

KEILY ALVES DE MOURA OLIVEIRA

**PREVALÊNCIA DE *Campylobacter* spp. E *Enterococcus* spp. NO
AMBIENTE DE CRIAÇÃO DE FRANGO DE CORTE**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para a obtenção do título de “Doctor
Scientiae”

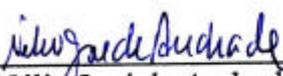
VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

KEILY ALVES DE MOURA OLIVEIRA

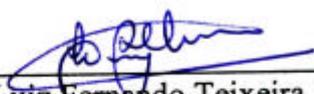
PREVALÊNCIA DE *Campylobacter* spp. E *Enterococcus* spp. NO AMBIENTE DE CRIAÇÃO DE FRANGO DE CORTE

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para a obtenção do título de “Doctor
Scientiae”

APROVADA: 22 de março de 2006



Prof. Nélcio José de Andrade
(Conselheiro)



Prof. Luiz Fernando Teixeira Albino
(Conselheiro)



Prof. José Benício Paes Chaves



Dra. Regina Silva de Siqueira



Prof.^ª Regina Célia Santos Mendonça
(Orientadora)

A Deus, razão maior da minha existência por ter me dado oportunidade,
capacidade e sabedoria para realização deste trabalho.

Aos meus queridos pais, Ladisvaldo e Valdecy, pelo amor, incentivo, apoio
e confiança em mim depositada,

Ao meu amado Glauco, por participar sempre comigo em minhas vitórias e
pelo apoio, carinho e incentivo em todos os momentos desta minha
caminhada.

A minha querida irmã Daiany, pois a distância nos aproximou

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar vida, pela presença, orientação, direção e conforto em todos momentos da minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização deste curso.

A Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Regina Célia Santos Mendonça, pois se permitiu ser mais do que minha orientadora, sendo uma grande amiga. Agradeço pela orientação, amizade, confiança, apoio e ensinamentos, imprescindíveis para realização deste trabalho. Levarei muitas lembranças dos momentos alegres e difíceis que compartilhamos e espero sempre poder contar com suas orientações e experiências ao longo da minha vida profissional.

Aos professores Luiz Fernando Teixeira Albino e Nélio José de Andrade por se apresentarem sempre acessíveis e dispostos a me auxiliar na condução desse trabalho e pela atenção, avaliação crítica e valiosas sugestões, sempre oportunas.

Aos meus pais, pois eles foram o início de tudo. A concretização desse trabalho é um sonho nosso.

Ao meu esposo e eterno namorado, por sua presença em todos os momentos. Sem você Viçosa não seria a mesma.

A minha amiga Miriam, que mesmo distante posso contar sempre com sua amizade, companheirismo nos momentos alegres e também nas horas de desânimo.

Aos meus amigos da Primeira e Segunda Igreja Batista de Viçosa, da ABU-Pós pelos bons momentos partilhados juntos.

À Fernanda, Arthur, Aurélia, Érica e Daniele, pelo auxílio na realização deste trabalho.

A todos os funcionários do DTA, em especial: D. Lígia, Vandick, Piu, Sr Manoel, Sr. Luiz, Vânia, Sueli, Maria Rita, Geralda e Tomaz, pela ajuda e amizade.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

KEILY ALVES DE MOURA OLIVEIRA, filha de Ladisvaldo Machado de Moura e Valdecy Alves de Moura, nasceu em Goiânia, Estado de Goiás, em 04 de novembro de 1975.

Em março de 1994, ingressou na Universidade Católica de Goiás – UCG, onde, em setembro de 1998, graduou-se em Zootecnia.

Em fevereiro de 2000, iniciou o curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, defendendo a dissertação em fevereiro de 2002.

Em março de 2002, iniciou o curso de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, defendendo a tese em março de 2006.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS-----	ix
LISTA DE FIGURAS-----	xi
RESUMO-----	xiii
ABSTRACT-----	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL-----	1
2. OBJETIVOS GERAIS-----	3
CAPÍTULO 1. APLICAÇÃO DE MEDIDAS DE BIOSSEGURANÇA NA CRIAÇÃO DE FRANGO DE CORTE-----	4
1.1. INTRODUÇÃO-----	4
1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA-----	6
1.2.1. Adoção de medidas de biossegurança no ambiente de criação de frango de corte-----	6
1.3. MATERIAL E MÉTODOS-----	12
1.3.1. Coleta de dados-----	12
1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	15
1.4.1. Avaliação das condições de infra-estrutura e higiênico- sanitário dos galpões-----	15
1.4.1.1. Galpão convencional-----	15
1.4.1.2. Galpão automatizado-----	17
1.4.1.3. Cartilha-----	22
1.5. CONCLUSÕES-----	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	50
CAPÍTULO 2. CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DO AMBIENTE DE CRIAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE POR <i>Campylobacter</i> spp. E <i>Enterococcus</i> spp.-----	53

2.1. INTRODUÇÃO-----	53
2.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA-----	56
2.2.1. Prevalência de <i>Campylobacter</i> spp. no ambiente de criação de frango de corte-----	56
2.2.2. A importância de <i>Enterococcus</i> spp. para a indústria de alimentos-----	62
2.3. MATERIAL E MÉTODOS-----	66
2.3.1. Amostragem-----	66
2.3.2. Análises microbiológicas-----	68
2.3.2.1. Preparo das amostras-----	68
2.3.2.2. <i>Campylobacter</i> spp.-----	68
2.3.2.3. <i>Enterococcus</i> spp.-----	69
2.3.3. Provas bioquímicas-----	69
2.3.3.1. <i>Campylobacter</i> spp.-----	69
2.3.3.2. <i>Enterococcus</i> spp.-----	69
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	70
2.4.1. Avaliação do ambiente de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado nas estações de inverno e verão -----	70
2.4.1.1. Análise físico-química da água de abastecimento -----	70
2.4.1.2. Características ambientais -----	71
2.4.2. Prevalência de <i>Campylobacter</i> spp.e <i>Enterococcus</i> spp.em diferentes fases de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado na estação de inverno --	71
2.4.3. Prevalência de <i>Campylobacter</i> spp.e <i>Enterococcus</i> spp.em diferentes fases de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado na estação de verão-----	77
2.4.4. Identificação Bioquímica -----	79
2.4.4.1. <i>Campylobacter</i> spp.-----	79
2.4.4.2. <i>Enterococcus</i> spp.-----	79
2.5. CONCLUSÕES-----	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	82
ANEXOS-----	87
CAPÍTULO 3. PERFIL DE RESISTÊNCIA DE <i>Campylobacter jejuni</i> E <i>Enterococcus faecium</i> e <i>Enterococcus faecalis</i> A DIFERENTES ANTIBIÓTICOS ISOLADOS DO AMBIENTE DE CRIAÇÃO DE FRANGO DE CORTE---	96
3.1. INTRODUÇÃO-----	96

3.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA-----	98
3.2.1. Uso de promotores de crescimento na produção de frango de corte-----	98
3.2.2. Importância e principais mecanismos de ação dos antibióticos ---	103
3.2.3. Resistência microbiana -----	106
3.2.4. Resistência a antibióticos de <i>Campylobacter</i> isolados de frango de corte-----	108
3.2.5. Resistência a antibióticos de <i>Enterococcus</i> isolados de frango de corte-----	111
3.3. MATERIAL E MÉTODOS-----	116
3.3.1. Obtenção das cepas-----	116
3.3.2. Teste de resistência a antibióticos-----	117
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	119
3.4.1. Avaliação do perfil de resistência de <i>Campylobacter jejuni</i> isolados do ambiente de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado nas estações de inverno e verão-----	119
3.4.2. Avaliação do perfil de resistência de <i>Enterococcus faecium</i> e <i>Enterococcus faecalis</i> isolados do ambiente de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado nas estações de inverno e verão-----	122
3.5. CONCLUSÕES-----	126
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	127
RESUMO E CONCLUSÕES-----	135
ANEXOS-----	137

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 1-----	4
Tabela 1. Questionário de avaliação das condições de infra-estrutura e higiênico-sanitário de granjas de criação de frango de corte-----	13
CAPÍTULO 2-----	53
Tabela 1. Espécies de <i>Campylobacter</i> patogênicos e seus reservatórios -----	61
Tabela 2. Análise físico-química e microbiológica da água de abastecimento dos sistemas convencional e automatizado -----	70
Tabela 3. Prevalência (%) de <i>Campylobacter</i> spp. e <i>Enterococcus</i> spp. Em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação nos sistemas de criação convencional e automatizado durante a estação de inverno do ano de 2003-----	73
Tabela 4. Prevalência (%) de <i>Campylobacter</i> spp. e <i>Enterococcus</i> sp. em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação nos sistemas de criação convencional e automatizado durante a estação de verão do ano de 2004-----	78
Tabela 5. Prevalência (%) de <i>Campylobacter</i> spp. e <i>Enterococcus</i> spp. nos diferentes quadrantes em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação no sistema convencional durante a estação de inverno do ano de 2003-----	94
Tabela 6. Prevalência (%) de <i>Campylobacter</i> spp. e <i>Enterococcus</i> spp. nos diferentes quadrantes em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação no sistema convencional durante a estação de verão do ano de 2004-----	94
Tabela 7. Prevalência (%) de <i>Campylobacter</i> spp. e <i>Enterococcus</i> spp. nos diferentes quadrantes em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação no sistema automatizado durante a estação de inverno do ano de 2003-----	95
Tabela 8. Prevalência (%) de <i>Campylobacter</i> spp. e <i>Enterococcus</i> spp. nos diferentes quadrantes em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação no sistema automatizado durante a estação	

de verão do ano de 2004-----	95
CAPÍTULO 3-----	96
Tabela 1. Distribuição de bactérias intestinais em frangos de corte -----	98
Tabela 2. Antimicrobianos usados como promotores de crescimento-----	103
Tabela 3. Perfil de resistência de cepas de <i>Campylobacter jejuni</i> isolados do sistema convencional de criação de frangos de corte- estação do inverno -----	138
Tabela 4. Perfil de resistência de cepas de <i>Campylobacter jejuni</i> isolados do sistema convencional de criação de frangos de corte- estação do verão-----	139
Tabela 5. Perfil de resistência de cepas de <i>Campylobacter jejuni</i> isolados do sistema automatizado de criação de frangos de corte- estação do inverno-----	140
Tabela 6. Perfil de resistência de cepas de <i>Campylobacter jejuni</i> isolados do sistema automatizado de criação de frangos de corte- estação do verão-----	141
Tabela 7. Perfil de resistência de cepas de <i>E. faecium</i> e <i>E. faecalis</i> isolados do sistema convencional de criação de frangos de corte-estação do inverno-----	142
Tabela 8. Perfil de resistência de cepas de <i>E. faecium</i> e <i>E. faecalis</i> isolados do sistema convencional de criação de frangos de corte-estação do verão-----	143
Tabela 9. Perfil de resistência de cepas de <i>E. faecium</i> e <i>E. faecalis</i> isolados do sistema automatizado de criação de frangos de corte-estação do inverno-----	145
Tabela 10. Perfil de resistência de cepas de <i>E. faecium</i> e <i>E. faecalis</i> isolados do sistema automatizado de criação de frangos de corte-estação do verão-----	146

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1-----	4
Figura 1. Cadeia de componentes de um programa de biossegurança-----	8
CAPÍTULO 2.-----	53
Figura 1. Organograma dos diferentes fatores avaliados-----	67
Figura 2. Tipos de ração oferecidas as aves-----	67
Figura 3. Dados meteorológicos do verão de 1999 da Cidade de Viçosa-----	88
Figura 4. Dados Meteorológicos do verão de 2000 da Cidade de Viçosa -----	88
Figura 5. Dados meteorológicos do verão de 2001 da Cidade de Viçosa -----	89
Figura 6. Dados meteorológicos do verão de 2002 da Cidade de Viçosa -----	89
Figura 7. Dados meteorológico do verão de 2003 da Cidade de Viçosa -----	90
Figura 8. Dados meteorológicos do verão de 2004 da Cidade de Viçosa -----	90
Figura 9. Dados meteorológicos do inverno de 1999 da Cidade de Viçosa -----	91
Figura 10. Dados meteorológicos do inverno de 2000 da Cidade de Viçosa -----	91
Figura 11. Dados meteorológicos do inverno de 2001 da Cidade de Viçosa -----	92
Figura 12. Dados meteorológicos do inverno de 2002 da Cidade de Viçosa -----	92
Figura 13. Dados meteorológicos do inverno de 2003 da Cidade de Viçosa -----	93
Figura 14. Dados meteorológicos do inverno de 2004 da Cidade de Viçosa -----	93
CAPÍTULO 3-----	96
Figura 1. Número de colônias selecionadas do ambiente de criação de frango de corte para avaliação do perfil de resistência a diferentes antibióticos----	116
Figura 2. Número de colônias selecionadas da ração ministradas as aves para avaliação do perfil de resistência a diferentes antibióticos-----	117

