

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Dissertação

**Rastreamento de *Campylobacter* spp. no fluxograma de abate de suínos**

**Camile Milan**

Pelotas, 2016

**Camile Milan**

**Rastreamento de *Campylobacter* spp. no fluxograma de abate de suínos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Dias Timm

Coorientador: Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva

Pelotas, 2016

Dados de catalogação na fonte:  
Maria Beatriz Vaghetti Vieira – CRB 10/1032  
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

M637r Milan, Camile

Rastreamento de *Campylobacter* spp. no fluxograma de abate de suínos / Camile Milan. – 44f.– Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Veterinária. Pelotas, 2016. – Orientador Cláudio Dias Timm; co-orientador Éverton Fagonde da Silva.

1.Veterinária. 2. *Campylobacter coli*. 3.Suinocultura.  
4.Contaminação cruzada. 5.Frigorífico. 6. Saúde pública.  
I.Timm, Cláudio Dias. II. Silva, Éverton Fagonde da. III. Título.

CDD: 636.4

Camile Milan

Rastreamento de *Campylobacter* spp. no fluxograma de abate de suínos

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 18/02/2016

Banca examinadora:

Prof. Dr. Cláudio Dias Timm (Orientador)  
Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

Profa. Dra. Eduarda Hallal Duval  
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Helenice Gonzalez de Lima  
Doutora em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Natacha Deboni Cereser  
Doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista

## **Agradecimentos**

Ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas pela disponibilização da vaga para o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudos durante o período do experimento.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cláudio Dias Timm, por todo o ensinamento passado desde a graduação.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva, por estar sempre disposto a ajudar.

Aos demais professores do LIPOA que sempre se mostraram prestativos.

À granja e ao frigorífico por abrirem as portas e me auxiliarem sempre que necessário durante as coletas do experimento.

Aos colegas e funcionários do LIPOA por todo o carinho e auxílio durante os anos de mestrado, em especial aos colegas da pós-graduação pela amizade verdadeira e às estagiárias que trabalharam diretamente comigo.

À minha família por todo o apoio, amor incondicional e incentivo.

Muito obrigada!

## Resumo

MILAN, Camile. **Rastreamento de *Campylobacter* spp. no fluxograma de abate de suínos.** 2016. 44f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

As doenças transmitidas por alimentos são causadas pela ingestão de alimentos contaminados, sendo que em 2013 os principais agentes causadores destas doenças foram *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp. No homem, *Campylobacter* spp. provoca sintomatologia gastrointestinal, que pode variar de uma forma mais suave até formas mais severas. Suínos podem ser portadores destes microorganismos e produtos de suínos têm sido implicados em casos e surtos de campilobacteriose em humanos. Logo, o objetivo deste trabalho foi rastrear *Campylobacter* spp. no fluxograma de abate de suínos para compreender o comportamento destes patógenos na linha de produção. Foi acompanhado um total de 40 suínos oriundos de 10 baias de uma granja no Rio Grande do Sul durante o abate. Amostras de fezes foram coletadas no reto do animal logo após a insensibilização. Amostras da superfície da carcaça foram coletadas após a saída dos animais da depiladeira, após a evisceração, momentos antes da carcaça entrar na câmara de resfriamento e da papada. Amostras da água do tanque de escaldagem foram coletadas antes de iniciar o abate de cada lote e após a passagem dos animais também. Os isolados foram obtidos através de culturas microbiológicas e a identificação das espécies foi realizada pela técnica de PCR. Os perfis de bandas das cepas foram determinados por rep-PCR e comparados entre si. Das 200 amostras coletadas, 19 (9,5%) foram positivas para *Campylobacter*, sendo todas caracterizadas como *C. coli*. Destes isolados, sete (36,8%) foram obtidos das amostras do reto, sete (36,8%) da pós-evisceração e cinco (26,3%) antes do ingresso na câmara de resfriamento. Através da análise por rep-PCR, observou-se que os animais, uma vez contaminados por *C. coli* na granja, podem carrear o microorganismo durante as etapas do fluxograma de abate e que contaminações cruzadas também têm papel importante na contaminação final da carcaça. O manejo higiênico-sanitário adotado nas boas práticas de fabricação é fundamental no controle da contaminação por *C. coli*.

**Palavras-chave:** suinocultura; *Campylobacter coli*; frigorífico; contaminação cruzada; saúde pública

## Abstract

MILAN, Camile. **Tracking *Campylobacter* spp. in pork slaughtering flowchart.** 2016. 44f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

The foodborne illnesses are caused by contaminated food, and in 2013 the main causative agents of these diseases were *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. In man, *Campylobacter* spp. causes gastrointestinal symptoms, which can vary more smoothly even more severe forms. Pigs can be carriers of microorganisms and pork products have been implicated in cases of campylobacteriosis outbreaks in humans. Therefore, the aim of this study was to track *Campylobacter* spp. in pig slaughtering flowchart to understand the behavior of these pathogens in the production line. A total of 40 pigs originating from 10 bays a farm in Rio Grande do Sul was accompanied during slaughter. Stool samples were collected in the animal's rectum immediately after stunning. Surface samples were collected after removal of the animals from scrap machine, after evisceration, before the refrigeration chamber and from jowls. Samples from the scalding tank water before and after the passage of animals were collected too. The isolates were obtained for microbiological analysis and the confirmation of species was performed by PCR. Strains bands profiles were determined by rep-PCR and compared. Of the 200 samples 19 (9.5%) were positive for *Campylobacter*, which are all characterized as *C.coli*. In these isolates, 7 (36.8%) were the rectum, 7 (36.8%) after evisceration and 5 (26.3%) before the refrigeration chamber. Through rep-PCR analysis, it was observed that the animals contaminated by *C. coli* in the farm may carry the micro-organism through the steps of the flowchart slaughter and the cross contamination also has an important role on the final contamination. The hygienic-sanitary management of care adopted in good manufacturing practices are key in controlling the contamination by *C. coli*.

**Keywords:** swine; *Campylobacter coli*; slaughterhouse; cross contamination; public health

## Lista de Tabelas

Tabela 1	<i>Primers</i> usados na diferenciação de <i>Campylobacter jejuni</i> e <i>Campylobacter coli</i> .....	21
Tabela 2	<i>Primers</i> usados na pesquisa dos genes <i>cdtA</i> , <i>cdtB</i> e <i>cdtC</i> .....	22
Tabela 3	Presença de <i>Campylobacter</i> spp. na granja e no fluxograma de abate de suínos.....	23



## **Lista de Abreviaturas e Siglas**

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
EFSA	European Food Safety Authority
FAO	Food and Agriculture Organization
FBP	Piruvato de sódio, bissulfato de sódio, sulfato de ferro
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial de Hidrogênio
WHO	World Health Organization

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>09</b>
<b>2 Artigo.....</b>	<b>14</b>
<b>3 Considerações Finais.....</b>	<b>35</b>
<b>Referências.....</b>	<b>36</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>43</b>

## 1 Introdução

Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2015), a produção mundial de carne suína no ano de 2014 foi de 110.606 mil toneladas, sendo o Brasil o quarto maior produtor, com 3.344 mil toneladas. O país exportou, no mesmo ano, 505 mil toneladas, ficando atrás apenas dos Estados Unidos, União Europeia e Canadá.

O Rio Grande do Sul foi o estado que mais exportou carne suína em 2014, juntamente com Santa Catarina. Ambos exportaram 37,01%, seguidos pelo Paraná, com 9,26%. Com relação ao país, 85,8% da produção foi destinada ao mercado interno, sendo que o consumo de carne suína *per capita* foi de 14,6 kg (ABPA, 2015).

A demanda por carne suína tem aumentado nas últimas décadas, principalmente pelas mudanças nos padrões de consumo (FAO, 2014). Todavia, os consumidores no Brasil ainda dão preferência para a carne de aves e de bovinos, principalmente por falta de informações sobre a qualidade da carne suína (FARIA et al., 2006).

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) são causadas pela ingestão de alimentos contaminados. Esta contaminação pode ser causada por diversos patógenos, produtos químicos ou outras substâncias nocivas. Os alimentos crus de origem animal são os mais suscetíveis à contaminação (CDC, 2015a). No ano de 2013, o principal agente causador de doenças transmitidas por alimentos foi *Salmonella* spp., seguida de *Campylobacter* spp. (CDC, 2015b).

Bactérias do gênero *Campylobacter* habitam o trato intestinal de várias espécies de animais e frequentemente estão associadas a doenças de origem alimentar. No homem, provocam sintomatologia gastrointestinal, que pode variar de uma forma mais suave até formas mais severas (MEAD et al., 1999). Existem 17 espécies de *Campylobacter* e seis subespécies (WHO, 2011), mas as espécies mais comumente associadas a doenças em humanos são *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, sendo a primeira responsável por até 90% dos casos (TADESSE et al., 2011). Em suínos, *C. coli* tem sido isolado com alta frequência no

aparelho gastrointestinal (VARELA et al., 2007).

