhageFoodSafe - Development of a phage-based product to control Salmonella and Campylobacter in foodstuffs and food processing surfaces.

**Entidade coordenadora:** Universidade do Minho

**Países parceiros:** Informação não disponível

**Estado do projeto:** Finalizado (Fevereiro de 2010 a Fevereiro de 2013)

**Objetivos:** Informação não disponível

**Resultados:** Informação não disponível

**Link:** <http://www.ceb.uminho.pt/Projects/Details/623>

**Título:** Phagevet-P- Veterinary phages therapies as alternatives to antibiotics in poultry production

**Países parceiros:** Portugal, Inglaterra, Espanha e Rússia

**Entidade coordenadora:** Universidade do Minho

**Objetivos:** Estão a surgir rapidamente por todo o mundo bactérias que são resistentes a grande parte ou a todos os antibióticos disponíveis. O uso excessivo de antibióticos na criação de animais, contribui para a ocorrência e persistência de patogénicos resistentes aos antibióticos para humanos e animais através da cadeia alimentar. Existe uma necessidade urgente de métodos alternativos para combater doenças bacterianas de animais. Além disso, há um crescente imperativo controlar os agentes patogénicos que podem causar doenças de origem alimentar em humanos.

Objetivos estratégicos:

- 1- Avaliar o potencial de utilização de fagos como alternativas aos antibióticos na produção de aves;
- 2- Avaliar a eficácia da terapia do fago em aves;
- 3- Integrar e avaliar os trabalhos exploratórios já desenvolvido na UE e nos EUA;
- 4- Promover a transferência de conhecimentos da Europa de Leste em uso de fagos como uma alternativa aos antibióticos;
- 5- Estabelecer um projeto baseado no trabalho da indústria.

**Link:** <http://www.ceb.uminho.pt/projectos/phagevet-p/>

**Título:** Prevention and Control of Potentially Pathogenic Microorganisms in Poultry and Poultry Meat Processing

**Entidade coordenadora:** Centre for Poultry Research and Information Services

**Estado do projeto:** Finalizado. De 1/09/1990 a 1/01/1994

**Países parceiros:** Holanda.

**Objetivos:** Este projeto teve como objetivo a transferência de resultados da investigação no domínio da prevenção e controlo de microrganismos potencialmente patogénicos em humanos e em aves de capoeira e processamento de carne que deve resultar em:

- 1- Gestão mais eficiente dos fundos de investigação e descrição de futuros programas de investigação;
- 2- Aplicação de conhecimentos e tecnologia para reduzir os riscos de doenças transmitidas por alimentos humanos.

Os resultados da investigação no domínio da prevenção e controlo de microrganismos potencialmente patogênicos humanos em aves de capoeira e carne de aves de transformação foram examinadas. É sugerida investigação para reduzir os riscos de doenças transmitidas por alimentos; controlo de colonização, para prevenir a infeção de aves vivas com microrganismos potencialmente patogênicos, incluindo *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* e *Staphylococcus aureus* (atividades de investigação concentradas na origem da infeção, nos fatores relacionados com aves, manejo dos bandos, fatores e métodos de amostragem e deteção de organismos relacionados).

Um mercado estável para produtos de aves no futuro requer um sistema de produção e processamento de aves eficiente e higiênico capaz de entregar um produto seguro ao o consumidor.

No futuro próximo o comércio internacional de produtos alimentares vai aumentar consideravelmente. Os surtos de toxinfecções alimentares já demonstraram ter um impacto notável no comércio internacional.

A presença de microrganismos potencialmente patogênicos, tais como *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* em produtos avícolas estão a tornar as produções vulneráveis.

**Link:** [http://cordis.europa.eu/project/rcn/16472\\_en.html](http://cordis.europa.eu/project/rcn/16472_en.html)

**Título:** Quantitative microbiological risk assessment of *Campylobacter* in the broiler meat chain to the European Food Safety Authority.

**Entidade coordenadora:** Informação não disponível

**Países parceiros:** Informação não disponível

**Estado do projeto:** Informação não disponível

**Objetivos:** Informação não disponível

**Resultados:** Informação não disponível

**Link:** Informação não disponível