- Figura 3. Perfil de resistência de *Campylobacter jejuni* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação convencional nas estações de inverno e de verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; NAL – Ácido Nalidíxico; AZ – Azitromicina; CF – Cefalotina; CIP – Ciprofloxacina)----- 120
- Figura 4. Perfil de resistência de *Campylobacter jejuni* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação automatizado nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; NAL – Ácido Nalidíxico; AZ – Azitromicina; CF – Cefalotina; CIP – Ciprofloxacina)----- 120
- Figura 5. Perfil de resistência de *E. faecium* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação convencional nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; QP – Quinupristina-dalfopristina)----- 124
- Figura 6. Perfil de resistência de *E. faecium* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação automatizado nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; QP – Quinupristina-dalfopristina)----- 124
- Figura 7. Perfil de resistência de *E. faecalis* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação convencional nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; QP – Quinupristina-dalfopristina)----- 125
- Figura 8. Perfil de resistência de *E. faecalis* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação automatizado nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; QP – Quinupristina-dalfopristina)----- 125

RESUMO

OLIVEIRA, Keily Alves de Moura, D.S., Universidade Federal de Viçosa, Março de 2006. **Prevalência de *Campylobacter* spp. e *Enterococcus* spp. no ambiente de criação de frango de corte.** Orientadora: Regina Célia Santos Mendonça. Conselheiros: Nélio José de Andrade e Luiz Fernando Teixeira Albino.

Com a crescente preocupação com a segurança dos alimentos, o controle de microrganismos como *Campylobacter* e *Enterococcus* ainda no nível de granja é visto como essencial na redução de zoonoses veiculadas pela carne. Os objetivos deste trabalho foram realizar a caracterização de granjas de criação de frango de corte; avaliar a qualidade microbiológica do ambiente de criação de frangos de corte nos sistemas de criação convencional e automatizado, nas estações de inverno e verão; avaliar o grau de resistência a diferentes antibióticos de *Campylobacter jejuni* e *Enterococcus faecium* e *E. faecalis* e propor mecanismos de controles que permitam minimizar a contaminação e a disseminação destes microrganismos entre lotes e a unidade de abate de modo a impedir que tais problemas atinjam o consumidor. Constatou-se que não ocorreu interferência da estação do ano no grau de contaminação por *Campylobacter* e *Enterococcus* dos ambientes nos sistemas de criação convencional e automatizado. Mediante as respostas obtidas nos questionários e na avaliação visual “in loco” das granjas notou-se que as más condições de higiene associada à ausência de um programa de biossegurança são

fatores que podem permitir incidência de alta contaminação por diferentes microrganismos. Não foi detectada a presença de *Campylobacter* e *Enterococcus* nas análises realizadas após o período de vazio sanitário do galpão, nos dois sistemas de criação. Observou-se ainda que independente do sistema de criação utilizado e estação do ano, foi possível detectar *Campylobacter* e *Enterococcus* ao longo do período de criação das aves. Na identificação bioquímica, as cepas de *Campylobacter* foram identificadas como *C. jejuni*. Já em relação as cepas de *Enterococcus*, 90% dos isolados foram *E. faecium* e 10 % *E. faecalis*. Na avaliação do perfil de resistência de *C. jejuni*, as maiores percentagens de resistência foram observadas para os antibióticos sulfonamidas, tetraciclina, eritromicina e penicilina. Para as cepas de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* a maior percentagem de resistência foi observada para o antibiótico penicilina. Os resultados obtidos sugerem a adoção de medidas de controle visando reduzir a contaminação com estes patógenos desde o incubatório, na granja e na indústria de processamento, de tal forma que a criação de um programa de treinamento de mão de obra e a adoção de boas práticas agropecuárias possa interromper ou minimizar o ciclo de contaminação pelos patógenos. Sugere-se ainda que novos estudos no Brasil sejam realizados visando conhecer o perfil de resistência destes e de outros microrganismos de interesse, tanto em animais como humanos a fim de definir estratégias de controle do consumo de antibióticos na produção animal.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Keily Alves de Moura, D.S., Universidade Federal de Viçosa, March 2006. **Prevalence of *Campylobacter* spp. and *Enterococcus* spp. in rearing environment of broiler-farm.** Adviser: Regina Célia Santos Mendonça. Committee members: Nélio José de Andrade and Luiz Fernando Teixeira Albino.

Last decades, the interest on food safety has grown. Thus, the control of microorganisms such as *Campylobacter* e *Enterococcus* at broiler farm has been seen as crucial to reduce zoonosis from meat. The aims of this study were to realise the characterisation of rearing birds broiler farm; to evaluate the microbiological quality of rearing bird environment from conventional and automated systems in winter and in summer seasons; to evaluate the sensibility of *Campylobacter jejuni* e *Enterococcus faecium* e *E. faecalis* to different antibiotics. It was also to suggest ways to control for minimising contamination and dissemination by these bacteria among batch and slaughter units before consumers have been affected. From results obtained, it was observed that the seasons did not influence in the incidence of contamination by *Campylobacter* e *Enterococcus* on both systems. The answers of survey applied and also from visual evaluation at broiler farm, it could be noted that poor conditions of hygienic in association with lack of a biosafety program were factors that could allow high level of contamination by different micro-organisms. After all-in-all-out time, on both systems, the presence of *Campylobacter* e

Enterococcus was not detected. It was also observed that their presence was independent for growth systems or year seasons during rearing birds time. Most of the isolates from *Campylobacter* were identified as *C. jejuni* by biochemical profile. In relation to the isolates from *Enterococcus*, 90% were *E. faecium* and 10 % were *E. faecalis*. The resistance profile the most percentage obtained for resistance were observed for the following antibiotics: sulfonamide, tetracycline, erythromycin, penicilin. Whist, the isolates of *E. faecium* and *E. faecalis* the highest resistance was observed for penicilin. From the results obtained It was observed that proper measures have to take to reduce the contamination by these pathogens from hatchery to broiler farm and processing industry. Thus, control programmes need to be place with training of workers and applying Good Agricultural Practice to obstruct or to minimise by pathogens contamination cycle. It is also suggested that, in Brazil, new studies have to be done to know about the resistance profile from these and other important micro-organisms from animals and human being in order to establish control strategies for antibiotics consume on animal production.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Ao entrar no século XXI, a humanidade viu expandir um conceito que se supunha, já não seria mais passível de qualquer discussão ou contestação: Segurança alimentar. A combinação do desenvolvimento de pesquisas inéditas com a facilidade de acesso aos seus resultados permite concluir que, diante das atuais condições de vida do homem, é essencial controlar o que está sendo consumido como alimento: e isto significa garantir a segurança do consumidor.

O Brasil é hoje o terceiro maior produtor e o primeiro exportador mundial de frangos. Incentivada pelo constante crescimento na produção de frangos de corte, a indústria de abate e processamento experimenta um grande desenvolvimento tecnológico, sofisticando seus produtos e disputando cada vez mais os mercados internacionais. Por isto, cada vez mais o conceito de qualidade total deve ser compreendido e executado por todos os segmentos da cadeia de produção de frango de corte indo, desde o produtor até abatedouro.

A inocuidade dos alimentos de origem animal destinado ao consumo humano se transformou em um elemento essencial dos debates sobre saúde pública tanto em nível nacional como internacional. À medida que o comércio internacional se intensifica, a questão de equivalência dos sistemas de segurança alimentar e dos métodos e técnicas usadas para avaliação dos riscos alimentares têm crescido em importância.

Tradicionalmente, a preocupação básica em matéria de segurança alimentar se centrava na eventual presença de resíduos químicos presentes no meio ambiente, de medicamentos ou outros agentes tóxicos susceptíveis de acúmulo nos tecidos animais. Todavia, recentes descobertas de patógenos microbianos inócuos aos animais, mas nocivos ao homem, mudaram esta perspectiva. Microrganismos como *Campylobacter*, *Enterococcus* entre outros constituem exemplos destes patógenos emergentes. Além de causar transtornos digestivos agudos às pessoas afetadas, alguns destes patógenos causam efeitos crônicos de longa duração. A contaminação das aves por tais patógenos se dá por exposição horizontal direta ou indireta. A intensificação da produção avícola, associada à maior densidade de criação e a mecanização dos sistemas produtivos inerentes ao elevado rendimento que exige o mercado, muito competitivo, contribuíram para elevar as taxas de contaminação das aves. O controle de patógenos ainda no ambiente da granja é visto como o princípio de ações essenciais na redução da mortalidade devido a zoonoses veiculadas pela carne.

Atualmente a maior ocorrência de episódios mundiais que amedrontam e intimidam o consumo de produtos alimentícios de origem animal, marcam a necessidade de implantação de um programa de rastreabilidade na indústria avícola. A tendência dos importadores é crescente no que se refere ao enquadramento do exportador nas regras internacionais relativas a Alimentos Seguros. Portanto, a segurança alimentar implica no desenvolvimento de um novo conceito: o da rastreabilidade - muito mais amplo do que se imaginava a princípio, pois deixou de ser aplicado a partir da indústria (como já era comum), passando a estender-se do "campo à mesa", desde os processos iniciais de produção da matéria-prima do futuro alimento, ou seja, integrou o produtor primário (criador) à cadeia produtiva, passando a co-responsabilizá-lo pela qualidade do produto final.

Portanto, nas circunstâncias atuais, a adoção de medidas de controle prévias e posteriores ao abate das aves poderá ser de grande valor para a indústria avícola, pois permitirá a redução da contaminação por patógenos, evitando que produtos contaminados cheguem até o consumidor.

2. OBJETIVOS GERAIS

Os objetivos deste trabalho foram:

- ✓ Verificar que fatores no ambiente de criação de aves são mais relevantes na prevalência da contaminação microbiana;
- ✓ Propor mecanismos de controles que permitam minimizar a contaminação e a disseminação desta etiologia entre lotes e a unidade de abate de modo a impedir que tais problemas atinjam o consumidor.
- ✓ Avaliar a qualidade microbiológica de frangos de corte criados em dois sistemas de criação (convencional e automatizado), nas estações de inverno e verão com relação à presença dos gêneros de *Campylobacter* e *Enterococcus*;
- ✓ Identificar a partir dos microrganismos isolados, quais espécies predominam no ambiente de criação e no lote avaliado, por meio de testes bioquímicos, buscando caracterizar isolados de *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*;
- ✓ Avaliar o grau de resistência a diferentes antibióticos das espécies identificadas;

CAPÍTULO 1

APLICAÇÃO DE MEDIDAS DE BIOSSEGURANÇA NA CRIAÇÃO DE FRANGO DE CORTE

1.1. INTRODUÇÃO

No mundo atual, globalizado, busca-se cada vez mais conciliar produtividade com qualidade a partir da redução e da eliminação de desperdícios, de defeitos e de ineficiência durante o processo produtivo. A contaminação de um alimento pode gerar prejuízos não apenas para a empresa envolvida, mas para o setor da atividade como um todo. Na maior parte dos casos, os consumidores não estão aptos a distinguir os produtos contaminados dos não contaminados, optando simplesmente por não adquirir produtos associados ao problema.

As causas dos problemas associados aos alimentos são chamadas de perigos e com certeza os microrganismos são os principais responsáveis por eles, existindo ainda os perigos de contaminação física ou química.

As carnes são, de modo geral, fontes potenciais de diversos microrganismos patogênicos que podem levar ao surgimento de doenças, apresentando altos custos para a sociedade. Por isso, nos últimos anos, a indústria de carnes tem recebido fortes pressões, sobretudo pelo mercado externo, para melhorar a qualidade dos seus produtos, aumentar a vida de prateleira e obter aceitação dos seus produtos pelos consumidores.