*Campylobacter* spp. são considerados altamente infecciosos. A dose infectante de *Campylobacter jejuni* varia de 500 a 10 mil células, dependendo da cepa, dano causado à célula e susceptibilidade do hospedeiro (HUNT et al., 2001). Apesar do gênero ser considerado um dos principais causadores de gastroenterites no mundo, a real incidência da doença é pouco conhecida, devido à dificuldade de diagnóstico e identificação (WHO, 2011).

Este gênero pertence à família *Campylobacteraceae*. Compreende bactérias Gram negativas, com tamanho variando entre 0,2 a 0,9 µm de largura e 0,5 a 5 µm de comprimento. Possuem morfologia de bastonetes curvos, em forma de “S” ou “asa de gaivota”. Apresentam motilidade em forma de “saca-rolhas”, produzida por um flagelo polar. São microaerófilos, sendo que algumas cepas podem se multiplicar em condições aeróbias ou anaeróbias (VANDAMME; DE LEY, 1991). A atmosfera de microaerofilia ideal é composta por 85% de nitrogênio, 10% de gás carbônico e 5% de oxigênio. As colônias típicas se apresentam com brilho d’água e espalhadas em Agar Carvão Cefoperazona Desoxicolato modificado e em Columbia Blood Agar Base, e são positivas para a presença das enzimas catalase e oxidase (HUNT et al., 2001).

O período de incubação da bactéria no homem pode variar de dois a dez dias e a doença tem duração de cerca de uma semana (FORSYTHE, 2000). A sintomatologia inclui diarreia, febre, dores abdominais, dores de cabeça, náusea e dor muscular. Em alguns casos, as fezes podem ser sanguinolentas ou com presença de muco (NACHAMKIN, 2007).

Na maioria dos casos, a campilobacteriose é autolimitada e os pacientes se recuperam sem tratamento. Em infecções graves, de longa duração, ou infecções em pacientes imunocomprometidos, a terapia medicamentosa torna-se necessária (GIBREEL et al., 2004).

Além da infecção entérica, *C. jejuni* pode causar a Síndrome de Guillain-Barré que se caracteriza por paralisia flácida aguda devido à inflamação desmielinizante que acomete os músculos esqueléticos, podendo comprometer os músculos respiratórios, levando o paciente a óbito (BOLAN et al., 2007). Estima-se que ocorra um caso de Síndrome de Guillain-Barré para cada 1000 casos de campilobacteriose (CDC, 2014).

Os mecanismos de virulência de *Campylobacter* spp. ainda não foram completamente elucidados. No entanto, alguns mecanismos que favorecem a quimiotaxia, adesão, penetração na célula hospedeira e produção de toxinas são conhecidos e fundamentais para a bactéria causar doença gastrointestinal (KONKEL et al., 2001).

Um dos principais fatores de virulência de *Campylobacter* spp. em infecções animais e humanas é denominado toxina citoletal distensiva (CDT), que é composta por três subunidades que são transcritas por genes de mesmo nome, *cdtA*, *cdtB* e *cdtC* (MARTINEZ et al., 2006). A toxina interfere na divisão e diferenciação das células das criptas intestinais, levando ao desenvolvimento de diarreia (PARK, 2002). A CDT atua especificamente bloqueando a fase G2 de células eucarióticas, que ocorre antes da divisão celular. Este bloqueio induz à distensão citoplasmática e leva à morte. A toxina *cdtB* potencializa o bloqueio do ciclo celular, enquanto que as toxinas *cdtA* e *cdtC* transportam a proteína *cdtB* e a interiorizam na célula hospedeira (JEON et al., 2005). Embora *cdtB* seja a subunidade ativa, todas as três subunidades são necessárias para a atividade completa da toxina (WHITEHOUSE et al., 1998).

Outro fator de virulência presente neste gênero bacteriano é a presença de um flagelo. O flagelo favorece a motilidade, colonização e penetração do agente nas criptas intestinais do hospedeiro. Esta estrutura possui duas proteínas, denominadas flagelina A (codificada pelo gene *flaA*) e flagelina B (codificada pelo gene *flaB*), que estão envolvidas também na adesão e na invasão às células hospedeiras (KETLEY, 1997).

A importância no gene *flaA* para a colonização de *Campylobacter* spp. já foi reportada em outros estudos. Wieczorek e Osek (2008) demonstraram a presença do gene em 100% de 92 isolados de *C. coli* e 105 isolados de *C. jejuni* obtidos de amostras de fezes e carcaças de frango.

*Campylobacter* spp., diferentemente de outros patógenos, possuem exigências em relação às necessidades de crescimento, apresentando uma sensibilidade incomum ao estresse ambiental e carência de mecanismos de adaptação (PARK, 2002). Podem sobreviver, mas não se multiplicam, em alimentos em temperaturas de refrigeração por 1 a 3 semanas, especialmente se os produtos estiverem em recipientes hermeticamente fechados. Estresses ambientais, como a exposição ao ar, secagem, baixo pH, aquecimento, congelamento e armazenamento

prolongado, danificam as células e prejudicam a recuperação do micro-organismo (HUNT et al., 2001). Por terem temperatura ótima de multiplicação de 42°C e não se multiplicarem em temperaturas abaixo de 30°C, sua multiplicação fora do hospedeiro fica prejudicada (PARK, 2002). Além disso, são muito sensíveis à dessecação, não sobrevivendo em superfícies secas (FERNANDEZ et al., 1985).

*Campylobacter* spp. também são mais sensíveis ao estresse osmótico do que outras bactérias patogênicas, não crescendo em concentrações de cloreto de sódio de 2% (DOYLE; ROMAN, 1982). Com relação ao pH, *Campylobacter* spp. são incapazes de se multiplicar abaixo de pH 4,9, sendo mortos prontamente a valores de pH inferiores a este (BLASER et al., 1980). Apesar de serem termofílicos, são sensíveis a temperaturas elevadas. Consequentemente, se um alimento for pasteurizado ou cozido adequadamente, estes micro-organismos não irão sobreviver (PARK, 2002).

A diferenciação de *C. jejuni* e *C. coli*, que são as principais espécies causadoras de gastroenterites agudas em humanos, tradicionalmente era feita com o teste da hidrólise do hipurato. *C. jejuni* hidrolisa hipurato e *C. coli* não (TOTTEN et al., 1987). No entanto, pelo fato de *C. coli* e *C. jejuni* serem semelhantes, a distinção de espécies neste teste é precisa em apenas 90% dos casos. Logo, a detecção e identificação por reação em cadeia da polimerase (PCR) tornou-se uma alternativa mais confiável (GIESENDORF et al., 1992).

Segundo Oyoyo et al. (1992), os *primers* pg3 e pg50 são iniciadores específicos que amplificam uma região altamente conservada nos genes da flagelina, presentes em *C. coli* e em *C. jejuni*, sendo o flagelo um fator de virulência necessário para a fixação e consequente colonização do *Campylobacter* spp. no trato intestinal. Já Winter e Slavik (1995) diferenciaram *C. jejuni* através da utilização dos *primers* C-1 e C-4, responsáveis pela amplificação de uma sequência específica desta espécie, que não foi identificada, mas é altamente conservada.

A contaminação de carcaças suínas por *Campylobacter* spp. pode ter origem nas granjas ou em contaminações cruzadas no próprio frigorífico. Logo, considerando a hipótese de que os suínos albergam *Campylobacter* spp. e podem carrear o patógeno para o frigorífico, este estudo teve como objetivo geral rastrear *Campylobacter* spp. no fluxograma de abate de suínos para compreender o comportamento destes patógenos na linha de produção. Os objetivos específicos foram verificar a ocorrência de *C. jejuni* e *C. coli* em suínos encaminhados para o

abate, verificar a ocorrência destes patógenos na linha de abate de suínos, verificar a presença dos genes *cdt nos isolados* e verificar a similaridade dos perfis de DNA dos isolados da mesma espécie.

## 2 Artigo

### ***Campylobacter coli* no fluxograma de abate de suínos e pesquisa dos genes *cdt***

Camile Milan, Marina de Mattos Ferrasso, Celina Nunes Ebersol, Amilton Clair Pinto  
Seixas Neto, Éverton Fagonde da Silva, Cláudio Dias Timm

Submetido à revista Vigilância Sanitária em Debate



## ***Campylobacter coli* no fluxograma de abate de suínos e pesquisa dos genes *cdt***

## ***Campylobacter coli* in swine slaughtering flowchart and research of *cdt* genes**

### ***Campylobacter* spp. no abate de suínos**

#### **Resumo**

O objetivo do trabalho foi rastrear *Campylobacter* spp. no fluxograma de abate de suínos. Quarenta animais de 10 baias, quatro de cada, foram acompanhados durante o abate. Foram coletadas amostras de fezes após a insensibilização, amostras da superfície das carcaças após a saída da depiladeira, após a evisceração e antes da carcaça entrar na câmara de resfriamento. Também foram coletadas amostras da superfície da papada e da água do tanque de escaldagem antes e após a passagem dos animais. Os isolados obtidos em culturas microbiológicas foram identificados por PCR. Rep-PCR foi utilizada para a comparação das cepas. *Campylobacter* foi isolado de 19 (9,5%) das 200 amostras de suínos analisadas, sendo sete (36,8%) do reto, sete (36,8%) após a evisceração e cinco (26,3%) antes da câmara de resfriamento. Todos isolados eram *C. coli* e *cdt* negativos. Através da rep-PCR, observou-se que os animais contaminados por *C. coli* na granja podem carrear o micro-organismo pelas etapas do processamento e que contaminações cruzadas durante o fluxograma também tem papel importante na contaminação final da carcaça. Os cuidados de manejo higiênico-sanitário adotados nas boas práticas de fabricação são fundamentais no controle da contaminação por *C. coli*.