Grande parte da ascensão da avicultura mundial, especialmente da brasileira, está relacionada com os avanços tecnológicos no setor, especialmente nas áreas de genética, de sanidade e de nutrição que, juntas contribuíram para a evolução do setor, com queda constante dos preços pagos pelos consumidores, viabilizando assim, o grande crescimento no consumo. Contudo, mesmo com o grande avanço tecnológico e organizacional da avicultura nas últimas décadas, o setor ainda se depara com diversos problemas a serem solucionados.

Atualmente a segurança alimentar implica no desenvolvimento de um novo conceito: o da rastreabilidade - muito mais amplo do que se imaginava a princípio, pois deixou de ser aplicado a partir da indústria como já era comum, passando a estender-se do "campo à mesa". Engloba desta forma desde os processos iniciais de produção da matéria-prima do futuro alimento, ou seja, passou a integrar o produtor primário ou criador à cadeia produtiva, passando a co-responsabilizá-lo pela qualidade do produto final.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o ambiente de criação de frangos de corte nos sistemas de criação convencional e automatizado, bem como as condições de manejo adotadas.

1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1. Adoção de medidas de biossegurança no ambiente de criação de frango de corte

O controle microbiológico ainda na granja pode ser considerado o princípio de ações essenciais na redução da mortalidade devido a zoonoses veiculadas pela carne. Aves criadas intensivamente são mais propensas a contaminações por patógenos como *Salmonella*, *Campylobacter*, dentre outros (BAILEY et al., 1987).

Agentes infecciosos podem ser introduzidos ou transmitidos às aves por várias rotas. A transmissão direta, que envolve o contato ave-ave, ocorre quando aves infectadas entram em um lote via contaminação de reprodutores ou incubatório. A transmissão indireta ocorre quando as aves são infectadas pelo contato com objetos contaminados, como veículos, alimentos ou água. São também carreadores potenciais de enfermidades para as aves: o homem que pode carrear microrganismos nas mãos, nas roupas e nos calçados e as aves silvestres, os roedores e os insetos (NESPECA et al., 1997; RUSSA, et al., 2005).

A prevalência de patógenos em animais domésticos como cães e gatos também é uma importante fonte de contaminação para as aves. LÓPEZ et al. (2002) ao avaliarem a prevalência de *Campylobacter jejuni* em cães e em gatos em Buenos Aires, detectaram a presença do microrganismo em ambos animais, sugerindo que estes podem também atuar como reservatório de contaminação. Os autores ressaltam ainda que, principalmente, os cães, são carreadores assintomáticos, uma vez que, não

apresentam sintomas clínicos. Outros estudos mostram que cães e gatos podem ter importante papel na transmissão de *Campylobacter* a aves e ao homem (BOURKE et al., 1998).

A adoção de medidas de biossegurança é importante para a prevenção e controle de doenças infecciosas. 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, fungos e/ou parasitas. Isto é alcançado via manutenção de um menor fluxo possível de organismos biológicos tais como: vírus, bactérias, parasitas, fungos, roedores, animais silvestres, pessoas, etc (JAENISCH, 1998).

A biosseguridade apresenta basicamente oito componentes que funcionam como uma corrente, ou seja, o sucesso só será alcançado quando todos os elos estiverem firmemente unidos uns aos outros. Cada um destes elos necessita de permanente manutenção e revisão para se evitar pontos de enfraquecimento na corrente e a conseqüente falha na biosseguridade do sistema (ANTUNES, 2004a; SESTI, 2000). Os componentes básicos são (Figura 1):

- ✓ Isolamento total da propriedade para evitar a entrada de qualquer animal que possa atuar como vetor de transmissão de doenças.
- ✓ Controle e monitoramento do tráfego de pessoas, de veículos e de equipamentos.
- ✓ Higienização e desinfecção constante da propriedade.
- ✓ Realização da quarentena/medicação/vacinação das aves sempre que necessário.
- ✓ Monitoramento, registro e comunicação de resultados do plantel.
- ✓ Erradicação de doenças.
- ✓ Realização de auditoria (técnica e de qualidade).
- ✓ Educação continuada.



Figura 1. Cadeia de componentes de um programa de biossegurança
 Fonte: SESTI (2000)

O programa de biossegurança pode ser dividido em duas etapas (SESTI, 2000; DUPONT, 2004):

1. Biossegurança Terminal: Tem por objetivo prevenir a introdução de microrganismos patogênicos, assegurando assim que cada novo lote ao chegar a granja encontrará um ambiente completamente limpo e desinfetado. Falhas nas medidas de biossegurança fazem com que lotes de aves contaminadas por microrganismos, necessitem de atenção especial nos procedimentos de desinfecção terminal (na retirada do lote) para remover possível infecção persistente. Similarmente, em todos os locais, há o risco de contaminação, portanto, uma efetiva desinfecção terminal é essencial para bloquear o ciclo de contaminação no galpão. As principais medidas corretivas adotadas na Biossegurança Terminal são:

- Realização de uma efetiva limpeza e desinfecção tanto do sistema de abastecimento de água, quanto do sistema de abastecimento de ração.
- Remoção de todo resíduo de alimento no sistema de abastecimento de ração e silo.
- Limpeza e desinfecção de todos os equipamentos antes da entrada do lote de frango de corte no galpão com particular atenção dada a equipamentos móveis e áreas prováveis de estarem contaminadas.
- Uso de tanque de imersão, para lavagem dos equipamentos.
- Manutenção dos pisos de concreto em bom estado de conservação.

- ☛ Revestimento interno do galpão deve ser liso e impermeável com conserto de qualquer buraco em paredes onde animais silvestres possam ter acesso evitando contaminações.

- ☛ Vigas e equipamentos nos galpões devem ter superfícies horizontais mínimas e bordas que reduzem a deposição de pó.

- ☛ Todos os cantos e ante-salas devem ser varridos regularmente.

- ☛ Efetiva limpeza e desinfecção de todas as áreas externas e superfícies adjacentes do galpão.

- ☛ Efetivo controle de besouros

- ☛ Efetivo controle de coccidia e ovos de larvas.

- ☛ Correto “design” do galpão de forma a prevenir a entrada de roedores e o estabelecimento de um programa de controle usando produtos efetivos contra estes animais.

- ☛ Remoção de toda vegetação nas proximidades do galpão das aves (e não armazenar equipamentos próximos ao galpão para não atrair roedores).

- ☛ Armazenamento de todo o material usado como cama visando minimizar umidade e contato com animais silvestres.

2. Biossegurança Contínua: tem por objetivo prevenir a introdução, a incidência e a expansão de doenças na granja ao longo do período de criação das aves. Na granja são feitas várias tentativas para minimizar as infecções das aves por patógenos. Rotinas do programa de biossegurança contínua levam em consideração os eventuais problemas de doenças que acontecem em fases diferentes da produção. Portanto, várias medidas higiênicas são requeridas para uma biossegurança efetiva nos galpões durante a criação de aves.

As principais medidas corretivas adotadas na Biossegurança Contínua são:

- ☛ Uso de botas para os funcionários que trabalham com as aves.

- ☛ Remoção de sujeiras visíveis nas botas pelo uso de mangueira e/ou escova antes da desinfecção.

- ☛ Providenciar pedilúvios para todos os galpões e abastecê-los com desinfetantes regularmente.

- ☛ Uso de rodolúvios e para assegurar a remoção de todos os microrganismos, devendo-se usar um produto com efetiva ação biocida por imersão das rodas dos veículos e/ou borrifamento nas entradas das granjas e áreas de carregamento.

- ☛ Lavar as mãos ao entrar e sair do galpão, especialmente após lidar com as aves ou cama.

- ☛ Acesso limitado, exclusão de pessoal que não trabalha na granja e controle de tráfego do local.

- ☛ Uso de roupas protetoras e de chapéu para todas as pessoas que entrarem no galpão.

- ☛ Remoção de carcaças e adequada disposição das mesmas em fossas sépticas ou composteira.

- ☛ Sanitização da água de bebida durante o ciclo de produção

- ☛ Proteção nos galpões contra a entrada de animais silvestres

- ☛ Limpeza imediata de todo o alimento derramado no piso para evitar a atração destes animais.

- ☛ Acompanhamento da saúde do lote

- ☛ Adoção de um programa de biossegurança de forma a evitar contaminação cruzada.

Atenção especial deve ser dada à água oferecida às aves. A água como insumo na exploração animal é um importante aspecto a ser considerado, uma vez que é fundamental para a saúde, funções vitais e, por conseguinte um dos fatores que define uma melhor ou pior produtividade avícola. A qualidade da água pode alterar considerando-se o seu trajeto, superficial ou subterrâneo, ou seja, ao longo do manancial e também ao longo do tempo. Portanto, é essencial a avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da água utilizada na produção animal visando a prevenção de doenças (BEVILACQUA, 2004).

Práticas adequadas de manejo dos resíduos são essenciais para que a indústria avícola cresça e se desenvolva sob as condições de restrições legais atualmente existentes. As operações de produção de frangos geram anualmente grande volume de resíduos na forma de esterco, de efluentes, de camas de aves e de aves mortas. De acordo com Deliberação Normativa nº74 de 09 de setembro de 2004 do Conselho de Política Ambiental (COPAM, 2004 – Anexo: Listagem de atividades, sub-item: G-02-01-1 Avicultura de corte e reprodução) o potencial poluidor/degradador geral da avicultura de corte até 50.000 aves alojadas é considerado pequeno. Todavia cuidados devem ser tomados de forma que os resíduos das aves, não contaminem corpos de água superficiais e subterrâneos (COPAM, 2004).

Segundo SEIFFERT, (2000) as aves mortas devem ser depositadas de forma ambientalmente segura. A forma de disposição mais utilizada é a fossa, em que depósitos revestidos com paredes de concreto são instalados por meio de escavação e mantidos cobertos no nível do solo. Estas fossas se não bem planejadas e localizadas, aumentam as possibilidades de degradação do meio ambiente.

Atualmente devido à constante e severa fiscalização ambiental, a disposição efetiva e segura dos rejeitos gerados na produção avícola torna-se uma obrigatoriedade. O uso da compostagem na avicultura de corte tem surgido como um método simples, ambientalmente seguro e economicamente viável. Este método consiste na disposição em camadas de quantidades calculadas de cama de aviário, de água e de carcaça de aves, realizada em local apropriado, por um período de tempo necessário para a conversão destes materiais em um material orgânico com características diferentes dos componentes iniciais, ricos em nutrientes, denominado composto orgânico (ANTUNES, 2004b).

1.3. MATERIAL E MÉTODOS

1.3.1. Coleta de dados

Mediante preenchimento de um questionário apresentado ao proprietário de cada uma das granjas visitadas foram coletados dados referentes:

- ✓ À infra-estrutura - galpão, acesso e arredores,
- ✓ Aos procedimentos de descontaminação,
- ✓ Ao manejo de lotes anteriores e,
- ✓ Controle ambiental - roedores e insetos.

O questionário apresentado aos proprietários das granjas foi elaborado baseando-se no modelo proposto por PETTON et al. (2001) e mostrado na Tabela 1 abaixo.

Realizou-se a coleta de dados em um total de 100 granjas. As granjas avaliadas localizam-se nas regiões circunvizinhas a Viçosa (17), englobando produtores nas cidades de Canaã (12), São Miguel do Anta (14), Distrito de Cachoeira de Santa Cruz (12), São José do Triunfo (4), Coimbra (17), Cajuri (7), Ervália (8) e Paula Cândido (9), localizados na Zona da Mata do Estado de Minas Gerais. O sistema de criação adotado pelas granjas é predominantemente do tipo convencional existindo apenas três granjas funcionando com sistema automatizado.

Tabela 1. QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE INFRAESTRUTURA E HIGIÊNICO-SANITÁRIO DE GRANJAS DE CRIAÇÃO DE FRANGO DE CORTE.

Nome da granja: _____ Data da coleta: _____

Localização da granja: _____

Grau de escolaridade: _____

1- Acesso e arredores

- a) Qual é a distância entre o galpão estudado e a cidade mais próxima?
- b) Qual é a distância entre o galpão estudado e a fazenda de aves mais próxima?
- c) Há criação de aves não-comercial ou ornamental na propriedade?
- d) Quais os tipos de aves criadas na propriedade em outros galpões?
- e) Há outras espécies de animais criados na propriedade?
- f) Qual é o número de galpões de frango de corte existentes na propriedade?
- g) Como é o acesso ao silo?