**Palavras-chave:** suinocultura, *Campylobacter coli*, frigorífico, contaminação cruzada, saúde pública

## Abstract

The aim of this study was to track *Campylobacter* spp. in pig slaughtering flowchart. Forty animals of 10 lots, four from each lot, were followed for slaughter. Stool samples were collected immediately after stunning, surface samples after removal of the animals from scrap machine, after evisceration and before the refrigeration chamber. It was also collected surface samples of jowls and samples from the scalding tank water before and after the passage of animals. The isolates obtained in microbiological cultures were identified by PCR. Rep-PCR was used to compare the strains. *Campylobacter* was isolated from 19 (9.5%) of the 200 pig samples analyzed, seven (36.8%) of the rectum, seven (36.8%) after evisceration and five (26.3%) before the refrigeration chamber. All isolates were *C. coli* and negative *cdt*. Through rep-PCR, it was observed that the animals infected by *C. coli* in the farm may carry the micro-organism through the processing steps and that cross-contamination during the flowchart also have an important role in the contamination of the final casting. The hygienic-sanitary management of care adopted in good manufacturing practices are key in controlling the contamination by *C. coli*.

**Keywords:** swine, *Campylobacter coli*, slaughterhouse, cross contamination, public health

## INTRODUÇÃO

A carne suína é a mais popular no mundo e possui proteínas de alta qualidade<sup>1</sup>. Segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal<sup>2</sup>, a carne suína vem se qualificando como um dos grandes responsáveis pela sustentação e desenvolvimento econômico e social de muitas regiões brasileiras. É um alimento altamente nutritivo, mas, como todos os produtos de origem animal, também pode ser veículo de micro-organismos patogênicos<sup>3</sup>.

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são consideradas um problema de saúde pública, sendo causadas pela ingestão de alimentos contaminados por um agente infeccioso específico ou por toxinas por ele produzidas<sup>4</sup>. Estas enfermidades são responsáveis por altos índices de morbidade e mortalidade na população em geral, principalmente em pessoas imunocomprometidas, crianças e idosos<sup>5</sup>.

*Campylobacter* spp. são bactérias amplamente distribuídas na natureza e a maioria está apta a colonizar o trato intestinal de uma variedade de animais de sangue quente, incluindo aqueles utilizados para produção de alimentos, tais como aves, bovinos, suínos e ovinos<sup>6</sup>. Este patógeno está entre os micro-organismos mais comumente associados a toxi-infecções alimentares envolvendo o consumo de produtos de origem animal<sup>7</sup>. A campilobacteriose humana geralmente é autolimitante e cursa com sintomatologia gastrointestinal, como diarreia, febre e dor abdominal<sup>8</sup>. No entanto, em casos mais graves, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, pode ocorrer a Síndrome de Guillain-Barré, patologia que causa a desmielinização da bainha de mielina, que evolui para paralisia neuromuscular aguda, podendo levar à morte<sup>9</sup>.

As espécies do gênero *Campylobacter* consideradas patogênicas para o homem e que estão mais associadas a infecções alimentares são *C. jejuni* e *C. coli*<sup>10</sup>, sendo a primeira a principal causadora de enterites<sup>11</sup>. Com relação aos suínos, *C. coli* é a espécie que mais tem sido isolada do sistema gastrointestinal desses animais<sup>12</sup>. *C. coli* é uma bactéria termofílica, crescendo em temperaturas de 42°C. Produz as enzimas catalase e oxidase e possui motilidade devido à presença de um flagelo polar<sup>13</sup>.

Suínos são muitas vezes portadores assintomáticos de *Campylobacter* spp. e este *status* de portador aumenta a probabilidade de contaminação das carcaças durante o processo de abate<sup>14</sup>.

Por serem micro-organismos de difícil cultivo, isolamento e identificação, métodos alternativos, como os ensaios moleculares, têm sido utilizados na sua detecção<sup>15</sup>. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica molecular confiável que se tornou uma alternativa para a identificação destes patógenos<sup>16</sup>.

Considerando a possibilidade dos suínos serem portadores de *Campylobacter* spp. desde a granja ou de seus produtos serem contaminados no próprio frigorífico, o objetivo deste trabalho foi rastrear *Campylobacter* spp. no fluxograma de abate de suínos para identificar as fontes de contaminação e pesquisar a presença dos genes *cdt*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta das amostras

Durante o período de estudo, 40 suínos de uma granja de ciclo completo, localizada no sul do Rio Grande do Sul, foram acompanhados durante o fluxograma de abate em frigorífico legalmente estabelecido no sul do Rio Grande do Sul, cadastrado e inspecionado pela Divisão de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal da Secretaria de Agricultura, Pecuária e Irrigação do Estado. Foram realizadas coletas de amostras de fezes para a pesquisa de *Campylobacter* spp. duas semanas antes do carregamento para o abate (tempo necessário para o processamento das amostras em laboratório), com o uso de propés descartáveis, caminhando em diferentes direções no interior das baias. Em seguida, com o auxílio de zaragatoas estéreis, foram coletadas amostras do material do propé, totalizando três amostras por baia. Imediatamente após a coleta, o material foi encaminhado ao laboratório em meio de transporte Cary Blair (Himedia, Mumbai, Índia) em caixa isotérmica com gelo. Foram acompanhados 20 animais de cinco baias em que foi identificada a presença de *Campylobacter* spp. nas amostras de fezes coletadas na granja e 20 animais de cinco baias em que o micro-organismo não foi isolado.

Quatro animais de cada baia foram identificados com brincos e acompanhados durante o fluxograma de abate, quando foram coletadas amostras em cinco pontos diferentes:

- Ponto 1: Após a insensibilização, através da introdução de uma zaragatoa no reto do animal, para coleta de fezes;

- Ponto 2: Após a depiladeira, através da fricção de uma zaragatoa em uma área de 100 cm<sup>2</sup> delimitada por gabarito de aço inoxidável esterilizado na superfície da pele, a 15 cm da linha de dorso, iniciando a medida a partir da 5<sup>a</sup> costela;

- Ponto 3: Após a abertura da cavidade abdominal, através da fricção de uma zaragatoa em uma área de 100 cm<sup>2</sup> delimitada por gabarito de aço inoxidável esterilizado na superfície interna da carcaça, a 10 cm das articulações da costelas com as vértebras, iniciando a medida a partir da 5<sup>a</sup> costela;

- Ponto 4: Imediatamente antes da carcaça entrar na câmara de refrigeração, através da fricção de uma zaragatoa em uma área de 100 cm<sup>2</sup> delimitada por gabarito de aço inoxidável esterilizado na superfície da pele, a 15 cm da linha de dorso, iniciando a medida a partir da 5ª costela;

- Ponto 5: Amostra da papada, através da fricção de uma zaragatoa na superfície interna da papada.

Também foram coletadas amostras da água utilizada no tanque de escaldagem, antes de iniciar o abate de cada baia e após a passagem dos animais, em frascos de vidro esterilizados, em quantidade aproximada de 50 mL.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas, sob o número de identificação CEEA 3313-2015.

### **Obtenção dos isolados**

Para isolamento de *Campylobacter* spp., as zaragatoas com as amostras foram diretamente semeadas em superfície de Columbia Blood Agar Base (Acumedia, Lansing, Michigan), adicionado de 0,4% (m/v) de carvão ativado, 5% (m/v) de suplemento de solução redutora de oxigênio FBP<sup>17</sup> e 1% (m/v) de suplemento *Campylobacter* I (Himedia, Mumbai, Índia) com mistura de antibióticos. As placas foram incubadas a 42°C por 48 horas em atmosfera de microaerofilia (85% N<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>). A atmosfera de microaerofilia foi gerada através de uma modificação sugerida por Filgueiras e Hofer<sup>18</sup> da técnica de passivação do cobre descrita por Attebery e Finegold<sup>19</sup>. Adaptada proporcionalmente a uma jarra de 2,5 L, esta técnica consiste em triturar 2,8 g de Sonrisal (Sanofi-Winthrop Farmacêutica), colocar em uma base de placa de Petri e, sobre este, colocar 7,1 g de palha de aço (Bombril®) embebida em solução acidulada de sulfato de cobre.