2- Características Ambientais

- a) Como é feito o controle ambiental da granja?
- b) Como é feito o controle ambiental do galpão?
- c) Qual é a estação do ano no período de coleta dos dados experimentais?

3- Características do galpão

- a) Qual é a estrutura do galpão (idade, estado da construção e de conservação)?
- b) Qual é o estado de conservação dos equipamentos do sistema de alimentação e sistema de bebida?
- c) Qual é o aspecto construtivo externo ao galpão?
- d) Há trânsito de veículos nos arredores do galpão?
- e) Qual é o tipo e o sistema de ventilação utilizado?
- f) Há separação em área suja e área limpa no galpão?
- i) Há a presença de pedilúvio na entrada do galpão?

4- Cama

- a) Há cama estocada na granja e como é feita a estocagem?
- b) Qual é o tipo e origem da cama utilizada?
- c) Como é feito o manejo da cama (periodicidade)?

5- Procedimentos de limpeza e descontaminação do galpão

- a) Quem é responsável pela limpeza e desinfecção do galpão?
- b) Como é feita a limpeza do galpão (Uso de lança-chamas/ vassouras)?
- c) Como é feita a desinfecção do galpão?
- d) Qual é a origem da água usada na limpeza do galpão?
- e) Como é feita a limpeza e desinfecção da área de acesso ao galpão?
- f) Como é feita a limpeza e desinfecção dos ventiladores?
- g) A cama é removida antes da limpeza?
- h) Como é feita a limpeza e desinfecção dos silos?
- i) Como é feita a limpeza e desinfecção do sistema de alimentação?
- j) Como é feita a limpeza e desinfecção do sistema de bebida?
- l) Como é feita a limpeza do pedilúvio (Tipo de produto usado, frequência de troca, quando e onde usado)?
- m) Qual é o período de vazio sanitário usado na granja avaliada?

6- Características dos lotes anteriores

- a) Quais os tipos de aves criadas nos lotes anteriores (frangos/outros)?

- b) Qual a idade de abate do lote anterior?
 - c) Foi detectada a presença de microrganismos no lote?
 - d) Há registros da ocorrência de doenças com tratamento, ocorrida nos lotes anteriores?
-

7- Condições de alojamento das aves

- a) Qual a origem dos pintinhos?
 - b) Como e por quem foi feito o alojamento das aves?
 - c) Qual é o número de funcionários? Mão de obra familiar ou contratada?
 - d) Foram utilizados roupas e sapatos específicos para pessoas que estavam alojando as aves?
 - e) A entrada no galpão é restrita?
 - f) Qual a frequência de vinda de funcionário no galpão?
 - g) Quantas aves foram alojadas?
-

8- Práticas de alimentação e água de bebida

- a) Qual é a origem da ração?
 - b) Qual a forma de alimentação utilizada?
 - c) Qual o tipo de medicação usada na ração (antibióticos, promotores de crescimento e anticoccidiano -dose e nome) e qual a idade das aves quando foram retirados da ração?
 - d) Qual a origem da água de bebida
 - e) Como é feita a cloração da água de bebida?
 - f) Quais os tipos de bebedouro e comedouro utilizados?
-

9- Administração das aves mortas

- a) Como é feita a disposição das aves mortas?
 - b) É feita estocagem de aves mortas?
-

10- Controle de animais selvagens

- a) Foi detectada a presença de roedores na propriedade?
 - b) Como é feito o controle de roedores?
 - c) Utilizam-se inseticidas?
-

Com base nas respostas obtidas e observações feitas em cada granja, avaliaram-se as condições de manejo adotadas e a necessidade de se realizar treinamento com os funcionários.

1.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.4.1. Avaliação das condições de infra-estrutura e higiênico-sanitário dos galpões

1.4.1.1. Galpão convencional

Ao se avaliar as respostas obtidas no questionário apresentado aos proprietários das granjas convencionais referente à infraestrutura: galpão, acesso e arredores, aos procedimentos de descontaminação, manejo de lotes anteriores e controle ambiental (roedores, insetos, etc) constatou-se a ocorrência de vários pontos de não conformidade no processo de higienização do galpão em 100 % das granjas pesquisadas.

Observou-se que os galpões se apresentavam em péssima condição de infraestrutura, com vazamentos no telhado (30 %), buracos nas paredes e nas telas laterais (60 %), podendo ser resultante do longo tempo de utilização (aproximadamente 15 anos - 60 %) e a ausência de reparos periódicos, dado a intensa rotatividade deste sistema de criação.

O acesso de veículos até os galpões das aves é fácil, sendo feito por estrada de terra. Os equipamentos de alimentação, de bebida e de ventilação utilizados na criação das aves também se apresentavam em mau estado de conservação, com aspecto de sujo.

Foi possível constatar que em 80 % das granjas convencionais avaliadas, a área externa do galpão apresentava com aspecto inadequado, isto é, arredores sujos, e

quando havia calçamento este apresentava bastante danificado por rachaduras bem visíveis e crescimento de capim nas mesmas.

Na maioria das granjas (60 %) foi constatada a proximidade de árvores e arbustos a uma distância de aproximadamente 30 m do galpão. Este é um fator importante a ser considerado, tendo em vista que animais silvestres e outras aves constituem um foco de contaminação para aves alojadas nos galpões.

Em nenhuma das granjas avaliadas pode ser constatada a existência de pedilúvio, da mesma forma que em nenhuma delas havia separação de área suja e limpa.

A limpeza do galpão e a retirada da cama é feita por funcionários da própria granja. A água utilizada na limpeza é proveniente geralmente de mina ou poço semi-artesiano da própria fazenda, sendo a mesma usada para o consumo das aves.

A desinfecção do galpão é realizada pela empresa integradora. Inicialmente na limpeza retira-se a cama, remove-se o pó do galpão com vassouras e procede-se a sua lavagem. A desinfecção também é realizada em uma área de aproximadamente 2 – 3 m da entrada do galpão em frente às portas. A desinfecção é feita uma única vez, utilizando-se produtos sanitizantes a base de glutaraldeído e de cloreto de benzalcônio. Os bebedouros e os comedouros não são desinfetados, sendo somente lavados com água. O silo também não é desinfetado, sendo somente varrido externamente. Na desinfecção do chão é utilizada cal (óxido de cálcio).

O vazio sanitário adotado nas granjas foi de aproximadamente 5 a 10 dias, sendo a variação de acordo com a necessidade de alojamento da empresa integradora. Os demais galpões localizados na granja também ficam vazios no mesmo período. BARRO (1994) recomenda um vazio sanitário de aproximadamente 15 dias.

Em 80 % das granjas visitadas, a cama utilizada era de casca de café, resultante do beneficiamento do café da região. As demais granjas usavam serragem originada de serrarias (20 %). O manejo da cama é realizado pelo seu revolvimento diariamente. Em 60 % das granjas onde haviam aves alojadas, a cama encontrava emplastada, devido à alta umidade que pode estar associada à presença de vazamentos nos bebedouros, a goteiras dentro do galpão, além da umidade oriunda das fezes das próprias aves. Nas demais granjas, a cama estava em bom estado, sem muita formação de placas (emplastamento).

Em todas as granjas visitadas foi identificada a presença de outras espécies animais tais como bovinos, cães, gatos, e animais silvestres. De acordo com BARRO

(1994) devem ser mantidos afastados das vizinhanças do galpão, por serem portadores de doenças aviárias.

Em 60 % das granjas, a mão-de-obra da granja é familiar, sendo composta de 2 a 5 pessoas diretamente envolvidas no trabalho. Não há utilização de roupas e de botas especiais para os funcionários da granja. Não há restrição a entrada de pessoas, sendo que um mesmo funcionário pode entrar em vários galpões com o mesmo calçados e roupas.

As aves e a ração farelada são fornecidas pela empresa integradora. A ração oferecida é dividida em 3 tipos: inicial (0 - 21 dias), crescimento (22 - 38 dias) e final (38 até +/- 45 dias). Faz-se o uso de promotores de crescimento e de anticoccidiano, sendo os mesmos retirados somente na ração final. O promotor e o anticoccidiano utilizados na ração inicial são avilamicina e nicarbazina, respectivamente. Na ração de crescimento é utilizado a virginamicina e a salinomizina.

A água de abastecimento da granja é tratada com cloro sendo cedido uma pedra de cloro pela empresa integradora (1 pedra/ 1000L de água).

Em todas as granjas as aves mortas são dispostas em fossa próximas a mesma. Foi informado pelos proprietários que a disposição das aves passará a ser em composteiras, sendo uma exigência da empresa integradora. Entretanto, no momento das visitas, nenhuma granja usava o método de compostagem. Em 50 % das granjas foi possível constatar que as composteiras encontravam-se em fase de construção. Nas visitas realizadas pode ser observada a existência de algumas aves mortas dentro do galpão, que ainda não tinham sido retiradas.

Em todas as granjas os proprietários informaram que há a presença de roedores, sendo o controle feito pelo uso de iscas.

1.4.1.2. Galpão automatizado

Ao se avaliar as respostas obtidas para o questionário apresentado aos proprietários das três granjas automatizadas, situadas próxima a cidade de Viçosa, observou-se que todos os galpões se apresentavam em bom estado de conservação com tempo de construção em torno de 6 anos.

O acesso de veículos até os galpões das aves é fácil, sendo também feito por estrada de terra. Em todas as granjas visitadas os equipamentos de alimentação e de

bebida utilizados estão em bom estado de conservação, sendo os comedouros automáticos e somente em uma granja os bebedouros utilizados são do tipo nipple.

A área externa dos galpões tinha um aspecto agradável, sendo os arredores composto de grama. Não havia calçamento externo em nenhuma das granjas. Também não havia em nenhuma dos galpões visitados a separação de área suja e limpa.

Nas granjas automatizadas o sistema de ventilação é composto de 18 ventiladores, sendo realizado o sistema túnel. Na entrada frontal dos galpões há a presença de um pedilúvio.

A limpeza dos galpões e a retirada da cama são feitas por funcionários da própria granja. A água utilizada na limpeza é proveniente de uma mina na própria fazenda, sendo a mesma usada para o consumo das aves. Já a desinfecção é realizada pela empresa integradora, sendo os mesmos procedimentos usados na granja convencional.

Em todas as granjas, os bebedouros e os comedouros não são desinfetados, sendo somente lavados com água. Em uma das granjas, o proprietário informou que a cada dois lotes utiliza-se vinagre na lavagem dos bebedouros. O silo também não é desinfetado, sendo somente varrido externamente. Na desinfecção do chão é utilizada cal (óxido de cálcio). O produto usado no pedilúvio também é cal (óxido de cálcio), sendo trocado a cada 15 dias.

O vazio sanitário adotado nas granjas foi de aproximadamente 7 dias. A cama utilizada nas três granjas era de casca de café originada do beneficiamento do café da região.

O manejo da cama era realizado pelo revolvimento periodicamente (3 - 4 dias). Em uma das granjas a cama se encontrava emplastada, devido à alta umidade que pode estar associada à presença de vazamentos nos bebedouros ou a umidade oriunda das fezes das próprias aves. Nas demais granjas a cama se encontrava em bom estado, sem muita formação de placas (emplastamento).

Nessas granjas também foi identificada a presença de outras espécies animais como bovinos, cães, gatos, e animais silvestres.

A mão-de-obra em uma das granjas é remunerada, composta de 6 pessoas diretamente envolvidas no trabalho. Nas demais a mão de obra é familiar, estando 3 pessoas envolvidas no trabalho. Não há utilização de roupas e botas especiais para os funcionários ou pessoas envolvidas no trabalho nas granjas visitadas. Somente em

uma granja há restrição a entrada de pessoas, sendo que um mesmo funcionário cuida somente de um galpão. Nas demais não há restrição à entrada de pessoas, sendo que um mesmo funcionário pode entrar em vários galpões com o mesmo calçado e roupas.

O fornecimento das aves, da ração farelada e o uso de promotores de crescimento e anticoccidiano são os mesmos utilizados pela granja convencional.

A água de abastecimento da granja é tratada com cloro sendo cedido uma pedra de cloro pela empresa integradora (1 pedra/ 1000L de água).

A disposição das aves mortas é realizada da mesma maneira que a da granja convencional, sendo obtida as mesmas informações em relação a exigência pela empresa integradora para o uso da composteira. Mas no momento das visitas nenhuma granja usava o método novo de composteiras. Todas as granjas se encontravam em fase de construção da composteira. Nas visitas realizadas pode ser observada a existência de algumas aves mortas dentro do galpão, que ainda não tinham sido retiradas.

Os proprietários das granjas informaram que não há roedores no galpão. Mas quando há o controle é feito pelo uso de iscas.

Estudos revelam que a maior incidência de lotes de frangos infectados por *Campylobacter* está associada com a manutenção de outros animais na propriedade (VAN de GIESSEN et al., 1998; SANDEBERG, et al., 2002; CARDINALE et al., 2004; BOUWKNEGT et al., 2004). Animais tais como outras espécies de aves, bovinos, cães e gatos são considerados carreadores permanentes de *Campylobacter*. Portanto, é necessário que haja uma separação com uma distância mínima entre o local de criação das diferentes espécies presentes na propriedade.

Outros fatores que colaboram para uma maior disseminação são: a não utilização de roupas especiais para os funcionários da propriedade que transitam dentro de diferentes galpões, a ausência de práticas higiênicas adotadas pelos mesmos, deficiências no processo de limpeza e desinfecção do ambiente de criação das aves, presença de aves silvestres, roedores, insetos, disposição incorreta de aves mortas levando à contaminação do ambiente (GREGORY et al., 1997; CARDINALE et al., 2004).

GIBBENS et al. (2001) ao analisarem lotes de frangos infectados por *Campylobacter*, constataram que 50 % da contaminação de um galpão, pode ser reduzida pela adoção de medidas de biossegurança. As principais medidas incluem:

colocação de pedilúvio na entrada do galpão com reposição semanal (duas vezes/semana) do desinfetante que o abastece; adoção de um sistema de limpeza e desinfecção eficiente tanto dos arredores quanto do galpão; controle de roedores e animais silvestres; correta disposição das aves, limpeza da área externa do galpão.

Segundo VAN DE GIESSEN et al. (1998) a adoção de medidas higiênicas no ambiente de criação de frango de corte, permite uma redução de lotes contaminados. Em seu estudo, as principais medidas associadas com tal redução foram o uso de botas específicas para cada galpão, adoção de pedilúvio e lavagem das mãos antes de entrar no galpão. No entanto, o reaparecimento da contaminação após a introdução de medidas de controle indica que essa estratégia de intervenção pode reduzir, embora não excluir totalmente o risco de infecção por *Campylobacter* em lotes de frangos de corte. Os autores ressaltam ainda que bovinos tem sido associado como a principal fonte de infecção por *Campylobacter* em lotes de frango de corte. A transmissão de *Campylobacter* spp. de bovinos para frango de corte (e vice-versa) ocorreu via calçados dos funcionários da propriedade. O isolamento de *Campylobacter* em insetos revela que os mesmos podem atuar como vetores de transmissão do microrganismo.

Mediante as respostas obtidas nos questionários e na avaliação visual “in loco” notou-se que as precárias estruturas das granjas convencionais associada à ausência de um programa de biossegurança podem permitir a incidência de uma alta contaminação microbiana. Mesmo nas granjas automatizadas, onde se observa uma superioridade de infra-estrutura dos galpões e de equipamentos, as condições ambientais prevalentes não são suficientes para impedir um elevado grau de contaminação, uma vez que, ocorrem às mesmas falhas no processo de higienização do galpão, favorecendo assim a incidência de diferentes contaminantes.

Sugere-se a adoção de um programa de biossegurança para essas granjas visando proporcionar um ambiente adequado para o desenvolvimento das aves, e resultar em um alimento seguro para o consumidor e também a realização de um treinamento dos funcionários por meio de uma cartilha ilustrada, focalizando o desenvolvimento de bons hábitos higiênicos, o valor profissional e o conhecimento das boas práticas agrícolas, visando a formação de uma conscientização dos mesmos em se produzir com qualidade.

Como os investimentos para a implantação de melhorias nos galpões são elevados, pode-se inicialmente trabalhar com a educação continuada dos

funcionários. Observou-se que a maioria dos funcionários das granjas (80 %) com grau de escolaridade baixo, não recebem nenhum tipo de treinamento para operar os galpões, desconhecendo as regras básicas de controle de propagação de zoonoses. Em virtude disto foi elaborada uma cartilha que servirá de instrumento básico no treinamento destes operadores.

A cartilha é apresentada a seguir e foi elaborada com figuras e textos curtos para se adequar ao público alvo.

FRANGO DE CORTE – MANEIRAS E MANEIRAS DE CRIAR SUAS AVES

Keily Alves de Moura Oliveira
Regina Célia Santos Mendonça



**Olá... Este é o
“Seu Galo”, o nosso Granjeiro**



**E este é o frangão
criado na granja**



Todo dia “Seu Galo” se apronta para ir trabalhar....



**Mas ele sabe que para
cuidar de seus preciosos
bichinhos tem de se vestir
de outro jeito....**

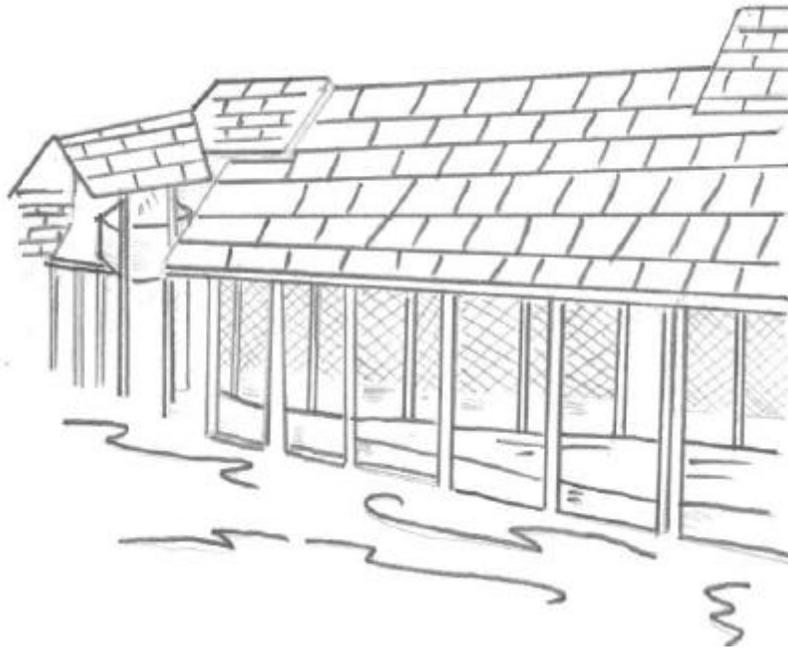
**Então ele troca de
roupa antes de
entrar na granja.**



**“Seu sujo” não se
importa...
Diz que o vizinho é
que tem mania...
Entra e sai semana,
está com a mesma
roupa.**

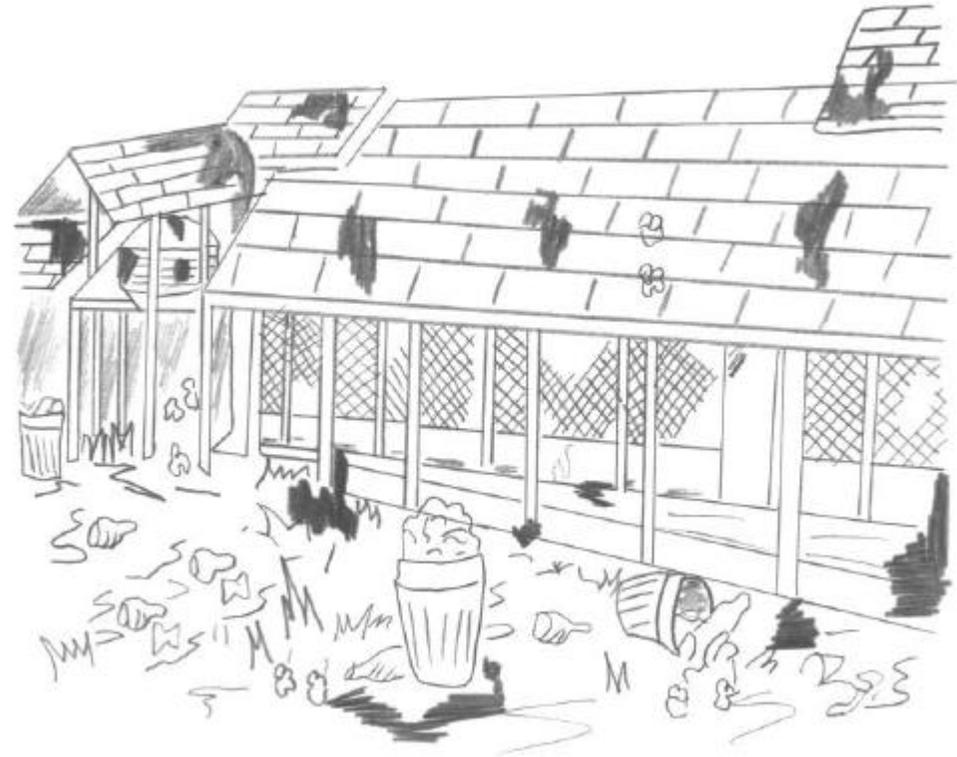


**Esta é a granja do “Seu Galo”...
Veja só que linda...**



**Para manter ela assim.....
ele “toma” MUITOS CUIDADOS.....**

E a do vizinho.....



**“Seu Galo” sabe que bota suja
nem pensar, “Microbio” faz mal
pra saúde de seus bichinhos
preciosos.....**



**Então dá-lhe água e sabão nas
botas antes de entrar no
galpão.....**



**“Seu Galo” insiste :Mão suja
então nem pensar....**



**AGORA “Seu Galo” TÁ PRONTO
PARA ENTRAR NO GALPÃO...**

**Mais água e
sabão.**

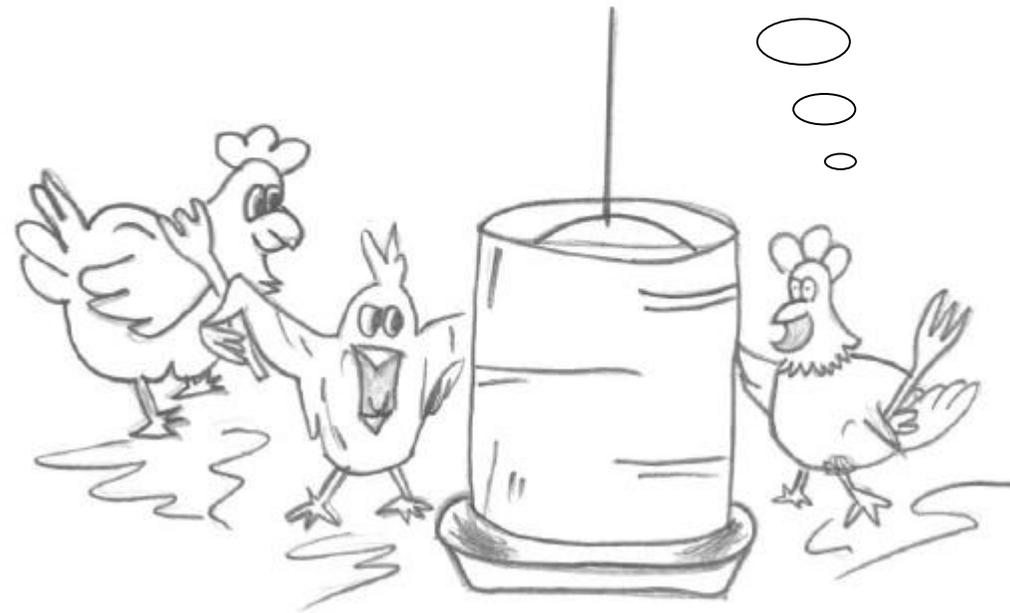
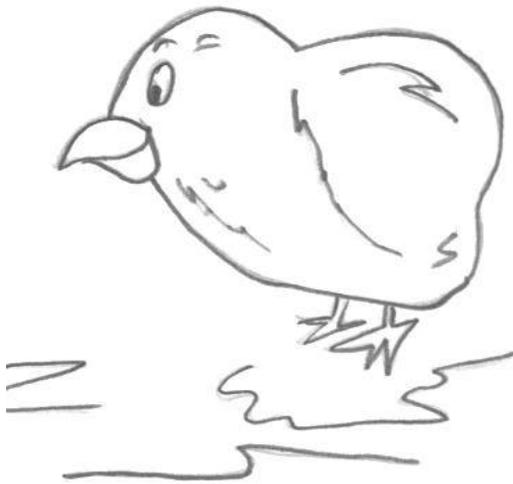


**DENTRO DO GALPÃO DO “SEU GALO”
É QUASE TUDO FESTA.....**

A COMIDA É BOA E FARTA....