As colônias típicas, com brilho d'água e espreiadas, foram analisadas morfotintorialmente pela coloração de Gram. As colônias com morfologia típica de bastonetes delgados, em forma de S ou asa de gaivota foram testadas para a produção das enzimas catalase e oxidase. As culturas dos isolados catalase e oxidase positivas foram criopreservadas em meio estoque (1 mL de glicerol, 8 mL de Caldo Brucella e 1 mL de Soro Fetal Bovino).

### **Extração de DNA**

O DNA dos isolados suspeitos de *Campylobacter* spp. foi extraído conforme Sambrook e Russel<sup>20</sup>. O *pellet* obtido por centrifugação de 1 mL de cultura foi ressuscitado em 150 µL de tampão STES [Tris-HCl 0,2 M, NaCl 0,5 M, SDS 0,1% (m/v), EDTA 0,01 M, pH 7,6]. Foram adicionados 50 µL de pérolas de vidro e 150 µL de fenol/clorofórmio. Após homogeneização por 1 min, a mistura foi centrifugada a 13.000 g por 5 min. O sobrenadante foi coletado e precipitado em 2 volumes de etanol absoluto e 0,1 volume de acetato de potássio. Após homogeneização por inversão, o material foi colocado no freezer a -20°C por 1 hora. Uma nova centrifugação foi realizada a 13.000 g por 20 min, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* lavado com etanol a 70%. Após a centrifugação a 13.000 g por 3 min, foi realizada a eluição em 45 µL de tampão de eluição (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,4). O DNA extraído foi estocado a -20°C.

### **Identificação das espécies de *Campylobacter***

O DNA dos isolados suspeitos de *Campylobacter* spp. foi analisado através da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para identificação das espécies *C. jejuni* e *C. coli*, de acordo com protocolo descrito por Harmon et al.<sup>21</sup>, com modificações. Foram utilizados dois pares de *primers* (Tabela 1). O par I (pg 3 e pg 50) amplifica uma região altamente conservada relacionada aos genes da flagelina em *C. jejuni* como em *C. coli*. O par II (C-1 e C-4) amplifica uma região específica somente presente em *C. jejuni*. Cada reação teve um volume final de 25 µL. Foram utilizados 12,5 µL de Master Mix (Promega, Madison, Wisconsin, USA), 2 µL (20 pmol) de cada *primer*, 1 µL de DNA (na concentração de 5 nmol/µL) e 3,5 µL de água para completar o volume da reação. A amplificação foi realizada com o seguinte programa: desnaturação inicial de 94°C por 4 min, seguido de 25 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento a 45°C por 1 min, extensão a 72°C por 1 min e extensão final a 72°C por 7 min. Como controles positivos, foram utilizadas as cepas *C. jejuni* ATCC 33291 e *C. coli* CCAMP1003, cedidas pelo setor de *Campylobacter* do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro. A eletroforese dos

produtos da PCR corados com GelRed (Uniscience, São Paulo, Brasil) foi realizada em gel de agarose a 1,5%.

Tabela 1 - *Primers* usados na diferenciação de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*

<b>Primer</b>	<b>Sequência (5'-3')</b>	<b>Espécie</b>	<b>Tamanho da amplificação na PCR (pb)</b>
<b><i>pg3</i></b>	GAACTTGAACCGATTTG	<i>C.coli</i> e	460
<b><i>pg50</i></b>	ATGGGATTTTCGTATTAAC	<i>C. jejuni</i>	
<b>C-1</b>	CAAATAAAGTTAGAGGTAGAATGT	<i>C. jejuni</i>	160
<b>C-4</b>	GGATAAGCACTAGCTAGCTGAT		

#### **Identificação dos genes *cdt***

Após a identificação da espécie, foi realizada a pesquisa de genes de patogenicidade através da técnica de multiplex PCR de acordo com Martinez et al.<sup>22</sup>, com modificações, utilizando *primers* específicos para os genes *cdtA*, *cdtB* e *cdtC* (Tabela 2). Para um volume final de 25 µL, foram utilizados 12 µL de Master Mix, 2 µL (20 pmol) de cada *primer* e 1 µL (5 nmol/µL) de DNA. A amplificação foi realizada com uma desnaturação inicial de 94°C por 5 min, seguida de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento a 57°C por 1 min, extensão a 72°C por 1 min e extensão final a 72°C por 5 min. Para análise do produto amplificado, foi utilizada a mesma técnica já descrita anteriormente.

Tabela 2 - *Primers* usados na pesquisa dos genes *cdtA*, *cdtB* e *cdtC*

<i>Primer</i>	Sequência (5'-3')	Tamanho da amplificação na PCR (pb)
<i>cdt A-F</i>	CTATTACTCCTATTACCCCACC	422
<i>cdt A-R</i>	AATTTGAACCGCTGTATTGCTC	
<i>cdt B-F</i>	AGGAACTTTACCAAGAACAGCC	531
<i>cdt B-R</i>	GGTGGAGTATAGGTTTGTGTC	
<i>cdt C-F</i>	ACTCCTACTGGAGATTTGAAAG	339
<i>cdt C-R</i>	CACAGCTGAAGTTGTTGTTGGC	

### Perfis moleculares

Os perfis moleculares dos isolados foram determinados por rep-PCR, segundo Rasschaert et al.<sup>23</sup>, com modificações, utilizando o *primer* (GTG)<sub>5</sub> (GTGGTGGTGGTGGTG), conforme Versalovic et al.<sup>24</sup>. Resumidamente, as condições da rep-PCR foram as seguintes: 2,5 µL de DNA, 2 µL do *primer*, 12,5 µL de Master Mix (Qiagen, Alemanha) e 8 µL de água para completar o volume da reação. Os ciclos da amplificação foram 1 ciclo de 94°C por 5 min, 30 ciclos subsequentes de 95°C por 30 s, 45°C por 1 min e 60°C por 5 min, e finalmente 1 ciclo de 60°C por 16 min. Para a visualização dos padrões de banda das diferentes regiões amplificadas no genoma, os produtos da PCR foram corados com GelRed e a eletroforese foi realizada em gel de agarose a 2%.

Os padrões da rep-PCR foram interpretados de acordo com os critérios sugeridos por Tenover et al.<sup>25</sup>, utilizando a seguinte classificação: indistinguíveis (todas as bandas iguais), intimamente relacionadas (2-3 bandas distintas), possivelmente relacionadas (4-6 bandas distintas) e diferentes (mais de 7 bandas distintas).



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 200 amostras coletadas de suínos, 19 (9,5%) albergavam *Campylobacter* spp., sendo 13 (6,5%) de animais oriundos de baias positivas e seis (3%) de animais de baias negativas. Destes, sete (36,8%) foram isolados das amostras de fezes obtidas do reto e sete (36,8%) da superfície da pele na pós-evisceração. Os outros cinco (26,3%) foram isolados das carcaças na entrada da câmara fria (Tabela 3).

Tabela 3 - Presença de *Campylobacter* spp. na granja e no fluxograma de abate de suínos

Baias	Água inicial	Reto <sup>a</sup>	Após depiladeira	Após evisceração	Entrada na câmara	Papada	Água final
Positivas <sup>b</sup>							
1	-	----	----	----	--+-	----	-
2	-	--+-	----	--+-	+---	----	-
3	-	+---	----	---+	----	----	-
4	-	----	----	++--	++--	----	-
5	-	--+-	----	++--	----	----	-
Negativas							
1	-	--+-	----	--+-	----	----	-
2	-	--++	----	----	----	----	-
3	-	+---	----	----	---+	----	-
4	-	----	----	----	----	----	-
5	-	----	----	----	----	----	-

<sup>a</sup>Nas colunas onde aparecem quatro símbolos (+ ou -), cada um corresponde a um suíno. A ordem dos animais é a mesma em toda linha. Ausência de *Campylobacter* (-); presença de *Campylobacter* (+).

<sup>b</sup>Positivas: baias com presença de *Campylobacter* nas amostras de fezes; Negativas: baias com ausência de *Campylobacter* nas amostras de fezes.

Os isolados das cinco baias positivas para a presença da bactéria nas fezes coletadas do piso foram identificados como *C. coli*. As baias consideradas como negativas foram aquelas em que não houve o isolamento da bactéria nas fezes coletadas duas semanas antes do abate.

Nenhuma amostra de água do tanque de escaldagem coletada durante o estudo estava contaminada com *Campylobacter*. Esta etapa tem o objetivo de promover redução da carga microbiana presente na superfície da carcaça do animal e favorecer a retirada das cerdas do suíno através da abertura dos poros. A ausência de *Campylobacter* indica que havia um controle adequado da temperatura do local, uma vez que o micro-organismo não resiste às temperaturas de 62°C a 72°C pelo período de 2 a 5 minutos (tempo em que as carcaças ficam submersas no tanque) exigido pela legislação brasileira para a água do tanque de escaldagem<sup>26</sup>.