**Como é bom
comer, não é
gente!**

**Ê vida
tranqüila...**



**ELE CUIDA DE QUEM TÁ
TRISTE OU JURURU....**

DENTRO DO GALPÃO DO VIZINHO.....



**Ai que tristeza...
Mariquinha não
resistiu...
Coitada!**



**Tirá eu tiro...
Mas amontoou
no canto!
Ai que noiva!**



As aves que morrem devem ser retiradas do galpão e enterradas o mais rápido possível

**E chega o grande dia...
Todo mundo com o peso ideal, bem cuidadas pelo “Seu Galo”,
prontas para a partida.....**



**E, no vizinho também chega o grande dia...
Todo mundobem.... pronto para a partida.....**



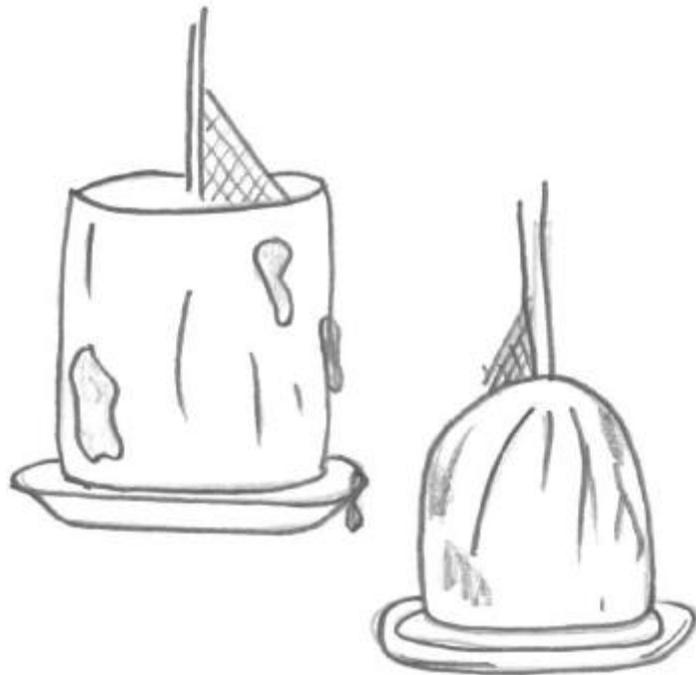
Bem... em todo lugar, mesmo com os cuidados que o “Seu Galo” toma, quando as aves saem para o abate fica tudo “muuuuuuuito sujo”. Então é necessário fazer uma boa limpeza e desinfecção do galpão – dentro e fora.



A limpeza deve começar pela retirada da cama...



Olha só como os bebedouros e os comedouros estão sujos!



Água e sabão neles. Não esqueça o desinfetante....



Tudo deve ser lavado e desinfetado para o próximo lote.

Meus DEUS ...olha só a sujeira que ficou dentro do galpão!!!!!!
Chega até rato...A bicharada toda aproveita.....



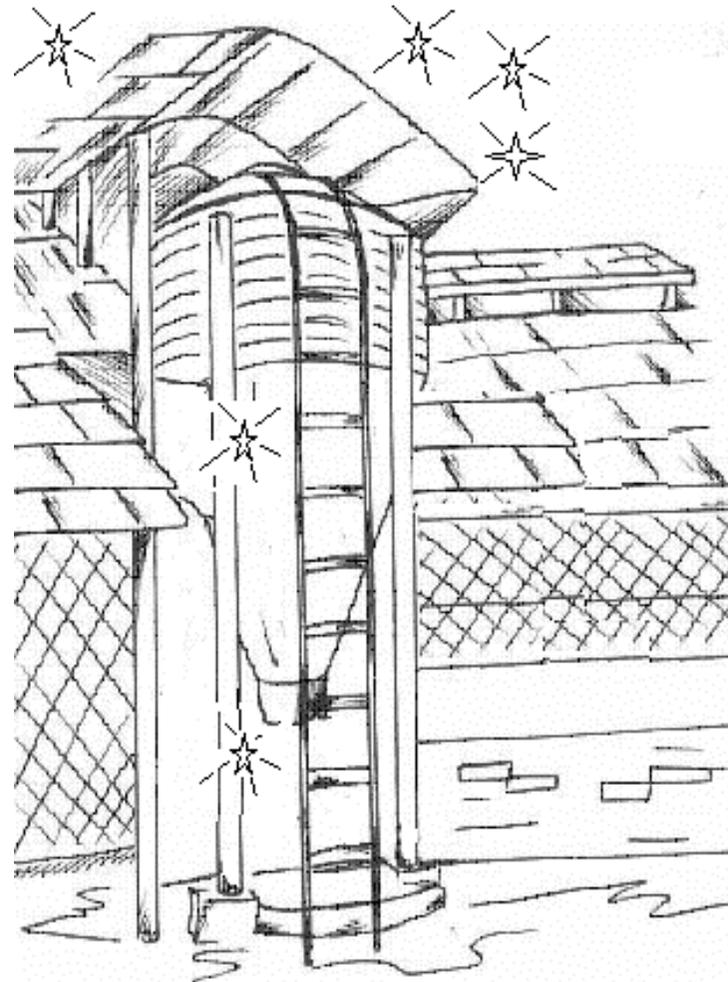
Depois da limpeza dos equipamentos passa-se a limpar dentro do galpão...



O silo deve ser lavado tanto interno quanto externamente



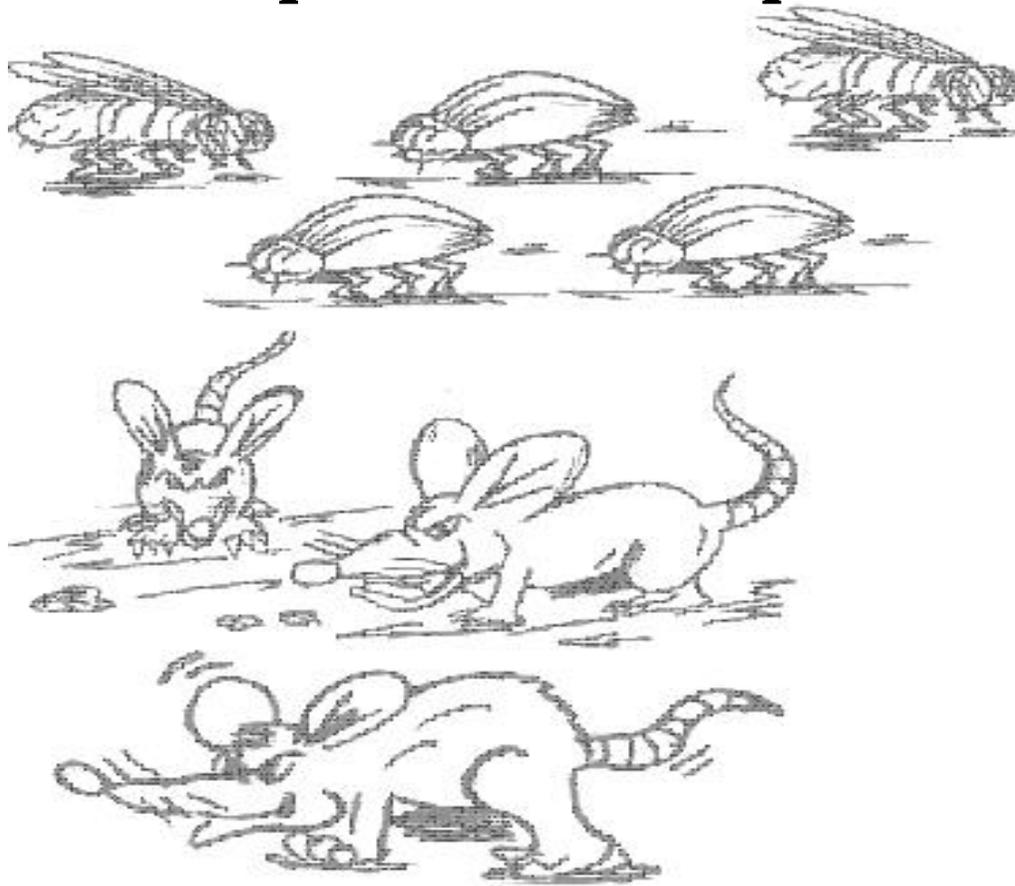
Olha só como ficou limpo!!!



A caixa d'água também deve ser lavada e desinfetada



**Quando a área externa do galpão é mal cuidada
olha só o que acontece. Aparece de tudo**



Então para evitar este problema algumas medidas devem ser tomadas...

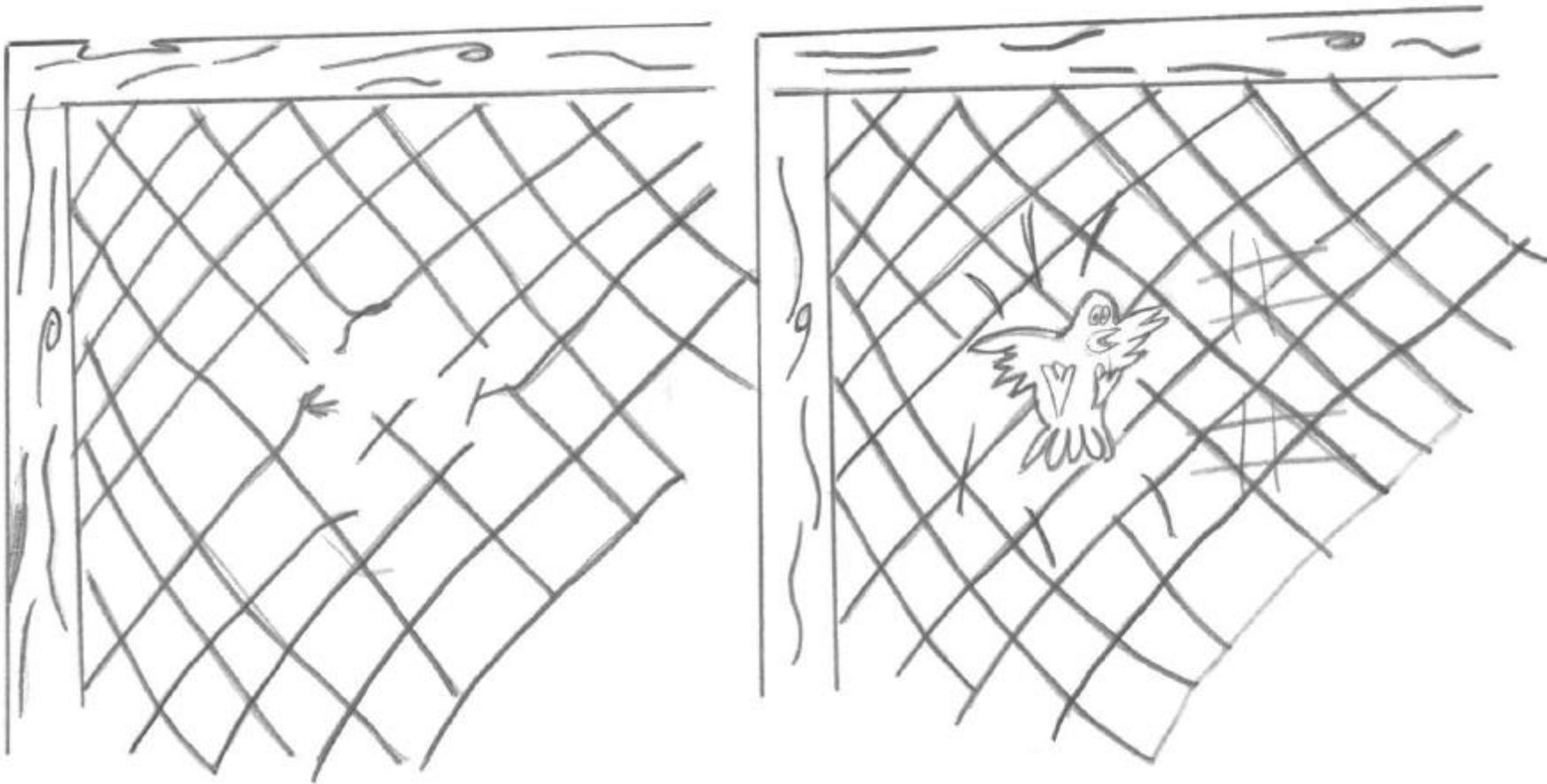


Capinar a área externa

Armação de iscas para atrair os inimigos...



Deve-se observar se as telas de proteção estão em bom estado de conservação, pois elas impedirã a entrada de animais silvestres dentro do galpão

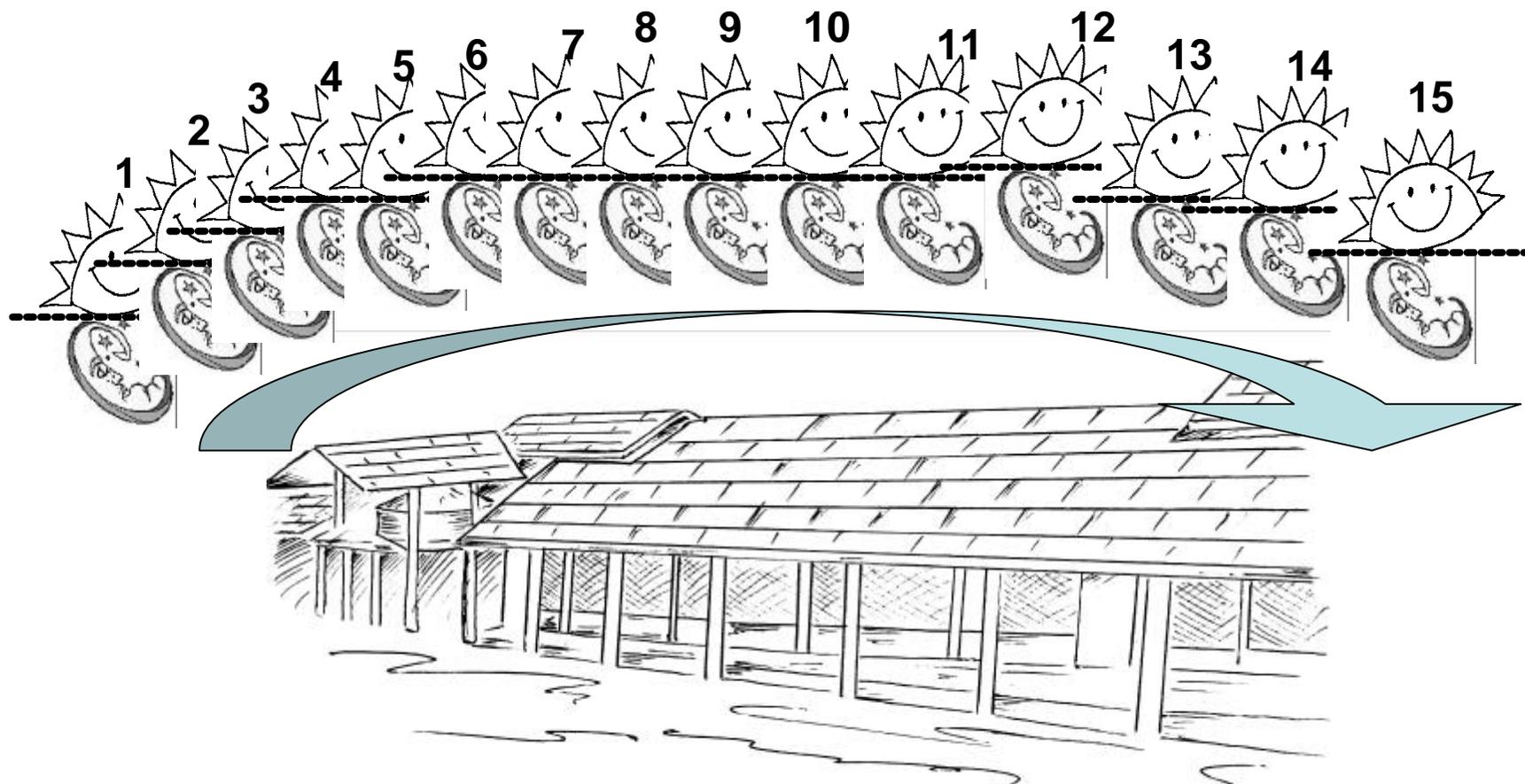


É uma boa hora para se consertar o telhado e algum outro buraquinho, aqui ou ali, nas paredes, para conservar o galpão e impedir a entrada de bichos e também da chuva...



Na granja devem ser adotadas algumas medidas de higiene também para com os visitantes, tais como: uso de roupas especiais como a do “Senhor Galo”, lavagem das mãos, uso de botas para entrar no galpão e a presença de um rodolúvio na entrada da granja de forma a desinfetar as rodas dos veículos visitantes





**E finalmente após a limpeza e desinfecção.
O galpão será fechado passando por um vazão sanitário, para
novamente receber novos pintinhos.**

1.5. CONCLUSÕES

Mediante as respostas obtidas nos questionários e na avaliação visual “in loco” das granjas notou-se que as más condições de higiene associada à ausência de um programa de biossegurança adotado pelas mesmas podem implicar em uma expressiva incidência de contaminação por diferentes microrganismos.

A adoção de programas de biossegurança e a realização de treinamento dos funcionários devem ser adotados visando a produção de alimentos seguros e com qualidade e a formação de uma conscientização do valor profissional nos funcionários. O uso de cartilhas educativas constitui um mecanismo de fácil compreensão por parte dos funcionários que operam as granjas, visto seu baixo grau de escolaridade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, R. Cuidados essenciais. **Revista Avicultura Industrial**, São Paulo, n.2, ed.1120, p.40-43, 2004a.

ANTUNES, R. Ecologicamente correto, economicamente viável. **Revista Avicultura Industrial**, São Paulo, n.8, ed.1126, p.18-22, 2004b.

BARRO, D.R. Manejo sanitário e preparo das instalações. In: PINHEIRO, M.R. **Manejo de frangos**. FACTA, 1994, Cap.5, p.21-41.

BAILEY, J.S.; THOMSON, J.E.; COX, N.A. Contamination of poultry during processing. In: CUNNINGHAM, N.A. **The microbiology of poultry meat products**. Cox. Orlando: Academic Press, 1987. p. 193 - 211.

BEVILACQUA, P.D. Água na produção animal. **Revista Avicultura Industrial**, São Paulo, n.4, ed.1122, p.64-66, 2004.

BOURKE, B.; CHAN, V.L.; SHERMAN, P. *Campylobacter upsaliensis*: waiting in the wings. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, p.440-449, 1998.

BOUWKNEGT, M.; van de GIESSEN, A.W.; DAM-DEISZ, W.D.C.; HAVELAAR, A.H.; NAGELKERKE, N.J.D.; HENKEN, A.M. Risk factors for the presence *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.62, p.35-49, 2004.

CARDINALE, E.; TALL, F.; GUÈYE, E.F.; CISSE, M.; SALVAT, G. Risk factors for *Campylobacter* spp. Infection in Senegalese broiler-chicken flocks. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.64, p. 15-25, 2004.

COPAM-CONSELHO ESTADUAL DE POLÍTICA AMBIENTAL. Deliberação Normativa nº74 de Setembro de 2004. Disponível em: http://www.feam.br/Normas_Ambientais/Deliberacoes_Normativas/2004/dn_copam_7404.pdf. Acesso: Setembro de 2005.

DUPONT. **Poultry Broiler: Safe and Biosecure**. Disponível em: <http://www.dupont.com.br>. Acesso: Novembro de 2004.

GIBBENS, J.C.; PASCOE, S.J.S.; EVANS, S.J.; DAVIES, R.H.; SAYERS, A.R. A trial of biosecurity as a means to control *Campylobacter* infection of broiler chickens. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.48, p.85-99, 2001.

GREGORY, E.; BARNHART, H.; DREESEN, D.W.; STERN, N.J.; CORN, J.L. Epidemiological study of *Campylobacter* spp. in broilers: source, time of colonization, and prevalence. **Avian Diseases**, Pensilvânia, v.41, p. 890-898, 1997.

JAENISCH, F.R.F. Biossegurança e cuidados sanitários para frangos. **EMBRAPA - INSTRUÇÃO TÉCNICA PARA O AVICULTOR**, 1998. Disponível em: <ftp://ftp.cnpsa.embrapa.br/pub/publicacoes/instecav/itav011.pdf>. Acesso em: Agosto de 2005.

LÓPEZ, C.M.; GIACOBONI, G.; AGOSTINI, A.; CORNERO, F.J.; TELLECHEA, D.M.; TRINIDAD, J.J. Thermotolerant *Campylobacter* in domestic animals in a defined population in Buenos Aires, Argentina. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.55, p.193-200, 2002.

NESPECA, R.; VAILLANCOURT, J.P.; MORROW, W.E.M. Validation of a poultry biosecurity survey. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.31, p.73-86, 1997.

PETTON, J.R.; ROSE, N.; DENIS, M.; SALVAT, G. Risk factors for *Campylobacter* spp. Contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.50, p. 89-100, 2001.

RUSSA, A.D.; BOUMA, A.; VERNOOIJ, J.C.M.; JACOBS-REITSMA, W.; STEGEMAN, J.A. No association between partial depopulation and *Campylobacter* spp. colonization of dutch broiler flocks. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.41, p.280-285, 2005.

SANDBERG, M.; BERGSJO, B.; HOFSHAGEN, M.; SKJERVE, E.; KRUSE, H. Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.55, p.241-253, 2002.

SEIFFERT, N.F. Planejamento da atividade avícola visando qualidade ambiental. In: **Simpósio sobre Resíduos da Produção Avícola**, Concórdia, SC, *Anais...*, p. 1 – 20, 2000.

SESTI, L.A.C. Biossegurança em um programa de melhoramento genético de aves. In: **II Simpósio de Sanidade Avícola**. Santa Maria, RS, *Anais...*, p.1-18, 2000.

VAN DE GIESSEN, A.W.; TILBURG, J.J.; RITMEESTER, W.S.; VAN DER PLAS, J. Reduction of *Campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. **Epidemiology Infection**, Cambridge, v.121, n.1, p. 57-66, 1998.

CAPÍTULO 2

CONTAMINAÇÃO MICROBIANA POR *Campylobacter* spp E *Enterococcus* spp DO AMBIENTE DE CRIAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

2.1. INTRODUÇÃO

Os alimentos de origem animal, frescos ou processados, podem veicular diversos microrganismos patogênicos, causadores de diversas alterações fisiológicas nas pessoas que os consomem (Enfermidades de Origem Alimentar - EOA). Estas enfermidades podem ser provocadas por diversos grupos de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários e vírus. As bactérias, pela sua diversidade e patogenicidade, constituem, o grupo microbiano mais importante na ocorrência das EOAs. No passado, a separação de resíduos de origem humana e animal e o suprimento de água foram considerados fatores críticos na segurança da saúde pública. Hoje, a saúde humana depende cada vez mais, da adoção de medidas de segurança na produção de alimentos e no suprimento de água (TAUXE, 2002).

Os riscos de contaminação microbiológica constituem a maior preocupação na produção de alimentos de origem animal. Essa preocupação está relacionada às características sociais, culturais e tecnológicas da sociedade moderna. O processo de consolidação da indústria e sua tendência a alcançar mercados cada vez maiores e distantes acarretam, paralelamente, a possibilidade de ocorrência de surtos geograficamente dispersos.

Carnes com qualidade microbiológica aceitável são extremamente difíceis de obter quando os animais não são produzidos em ambientes de qualidade comprovada. Sendo assim, a carne é considerada como importante reservatório de patógenos. Os patógenos de origem animal continuamente entram na cadeia alimentar, seja por contaminação vinda da granja ou a ocorrência de contaminação cruzada durante o processamento, ou seja, na comercialização direta no varejo ou ainda por contato com outros produtos processados.

Os principais microrganismos envolvidos na contaminação das aves são: *Salmonella*, *Campylobacter* spp., *Listeria*, *E. coli*, *Clostridium* e *Staphylococcus aureus*, dentre outros. Microrganismos deterioradores, principalmente psicrótrófos como *Pseudomonas*, bactérias do ácido láctico e leveduras estão presentes em animais vivos. A microbiota intestinal das aves é muito complexa, sendo influenciada pelo sistema de produção, pelo tamanho do lote, pelas características de crescimento rápido dos animais e pelo tipo de manejo animal adotado (BOLDER, 1999).