Na coleta realizada no reto dos animais, após a etapa de insensibilização, foram obtidos sete (36,8%) isolados. Nem todos os animais acompanhados no frigorífico, provenientes de baias positivas para *Campylobacter* foram portadores do micro-organismo. Apenas três animais, de baias diferentes, albergavam *Campylobacter*. Apesar das coletas de amostras de fezes nas baias terem sido realizadas da forma mais representativa possível, alguns animais poderiam não estar contaminados.

Alguns animais provenientes de baias negativas apresentaram o micro-organismo nas fezes coletadas no reto logo após a insensibilização. Em três baias diferentes, foram identificados quatro suínos positivos. Animais de produção em condições de estresse podem apresentar um aumento na taxa de excreção de micro-organismos patogênicos<sup>27</sup>. Logo, é possível que alguns animais de baias consideradas negativas estivessem contaminados por *Campylobacter* no momento da coleta de amostra na granja, mas não estivessem eliminando o micro-organismo nas fezes e passaram a excretá-lo em decorrência do estresse provocado pelo transporte e/ou jejum em que os animais são submetidos previamente ao abate.

Não foram obtidos isolados nas coletas realizadas após a depiladeira. Gill e Bryant<sup>28</sup> encontraram *Campylobacter* spp. em todas as amostras coletadas de depiladeiras em dois frigoríficos do Canadá. Já Pearce et al.<sup>29</sup>, nos Estados Unidos, não obtiveram isolados após esta etapa. Esta variação de resultados possivelmente seja devido ao controle da temperatura de escaldagem, etapa anterior à depilação.

O calor aplicado durante a escaldagem, quando adequado, é capaz de reduzir de forma eficiente os níveis de bactérias<sup>30</sup>.

Na etapa pós-evisceração, *Campylobacter* foi isolado de sete (36,8%) amostras, sendo seis oriundas de baias positivas e uma de uma baia negativa. Durante a evisceração, o rompimento do intestino pode representar uma fonte de contaminação de carcaça<sup>31</sup>, uma vez que e a contaminação acontece, geralmente, a partir da bactéria presente no conteúdo intestinal<sup>32</sup>. Tecidos linfóides de suínos, como linfonodos, também podem albergar *Campylobacter*<sup>33</sup>. A contaminação da carne pelos linfonodos pode ocorrer, principalmente se as operações de evisceração causarem o rompimento dos mesmos. A disseminação também pode ocorrer através de utensílios usados durante os procedimentos de manipulação das carcaças<sup>34</sup>. Outro fator que poderia justificar o número de isolados nesta etapa é a oclusão do reto mal feita. A oclusão do reto é uma etapa que ocorre antes da evisceração, com o objetivo de evitar a contaminação fecal da carcaça nas etapas posteriores. Consiste em realizar uma ligadura com linha resistente ou uso de grampos de aço inoxidável<sup>25</sup>. Se não for bem realizada, esta etapa pode acarretar em extravasamento do conteúdo fecal durante a evisceração, contaminando assim a carcaça.

*Campylobacter* foi isolado dos animais 1 e 2 da baia 4 na etapa pós-evisceração e estes animais se mantiveram contaminados na etapa seguinte (antes da entrada da câmara de resfriamento). No entanto, os animais 1 e 2 provenientes da baia 5 estavam positivos na etapa pós-evisceração e não se mantiveram contaminados na etapa posterior. Entre estas etapas ocorre a última lavagem das carcaças. Este procedimento tem por finalidade higienizar a carcaça e não eliminar micro-organismos da sua superfície. Entretanto, parece que, em alguns casos, a eliminação ou diminuição da contaminação, como ocorreu no caso dos dois animais da baia 5, pode acontecer.

Quatro carcaças de animais de baias positivas e uma de um animal oriundo de uma baia negativa estavam contaminadas com *Campylobacter* imediatamente antes da entrada nas câmaras frias. As carcaças são destinadas a este setor com a finalidade de retirar o calor sensível logo após o abate, resfriando as mesmas até uma temperatura máxima de 1°C na intimidade das massas musculares<sup>26</sup>. *Campylobacter* spp. podem sobreviver, apesar de não conseguirem se multiplicar,

em alimentos em temperaturas de refrigeração (-1 a 5°C) por uma a três semanas<sup>13</sup>. Logo, o elevado percentual de isolamentos (26,3%) obtidos no estudo pode representar um problema, uma vez que as carcaças que entrarem contaminadas neste setor podem se manter até o alimento chegar ao consumidor.

*Campylobacter* não foi isolado das amostras de papada. Este resultado é importante do ponto de vista higiênico-sanitário, uma vez que a papada é utilizada como matéria-prima para a produção de embutidos, podendo ser considerada potencial fonte de contaminação destes produtos.

Todos os 19 (100%) isolados obtidos foram identificados como *C. coli*. Suínos albergam *C. coli* com maior frequência quando comparados com *C. jejuni*<sup>35</sup>. Malakauskas et al.<sup>14</sup> consideram que a dificuldade de se isolar *C. jejuni* em suínos seja devido às baixas concentrações da espécie nos animais portadores. Em trabalho realizado por Andrade et al.<sup>36</sup>, no Rio de Janeiro, 100 amostras de fezes suínas foram coletadas, sendo isolado *Campylobacter* spp. em 28 destas. Todos os isolados foram identificados como *C. coli*. Em outro estudo, Alter et al.<sup>32</sup> identificaram *C. coli* em 100% de 1513 amostras de fezes obtidas em 15 granjas localizadas na Alemanha. Os resultados desses experimentos vão ao encontro dos nossos, comprovando que *C. coli* é mais isolado em suínos do que as outras espécies do gênero.

Os isolados obtidos neste estudo foram analisados pela técnica de rep-PCR para realizar a comparação dos padrões de bandas. Através desta comparação, foi possível considerar possíveis fontes de contaminação das carcaças, identificando a persistência das cepas no decorrer do fluxograma e eventuais contaminações cruzadas.

Em relação aos animais provenientes das baias positivas, foi possível verificar que na baia 1 o isolado da granja foi indistinguível do isolado obtido do suíno 3 antes da entrada na câmara de resfriamento. O animal estava contaminado com a mesma cepa isolada das amostras da baia em que se encontrava na granja. Este fato indica que a contaminação teve origem na granja e que as boas práticas durante o processamento foram falhas, pois o animal se manteve contaminado durante todo o fluxograma até a chegada à câmara de resfriamento.

Na baia 2 foram obtidos isolados de dois animais. O animal 1 estava positivo apenas antes da câmara de resfriamento, já o animal 3 apresentou *C. coli* no reto e após a evisceração. A cepa isolada da granja foi intimamente relacionada com as cepas obtidas do animal 3, enquanto que a cepa isolada do animal 1 foi considerada diferente. Este animal poderia já estar contaminado, mas só passou a eliminar a bactéria nas fezes posteriormente, devido a situações de estresse, como o transporte e o jejum, que podem aumentar a taxa de excreção de micro-organismos patogênicos<sup>27</sup>. Outra possibilidade seria a contaminação cruzada dentro do frigorífico, através do contato com fômites contaminados. O suíno 3 veio da granja já portador de *C. coli*, o que foi confirmado pelo reisolamento da cepa a partir da amostra obtida no reto deste animal. A mesma cepa foi isolada também da amostra coletada após a evisceração, indicando que os procedimentos realizados durante a evisceração não foram adequados e levaram à contaminação da carcaça.

A baia 3 apresentou dois isolados diferentes entre si e quando comparados ao isolado obtido na granja. Nesta baia, um dos isolados foi obtido do reto após a insensibilização. Este animal estava contaminado com uma cepa diferente daquela isolada na granja, a qual não estava presente na amostra de fezes obtida do chão da baia onde se encontrava ou pode ter passado a excretar a bactéria devido ao estresse do transporte, jejum ou do contato com outros animais no curral de espera, conforme já comentado. A bactéria não foi isolada deste animal nas etapas seguintes. Provavelmente os cuidados higiênico-sanitários durante a produção, embora não fossem adequados, pois não eliminaram a contaminação observada em outros animais nem evitaram a contaminação cruzada, conforme se verá a seguir, foram suficientes para a eliminação de *C. coli* neste caso específico. O segundo isolado desta baia foi obtido de outro animal, apenas após a etapa de evisceração. Contaminação cruzada pode ter sido a causa. Utensílios, como facas, utilizados nesta etapa, se mal esterilizados, podem ser fontes de contaminação. O mesmo deve ter ocorrido na baia 5, cujos isolados, um obtido após a insensibilização e dois após a evisceração, apresentaram perfis diferentes daquele oriundo da granja.

Na baia 4, os isolados obtidos do animal 2 após a evisceração e na entrada da câmara foram considerados intimamente relacionados, mas diferentes da granja. Este fato indica problemas higiênico-sanitários dentro do frigorífico, uma vez que a

linha de abate foi a origem da contaminação da carcaça, que assim se manteve até a próxima etapa analisada.

Com relação aos animais provenientes de baias negativas, observou-se que na baia 1 os isolados obtidos do reto e após a evisceração foram considerados intimamente relacionados. Já os isolados das demais baias foram considerados diferentes. Como as baias foram consideradas negativas no momento da coleta, a eliminação da bactéria pelos animais pode ter se dado devido ao estresse do transporte e jejum, conforme mencionado anteriormente, ou ainda terem se contaminado na granja, posteriormente à coleta das fezes.

Não houve similaridade entre as cepas isoladas de baias diferentes, indicando que não houve a persistência de cepas tanto na granja quanto no frigorífico. As coletas foram realizadas no período de um ano, tendo um espaçamento entre elas de pelo menos um mês, o que pode ter influenciado na não persistência da cepa e possibilitado a entrada de novas estirpes.

Nenhum isolado foi positivo para a presença dos genes *cdt*. A presença destes genes tem sido reportada como menos comum em *C. coli*<sup>37</sup>. A patogenia da infecção por *Campylobacter* spp. é multifatorial e complexa. Vários fatores de virulência, tais como adesão, capacidade de invasão e de produção de toxinas tem sido relatados<sup>38</sup>. Jain et al.<sup>39</sup> realizaram um experimento avaliando os efeitos da presença do gene *cdt* inoculando cepas de *Campylobacter cdt*-positivas e *cdt*-negativas em camundongos. O dano causado pelas cepas positivas foi maior, cursando com intensa resposta inflamatória nos tecidos intestinais e destruição celular. Já as cepas negativas causaram apenas uma leve inflamação. Os animais coletados em nosso estudo não apresentavam sinais clínicos. No entanto, suínos são muitas vezes portadores assintomáticos de *Campylobacter* spp.<sup>14</sup>. Embora alimentos contaminados com cepas de *Campylobacter* spp. sem a presença dos genes *cdt* causem menos danos que os contaminados com cepas portadoras, a atenção com a qualidade higiênico-sanitária de alimentos deve ser respeitada, uma vez que a capacidade da bactéria provocar sintomatologia independe da produção da toxina<sup>39</sup>.

## CONCLUSÃO

*C. coli* é a principal espécie de *Campylobacter* presente no trato intestinal de suínos. Os animais, uma vez contaminados, podem carrear o micro-organismo durante as etapas do fluxograma de abate. As fontes de contaminação podem ser a granja de origem ou contaminações cruzadas durante o processamento.

A evisceração foi considerada a etapa mais crítica, devido ao maior número de isolamentos nas amostras obtidas logo após este procedimento, ressaltando a importância dos cuidados de manejo higiênico-sanitário nesta etapa.

Os genes *cdt* não foram encontrados nos isolados obtidos no estudo.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.

## REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2014. Faostat. [internet]. [Acesso em 01 nov. 2015]. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
2. Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), 2015. Suinocultura. [internet]. [Acesso em 01 nov. 2015]. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/setores/suinocultura>
3. Resolução nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil 2001; 10 jan.

4. Welker CAD, Both JMC, Longaray SM, Haas,S, Soeiro MLT, Ramos RC. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Rev Bras Bioc 2010; 8 (1): 44-8.

5. World Health Organization (WHO), 2013. Foodborne disease. [internet]. [Acesso em 01 nov. 2015]. Disponível em:

[http://www.who.int/foodsafety/foodborne\\_disease/en/](http://www.who.int/foodsafety/foodborne_disease/en/)

6. European Food Safety Authority (EFSA), 2011. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. EFSA Journal; 9(4): 141.

7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2015. Progress report. [internet]. [Acesso em: 01 nov. 2015]. Disponível em:

[http://www.cdc.gov/foodnet/pdfs/progress-report-2014\\_508c.pdf](http://www.cdc.gov/foodnet/pdfs/progress-report-2014_508c.pdf)

8. Moore JE, Corcoran D, Dooley JSG, Fanning S, Lucey B, Matsuda M, et al. *Campylobacter*. Vet Res 2005; 36: 351-82.

9. Altekruze SF, Stern, NJ, Fields PI, Swerdlow DL. *Campylobacter jejuni*: an emerging foodborne pathogen. Emerg Infect Dis 1999; 5 (1): 28-35.

10. Mackiw E, Korsak D, Rzewuska K, Tomczuk T, Rozynek E. Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food in Poland. Food Contr 2012; 23: 297-301.



11. Zilbauer M, Dorrell N, Wren BW, Bajaj-Elliott M. In: *Campylobacter jejuni* – mediated disease pathogenesis: an update. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008; 102: 123-9.
12. Varela NP, Friendship RM, Dewey CE. Prevalence of *Campylobacter* spp. isolated from grower-finished pigs in Ontario. *Can Vet J* 2007; 48 (5): 515-7.
13. Hunt JM, Abeyta C, Tran T. *Campylobacter*. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual (BAM). [internet]. [Acesso em: 18 dez. 2015]. Disponível em <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm072616.htm>
14. Malakauskas M, Jorgensen K, Nielsen EM, Ojeniyi B, Olsen JE. Isolation of *Campylobacter* spp. from a pig slaughterhouse and analysis of cross-contamination. *Intern J Food Microbiol* 2006; 108: 295-300.
15. World Health Organization (WHO), 2013. The global view of campylobacteriosis: report of an expert consultation. Utrecht, Netherlands, 9-11 July 2012.
16. Giesendorf BAJ, Quinst WGV, Henkens MHC, Stegeman H, Huf FA, Niesters HGM. Rapid and sensitive detection of *Campylobacter* spp. in chicken products by using the polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol* 1992; 58: 3804-08.
17. George HA, Hoffmann PS, Krieg NR, Smibert RM. Improved media for growth and aerotolerance of *Campylobacter fetus*. *J of Clin Microbiol* 1978; 8: 36-41.
18. Filgueiras ALL, Hofer E. Ocorrência de *Campylobacter* termofílico em diferentes pontos de uma estação de tratamento de esgotos na cidade do Rio de Janeiro. *Rev Microbiol* 1989; 20: 303-8.

19. Attebery HR, Finegold SM. A miniature anaerobic jar for tissue transport or for cultivation of anaerobes. *Am J Clin Pathol* 1970; 53: 383-8.
20. Sambrook J, Russel DW. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
21. Harmon KM, Ransom GM, Wesley IV. Differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by polymerase chain reaction. *Mol Cell Probes* 1997; 11: 195-200.
22. Martinez I, Mateo E, Churruca E, Girbau C, Alonso R, Fernandez-Astorga A. Detection of *cdtA*, *cdtB*, and *cdtC* genes in *Campylobacter jejuni* by multiplex PCR. *Int J Med Microbiol* 2006; 296: 45-8.
23. Rasschaert G, Houf K, Imberechts H, Grijspeerdt K, De Zutter L, Heyndrickx M. Comparison of five repetitive-sequence-based PCR typing methods for molecular discrimination of *Salmonella enterica* isolates. *J Clin Microbiol* 2005; 43 (8): 3615–23.
24. Versalovic J, Schneider M, De Bruijn FJ, Lupski JR. Genomic fingerprinting of bacteria with repetitive sequencebased polymerase chain reaction. *Met Mol Cell Biol* 1994; 5: 25–40.
25. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33 (9): 2233-39.
26. Portaria n°711, de 01 de novembro de 1995. . Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Dispõe sobre as Normas técnicas de instalações e equipamentos

para abate industrialização de suínos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil 1995; 03 nov.

27. Rosenvold K, Andersen HJA. Factors of significance for pork quality – a review. Meat Sci 2003; 64: 219-37.

28. Gill CO, Bryant J. The presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* in pig carcass dehairing equipment. Food Microbiol 1993; 10: 337-44.

29. Pearce RA, Wallace FM, Call JE, Dudley RL, Oser A, Yoder L, et al. Prevalence of *Campylobacter* within a swine slaughter and processing facility. J Food Protect 2003; 66: 1550-6.

30. Bolton DJ, Pearce RA, Sheridan JJ, Blair IS, McDowell DA, Harrington D. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. J Appl Microbiol 2002; 92: 893-902.

31. Guise HJ, Penny RHC, Baynes PJ, Abbott TA, Hunter EJ, Johnston AM. Abattoir observations of the weights of stomachs and their contents in pigs slaughtered at known time after their last feed. Brit Vet J 1995; 151 (6): 659-70.

32. Alter T, Gaull F, Kasimir S, Gürtler M, Mielke H, Linnebur M, Fehlhaber K. Prevalences and transmission routes of *Campylobacter* spp. strains within multiple pig farms. Vet Microbiol 2005; 108: 251-61.

33. Nesbakken T, Ecnér K, Hoidal HK, Rotterud OJ. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection slaughtering, and dressing procedures. Int J Food Microbiol 2003; 80: 231-40.

34. Gabriel MR, Melo RT, Rossi DA, Fonseca BB. *Campylobacter* spp. em linfonodos mesentericos de suínos abatidos. Pub Med Vet Zoot 2010; 4 (19): art.840.
35. Steinhäuserová I, Fojtíková K, Matiasović J. Subtyping of *Campylobacter* spp. strains and their incidence in piglets. Act Vet 2001; 70: 197–201.
36. Andrade LAF, Esteves WTC, Thomé JDS, Figueiras ALL. Bactérias termofílicas do gênero *Campylobacter* em suínos do estado do Rio de Janeiro. Vig Sanit Deb 2014; 2 (1):46-50.
37. Silva DT, Tejada TS, Cunha CC, Lopes NA, Agostinetti A, Collares T, et al. Ocorrência de *Campylobacter* em carne de frango, fezes de frango e humanas e pesquisa dos genes *cdt*. Arq Bras Med Vet Zootec 2014; 66 (1): 297-304.
38. Konkel ME, Monteville MR, Rivera-Amill V, Joens LA. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated Enteritis. Current Issues in Intestinal. Microbiol 2001; 2 (2): 55-71.
39. Jain D, Prasad KN, Sinha S, Husain N. Differences in virulence attributes between cytolethal distending toxin positive and negative *Campylobacter jejuni* strains. J Med Microbiol 2008; 57: 267-72.

### 3 Considerações Finais

Suínos do sul do Rio Grande do Sul podem albergar *C. coli*. A contaminação pode ter origem tanto na própria granja, uma vez que o micro-organismo comumente é encontrado no trato intestinal dos animais, sendo as fezes possíveis fontes de *C. coli*. A contaminação também pode se dar dentro do frigorífico, devido a falhas nas boas práticas de fabricação durante o fluxograma de abate. O animal, uma vez contaminado, pode carrear o micro-organismo até a entrada na câmara de resfriamento, onde o alimento pode se manter contaminado até ser comercializado.

Dentro do frigorífico, o ponto com maior isolamento do micro-organismo foi após a evisceração. Como *C. coli* é comumente encontrado no trato intestinal de suínos, é justificável o isolamento em maior número de amostras obtidas no processo de evisceração, onde pode ocorrer contaminação a partir do conteúdo intestinal ou linfonodos, devido a falhas humanas.

Com relação à avaliação da similaridade entre as cepas, pode-se observar que alguns animais contaminaram-se na granja e mantiveram-se contaminados com a mesma cepa durante o fluxograma de abate. Isto evidencia falhas nas boas práticas de fabricação, as quais, uma vez bem executadas, eliminam possíveis contaminações de carcaças.

Nenhuma cepa apresentou os genes *cdt*, no entanto alimentos contaminados com cepas *cdt*-negativas também podem causar danos. Uma vez que os suínos são considerados portadores de *C. coli*, é importante que se adotem medidas higiênico-sanitárias adequadas no frigorífico, para evitar que animais contaminados mantenham a contaminação durante o fluxograma, de forma a garantir que alimentos seguros cheguem ao consumidor.

## Referências

ABPA, 2015 – Associação Brasileira de Proteína Animal. ABPA. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/suinocultura>>. Acesso em: 06 out. 2015.

ABPA, 2015 – Associação Brasileira de Proteína Animal. ABPA. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/setores/suinocultura>>. Acesso em: 01 nov. 2015.

ALTEKRUSE, S. F.; STERN, N. J.; FIELDS, P. I.; SWERDLOW, D. L. *Campylobacter jejuni*: an emerging foodborne pathogen. *Emerging Infectious Diseases*, v.5, n.1, p.28-35, 1999.

ALTER, T.; GAULL, F.; KASIMIR, S.; GÜRTLER, M.; MIELKE, H.; LINNEBUR, M.; FEHLHABER, K. Prevalences and transmission routes of *Campylobacter* spp. strains within multiple pig farms. *Veterinary Microbiology*, v.108, p.251-261, 2005.

ANDRADE, LAF, ESTEVES, WTC, THOMÉ, JDS, FILGUEIRAS, ALL. Bactérias termofílicas do gênero *Campylobacter* em suínos do estado do Rio de Janeiro. *Vigilância Sanitária em Debate*, v. 2, n. 1, p.46-50, 2014.

ATTEBERY, H.R.; FINEGOLD, S.M. A miniature anaerobic jar for tissue transport or for cultivation of anaerobes. *American Journal of Clinical Pathology*, n.53, p.383-388, 1970.

BLASER, M. J.; HARDESTY, H. L.; POWERS, B.; WANG, W. L.. Survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in biological milieus. **Journal of Clinical Microbiology**, v.11, p.309-313, 1980.

BOLAN, R. S.; DALBÓ, K.; VARGAS, F. R.; MORETTI, G. R. F.; ALMEIDA, L. P.; ALMEIDA, G. K. P; DIAS, P. V. L. Síndrome de Guillain-Barré. *Revista da AMRIGS, Porto Alegre*, v.51, n.1, p.58-61, 2007.

BOLTON, D. J.; PEARCE, R. A.; SHERIDAN, J. J; BLAIR, I. S.; McDOWELL, D. A.; HARRINGTON, D. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. *Journal of Applied Microbiology*, v.92, p. 893-902, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Brasília. Portaria nº711, de 01 de novembro de 1995. Normas técnicas de instalações e equipamentos para abate industrialização de suínos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 03 nov. 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION), 2014. **Campylobacter – General information**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter/#what>>. Acesso em: 18 out. 2015.

CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION), 2015. Progress report. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/foodnet/pdfs/progress-report-2014-508c.pdf>>. Acesso: 01 nov. 2015.

CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION), 2015a. **Foodborn germs and illnesses**. Disponível em <<http://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html>>. Acesso em: 10 out. 2015.

CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION), 2015b. **Progress report**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/foodnet/pdfs/progress-report-2014-508c.pdf>>. Acesso: 10 out. 2015.

DOYLE, M. P.; ROMAN, D. J. Response of *Campylobacter jejuni* to sodium chloride. **Applied and Environmental Microbiology**, v.43, p.561– 565, 1982.  
EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY), 2011. Scientific Opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain. EFSA Journal. 9(4):2105.141pp

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS), 2014. **Food and animal health**. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/pigs/home.html>>. Acesso em: 07 out. 2015.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS), 2014. Faostat. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 01 nov. 2015.

FARIA, I. G.; FERREIRA, J. M.; GARCIA, S. K. Mercado consumidor de carne suína e derivados em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.2, p.251-256, 2006.

FERNANDEZ, H.; VERGARA, M.; TAPIA, F. Desiccation resistance in thermotolerant *Campylobacter* species. **Infection**, v.13, n.4, p.197, 1985.

FILGUEIRAS, A.L.L.; HOFER, E. Ocorrência de *Campylobacter* termofílico em diferentes pontos de uma estação de tratamento de esgotos na cidade do Rio de Janeiro. *Revista de Microbiologia*, n.20, p.303-308, 1989.

FORSYTHE, S. J. **The Microbiology of Safe Food**. Oxford. Blackwell Science, 2000.

GABRIEL, M.R.; MELO, R.T.; ROSSI, D.A.; FONSECA, B.B. *Campylobacter* spp. em linfonodos mesentericos de suínos abatidos. *Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.4, n.19, art.840, 2010.

GEORGE, H. A.; HOFFMANN, P. S.; KRIEG, N. R.; SMIMBERT, R. M. Improved media for growth and aerotolerance of *Campylobacter* fetus. *Journal of Clinical Microbiology*, n.8, p.36-41, 1978.

GIBREEL, A.; TRACZ, D. M.; NONAKA, L.; NGO, T. M.; CONNELL, S. R.; TAYLOR, D. E. Incidence of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* isolated in Alberta, Canada, from 1999 to 2002, with special reference to tet(O)-mediated tetracycline resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.48, n.9, p.3442-3450, 2004.

GIESENDORF, B. A. J.; QUINST, W. G. V.; HENKENS, M. H. C.; STEGEMAN, H.; HUF, F. A.; NIESTERS, H. G. M. Rapid and sensitive detection of *Campylobacter* spp. in chicken products by using the polymerase chain reaction. **Applied and Environmental Microbiology**, v.58, p.3804-3808, 1992.

GILL, C. O.; BRYANT, J. The presence of *Escherichia coli*, *Salmonella* and *Campylobacter* in pig carcass dehairing equipment. *Food Microbiology*, v. 10, p. 337-344, 1993.



GUISE, H. J.; PENNY, R. H. C.; BAYNES, P. J.; ABBOTT, T. A.; HUNTER, E. J.; JOHNSTON, A. M. Abattoir observations of the weights of stomachs and their contents in pigs slaughtered at known time after their last feed. *British Veterinary Journal*, v. 151, n. 6, p. 659-670, 1995.

HARMON, K. M; RANSOM, G. M.; WESLEY, I. V. Differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by polymerase chain reaction. *Molecular and Cellular Probes*, n.11, p.195-200, 1997.

HARVEY, R. B.; ANDERSON, R. C.; YOUNG, C. R.; SWINDLE, M. M.; GENOVESE, K. J.; HUME, M. E.; DROLESKEY, R. E.; FARRINGTON, L. A.; ZIPRIN, R. L.; NISBET, D. J. Effects of feed withdrawal and transport on cecal environmental and *Campylobacter* concentrations in a swine surgical model. *Journal of Food Protection*, v.64, p. 730-733, 2001.

HUNT, J.M.; ABEYTA, C.; TRAN, T. BAM (Bacteriological Analytical Manual). U.S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. ***Campylobacter*. Chapter 7**, 2001.

JAIN, D.; PRASAD, K. N.; SINHA, S.; HUSAIN, N. Differences in virulence attributes between cytolethal distending toxin positive and negative *Campylobacter jejuni* strains. *Journal of Medical Microbiology*, v.57, p.267-272, 2008.

JEON, B.; ITOH, K.; RYU, S. Promoter analysis of cytolethal distending toxin genes (*cdtA*, B and C) and effect of *luxS* mutation on CDT production in *Campylobacter jejuni*. ***Microbiology and Immunology***, v.49, n.7, p.599-603, 2005.

KETLEY, J. M. Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. ***Microbiology Reading***, n.143, p.5-21, 1997.

KONKEL, M. E.; MONTEVILLE, M. R.; RIVERA-AMILL, V.; JOENS, L. A. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated Enteritis. ***Current Issues in Intestinal Microbiology***, v.2, n.2, p.55-71, 2001.

MACKIW, E.; KORSACK, D.; RZEWUSKA, K.; TOMCZUK, T.; ROZYNEK, E. Antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food in Poland. *Food Control*, v.23, p.297-301, 2012

MALAKAUSKAS, M.; JORGENSEN, K.; NIELSEN, E. M.; OJENIYI, B.; OLSEN, J. E. Isolation of *Campylobacter* spp. From a pig slaughterhouse and analysis of cross-contamination. *International Journal of Food Microbiology*, v. 108, p. 295-300, 2006.

MARTINEZ, I.; MATEO, E.; CHURRUCA, E.; GIRBAU, C.; ALONSO, R. FERNANDEZ-ASTORGA, A. Detection of *cdtA*, *cdtB*, and *cdtC* genes in *Campylobacter jejuni* by multiplex PCR. *International Journal of Medical Microbiology*, v.296, p.45-48, 2006.

MEAD, P. S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; MCCAIG, L. F.; BRESEE, J. S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P. M.; TAUXE, R. V. Food-Related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v.5, n.5, p.607-625, 1999.

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

NACHAMKIN, I. *Campylobacter jejuni*. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R. **Food Microbiology: fundamental and frontiers**. 3th ed. Washington: ASM Press, 2007. p. 237-248.

NESBAKKEN, T.; ECNER, K.; HOIDAL, H.K.; ROTTERUD, O.J. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection slaughtering, and dressing procedures. *International Journal of Food Microbiology*, v.80, p. 231-240, 2003.

OYOFO, B. H.; THORNTON, S. A.; BURR, D. H.; TRUST, T. J.; PAVLOVSKIS, O. R.; GUERRY, P. Specific detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v.30, p.2613-2619, 1992.

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

PEARCE, R. A.; WALLACE, F. M.; CALL, J. E.; DUDLEY, R. L.; OSER, A.; YODER, L.; SHERIDAN, J. J.; LUCHANSKY, J. B. Prevalence of *Campylobacter* within a swine slaughter and processing facility. *Journal of Food Protection*, v.66, p.1550-1556, 2003.

RASSCHAERT, G.; HOUF, K.; IMBERECHTS, H.; GRIJSPEERDT, K.; DE ZUTTER, L.; HEYNDRICKX, M. Comparison of five repetitive-sequence-based PCR typing methods for molecular discrimination of *Salmonella enterica* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, v.43, n.8, p.3615–3623, 2005.

ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H. J. A. Factors of significance for pork quality – a review. *Meat Science*, v. 64, p.219-237, 2003.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SILVA, D. T.; TEJADA, T. S.; CUNHA, C. C.; LOPES, N. A.; AGOSTINETTO, A.; COLLARES, T.; LEON, P. M. M.; TIMM, C. D. Ocorrência de *Campylobacter* em carne de frango, fezes de frango e humanas e pesquisa dos genes *cdt*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.66, n.1, p.297-304, 2014.

STEINHAUSEROVA, I.; FOJTIKOVA, K.; MATIASOVIC, J.. Subtyping of *Campylobacter* spp. strains and their incidence in piglets. *Acta Veterinaria*, v. 70, p.197–201, 2001.

TADESSE, D. A.; BAHNSON, P. B.; FUNK, J. A.; THAKUR, S.; MORROW, W. E.; WITTUM, T.; DEGRAVES, F.; RAJALA-SCHULTZ, P.; GEBREYES, W. A. Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Campylobacter* spp. isolated from conventional and antimicrobial-free swine production systems from different U.S. regions. **Foodborne Pathogens and Diseases**, v.8, p.367–374, 2011.

TENOVER, F. C.; ARBEIT, R. D.; GOERING, R. V.; MICKELSEN, P. A.; MURRAY, B. E.; PERSING, D. H.; SWAMINATHAN, B. Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing. *Journal of Clinical Microbiology*, v.33, n.9, p.2233-2239, 1995.

TOTTEN, P. A.; PATTON, C. M.; TENOVER, F. C.; BARRETT, T. J.; STAMM, W. E.; STEIGERWALT, A. G.; LIN, J. Y.; HOLMES, K. K.; BRENNER, D. J. Prevalence and characterization of hippurate-negative *Campylobacter jejuni* in King County, Washington. **Journal of Clinical Microbiology**, v.25, n.9, p.1747-1752, 1987.

VANDAMME, P.; DEL LEY, J. Proposal for a new family, *Campylobacteriaceae*. **International Journal Systematic Bacteriology**, v.41, p.451-455, 1991.

VARELA, N. P.; FRIENDSHIP, R. M.; DEWEY, C. E. Prevalence of *Campylobacter* spp. isolated from grower-finished pigs in Ontario. **Canadian Veterinary Journal**, v.48, n.5, p.515-517, 2007.

VERSALOVIC, J.; SCHNEIDER, M.; DE BRUIJN, F. J.; LUPSKI, J. R. Genomic fingerprinting of bacteria with repetitive sequencebased polymerase chain reaction. *Methods in Molecular and Cellular Biology*, v.5, p.25–40, 1994.

WELKER, C. A. D.; BOTH, J. M. C.; LONGARAY, S. M.; HAAS, S.; SOEIRO, M. L. T.; RAMOS, R. C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociência*, Porto Alegre, v.8, n.1, p.44-48, 2010.

WHITEHOUSE, C. A.; BALBO, P. B.; PESCI, E. C.; COTTLE, D. L.; MIRABITO, P. M.; PICKETT, C. L. *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin causes a G2-phase cell cycle block. *Infection and Immunity*, v.66, p.1934–1940, 1998.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), 2011. **Campylobacter – Fact sheet n° 255**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/en/>>. Acesso em: 10 out. 2015.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), 2013a. Foodborne disease. Disponível em: <[http://www.who.int/foodsafety/foodborne\\_disease/en/](http://www.who.int/foodsafety/foodborne_disease/en/)>. Acesso em: 01 nov. 2015.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), 2013b. The global view of campylobacteriosis: report of an expert consultation, Utrecht, Netherlands, 9-11 July 2012.



WIECZOREK, K.; OSEK, J. Identifications of virulence genes in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolates by PCR. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, v.52, p.211-216, 2008.

WINTERS, D. K.; SLAVIK, M. F. Evaluation of a PCR based assay for specific detection of *Campylobacter jejuni* in chicken washes. *Molecular and Cellular Probes*, v.9, p.307-310, 1995.

ZILBAUER, M.; DORRELL, N.; WREN, B. W.; BAJAJ-ELLIOTT, M. In: *Campylobacter jejuni – mediated disease pathogenesis: an update*. Transactions of the Royal of Tropical Medicina and Hygiene, v.102, p.123-129, 2008.

## **Anexos**

## ANEXO A – Aprovação no Comitê de Ética em Experimentação Animal



Pelotas, 20 de novembro de 2015

**De:** M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix  
*Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)*

**Para:** Prof. Cláudio Dias Timm  
*Departamento Veterinária Preventiva – Faculdade de Veterinária*

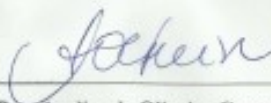
Senhor Professor:


A CEEA analisou o projeto intitulado: “Comportamento de micro-organismos patogênicos no fluxograma de abate de suínos”, processo nº23110.003313/2015-62, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, Subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução, pois está de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

**Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.**

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao COBALTO para posterior registro no COCEPE (código para cadastro nº CEEA 3313-2015).

Vigência do Projeto: 21/11/2014 a 31/12/2016  
Espécie/Linhagem: Suína/Indefinida  
Nº de animais: 200  
Idade: 0-4 anos  
Sexo: Variado  
Origem: Granja de Suínos

  
\_\_\_\_\_  
**M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix**  
*Presidente da CEEA*

Assinatura do Professor Responsável:  **Cláudio Dias Timm** /2015