A microbiota deterioradora da carne crua de aves e dos produtos processados é formada por bactérias psicrótrófas. Estudos também têm mostrado a presença de populações de leveduras em produtos de aves frescas e processadas, contribuindo assim para a deterioração dos mesmos (ISMAIL et al., 2000).

Salmonella spp. e *Campylobacter* spp. são os principais patógenos associados a produtos de aves, que podem servir como seus reservatórios. Os animais podem ser contaminados a partir de várias fontes durante a criação e os contaminantes podem ser disseminados durante o processamento. Etapas como escaldagem, depenagem, evisceração e operações com miúdos são os principais pontos de disseminação na etapa de processamento (JORGENSEN et al., 2002; DUFRENNE et al., 2001; CHE, et al., 2001). KOTULA e PANDYA (1995) encontraram alto número de patógenos nas penas e na pele de frangos ao chegarem a planta de processamento.

Do ponto de vista de segurança alimentar, qualquer etapa da produção animal, desde o nascimento até o abate, se não monitorada, pode ser considerada um ponto crítico no qual a difusão da contaminação deve ser controlada.

O controle desses patógenos ainda na granja é visto como o princípio de ações essenciais na redução da mortalidade devido a zoonoses veiculadas pela carne. A adoção de medidas de biossegurança pode controlar patógenos e seus vetores e em consequência reduzirão as perdas econômicas causadas por casos de doenças. Essas práticas de biossegurança devem ser dirigidas a cada unidade de produção para

maximizar a saúde animal e minimizar a contaminação na cadeia produtiva de alimentos desde a granja até o consumidor.

O presente trabalho teve por objetivo verificar que fatores no ambiente de criação de aves são mais relevantes na prevalência da contaminação microbiana; avaliar o perfil da microbiota de frangos de corte criados nos sistemas de criação convencional e automatizado, nas estações de inverno e verão com relação à presença dos gêneros de *Campylobacter* spp. e *Enterococcus* spp. e identificar a partir dos microrganismos isolados, quais espécies predominam no ambiente de criação e no lote avaliado, por meio de testes bioquímicos, buscando caracterizar isolados de *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*;

2.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.2.1. Prevalência de *Campylobacter* spp. no ambiente de criação de frango de corte

Campylobacter spp. tem sido um dos patógenos mais isolados em casos de gastroenteritis humanas e as aves constituem um importante reservatório desse microrganismo. Em 1996, a taxa de incidência de campylobacteriose relatada nos Estados Unidos superou aquelas de *Salmonella* spp., *S. aureus*, *E. coli* e *Clostridium perfringens* (SOLOMON e HOOVER, 1999). O microrganismo pode ser transmitido pelo contato direto com animais ou carcaças de aves contaminadas, pela ingestão de alimentos ou de água contaminada, pessoal através de fezes de pessoas com infecção ativa, ou por transmissão a grupos de riscos. As principais fontes de infecção incluem: consumo de carnes e produtos de aves mal cozidas, produtos lácteos não pasteurizados, alimentos não cozidos sujeitos a possível contaminação cruzada com produtos e carnes de aves, ou ainda, resíduos não tratados (FRANCO, 1988, RODRIGO, et al., 2005).

Lotes de frangos estão frequentemente infectados com *Campylobacter*, principalmente *C. jejuni* e o consumo de carne de aves é o principal fator de risco para campylobacteriose humana (STERN e LINE 1992; EVANS e SAYERS 2000).

As infecções nas aves geralmente não são associadas com doenças clínicas, embora grande número de *Campylobacter* spp. seja excretado nas fezes. A contaminação inicial das aves por *Campylobacter* spp. pode ser causada pela exposição a alimentos e água contaminados, aves mortas, insetos, roedores, fezes de

outras aves e pela cama (GENIGEORGIS, et al. 1986; STERN 1995). *Campylobacter jejuni* geralmente coloniza o trato gastrointestinal, localizando-se, principalmente no ceco e cloaca, sem causar mudança patológica evidente. A presença do microrganismo é geralmente restrita a mucosa intestinal nas cristas do epitélio intestinal, que constitui um ambiente altamente especializado, uma vez que a temperatura ótima de crescimento do microrganismo, 42 °C, reflete a temperatura do intestino das aves e difere da temperatura encontrada no intestino de mamíferos, 37 °C, (PARK, 2002).

A habilidade de *C. jejuni* estabelecer-se no trato gastrointestinal das aves está associado à capacidade do microrganismo ligar-se à superfície da célula hospedeira. Na membrana externa da célula hospedeira, a proteína CadF facilita a ligação das células de *Campylobacter* a fibronectina, portanto, um mutante deficiente na produção desta proteína é incapaz de colonizar o ceco de pintinhos com um dia de vida (ZIPRIN et al., 1999).

As aves se tornam infectadas quando atingem idade ao redor de 3 a 5 semanas de idade, sendo que infecções em aves com uma semana de idade são raras (SMITHERMAN et al., 1984). A ausência de colonização por *Campylobacter* spp. no trato intestinal de aves com menos de 2 semanas de idade está relacionada a um mecanismo de resistência intrínseca. Um fator que pode contribuir para essa resistência é a presença de anticorpos maternos específicos para *Campylobacter*. Esses anticorpos podem ser transferidos das matrizes para os pintinhos. Os anticorpos maternos são seqüestrados da circulação maternal por um oocito em desenvolvimento e subseqüentemente transportado da gema de ovo pela membrana na circulação embrionária. O nível de anticorpos maternos nas aves jovens atinge o máximo em 3 a 4 dias após a eclosão e depois disso decresce gradualmente a níveis não detectáveis em 2 a 3 semanas de idade. Na primeira semana de vida das aves, quando o nível de anticorpos maternos e a permeabilidade intestinal são maiores, o transporte desses anticorpos ocorre, conferindo proteção do epitélio intestinal contra agentes infecciosos que colonizam o trato gastrointestinal (SAHIN et al., 2001). Uma vez que o microrganismo é exposto a um lote, rapidamente observa-se que todas as demais aves são colonizadas.

ACHEN et al., (1998) avaliaram o perfil de eliminação diário de *Campylobacter* em frangos de corte, após a inoculação oral dos mesmos no 1° dia de

vida com $1,6 \times 10^7$ UFC de *C. jejuni*. Observou-se que em torno de 50 a 70% das aves eliminaram o microrganismo após 24 horas depois da inoculação. Notaram ainda que o ponto máximo de eliminação foi durante a segunda e terceira semana de criação. Os autores concluíram que durante o período de amostragem (1 a 43 dias de criação) ocorreu uma distribuição cíclica de eliminação do microrganismo com maior incidência na segunda e na terceira semana e declínio após a terceira semana, fato este que pode estar associado ao muco que tem importante papel na eliminação de *C. jejuni*, uma vez que a mucina é um quimioatrativo para o microrganismo.

Campylobacter spp. pode sobreviver por longos períodos no ambiente e, nas aves. Padrões higiênicos ruins adotados nas granjas podem permitir a disseminação, podendo ser introduzidos em lotes ou persistir em ciclos de produção sucessivos. O risco de contaminação nas aves pode aumentar devido à presença do microrganismo na unidade de processamento ou equipamentos durante a apanha das aves para o abate (JACOBS-REITSMA et al., 1994; ONO e YAMAMOTO, 1999; STERN et al., 2001). Durante o processo de abate, *C. jejuni* presente no conteúdo intestinal de aves abatidas pode-se espalhar pelas carcaças, sendo a água do chiller e da depenadeira os principais locais de contaminação cruzada (FRANCO, 1988; WESLEY et al., 2004). O microrganismo pode também sobreviver por mais de 60 minutos nas mãos de manipuladores e em superfícies úmidas (HUMPHREY et al., 1995).

WEDDERKOPP et al. (2001), ao avaliarem granjas de lotes de frangos quanto à presença de *Campylobacter* spp. no período de 1998 e 1999 na Dinamarca, encontraram mais amostras positivas para *Campylobacter* spp. durante julho, agosto e setembro (estação do verão) e um menor número de amostras positivas foi encontrado em janeiro, fevereiro, março e abril (estação inverno). Constatações semelhantes foram obtidas por JACOBS-REITSMA et al. (1994) quando observaram que a permanência de *Campylobacter* em lotes de frangos no abate apresentou uma variação sazonal, com maior contaminação durante o período de verão e menor contaminação no inverno. Os autores notaram também uma variação de temperatura, em que temperaturas mais elevadas coincidiam com maiores taxas de isolamento do microrganismo.

PETTON et al. (2001) ao associarem as características do local de criação e práticas de manejo adotadas com a presença ou ausência de contaminação dos lotes com *Campylobacter* spp., observaram que do total de lotes avaliados, 42,7 % estavam contaminados com *Campylobacter* spp., sendo a contaminação afetada por

fatores como: estação do ano, sistema de distribuição de ar no galpão, número de pessoas envolvidas no manejo, tratamento dado à água servida às aves e presença ou ausência de insetos na cama.

BOUWKNEGT et al. (2004) ressaltam que é urgente a necessidade de adoção de medidas higiênicas visando diminuir a contaminação de lotes de frangos por esse microrganismo. O conhecimento dos fatores que influenciam a presença do microrganismo no lote é essencial.

EVANS e SAYERS (2000), monitorando lotes de frango durante um ciclo de produção, observaram que mais de 40 % do lotes de aves com 4 semanas de idade e que 90 % dos lotes com 7 semanas, estavam infectados por *Campylobacter* spp. Os autores sugerem que os resultados encontrados podem ser explicados pelo fato que anticorpos maternos desaparecem com 2 semanas de idade, restando apenas a imunidade passiva para proteger as aves jovens.

A mesma constatação foi feita por BERNDTSON et al. (1996), em que a contaminação com *C. jejuni* aumentava com a idade das aves. O microrganismo também foi isolado de insetos e do ar do galpão, de equipamentos da linha de processamento, caixas de transporte das aves e ar do abatedouro.

STERN (1995) avaliando a contaminação de carcaças de aves e colonização do ceco por *Campylobacter* spp. constatou um aumento na contaminação das aves após transporte até o abatedouro e conclui que o transporte e estresse anterior ao processamento, pode contribuir para o aumento desta microbiota em níveis acima de 10^4 UFC/g, que é normalmente encontrado em carcaças processadas.

SACKEY et al. (2001) avaliando a qualidade microbiológica de frangos observaram a presença de *Campylobacter* spp. em 14,4 % do conteúdo intestinal das aves.

Estudos recentes têm mostrado que sorotipos de *Campylobacter jejuni* podem ser veiculados por meio de incubadoras, podendo, portanto, ocorrer transmissão vertical. *Campylobacter jejuni* foi isolado de ovário de poedeiras saudáveis (PETERSEN et al., 2001).

Muitos patógenos de origem alimentar são relativamente resistentes, como consequência, da necessidade de sobreviver em condições adversas, impostas pelo processamento e aplicação de conservantes nos alimentos. Nesse contexto, as espécies de *Campylobacter* são menos resistentes, uma vez que, são microrganismos de crescimento fastidioso e apresentam sensibilidade incomum ao estresse ambiental.

Estudos demonstram que nesses microrganismos parece faltar muito das respostas adaptativas que podem ser correlacionadas a resistência ao estresse em outros patógenos de origem alimentar (PARK, 2002). Muitos animais domésticos como aves, suínos, bovinos, cães e gatos carregam *Campylobacter* spp. em seu trato gastrointestinal sem manifestar os sintomas associados com a doença em humanos.

Um fato interessante da fisiologia do gênero *Campylobacter* revela a evolução do microrganismo no sentido de ocupar a mucosa do trato intestinal. Primeiramente, sua natureza microaerófila é, provavelmente, reflexo da concentração de oxigênio encontrado nesse nicho. Secundariamente, a competição por nutrientes essenciais entre a comunidade bacteriana dentro do trato gastrointestinal é provável de ser intensa e parece que *Campylobacter* desenvolveu mecanismos que o permite competir com sucesso nesse ambiente. O ferro é um nutriente essencial, que pode ter disponibilidade limitada dentro do intestino. Como consequência, *Campylobacter* tem mecanismos evoluídos para adquirir ferro do hospedeiro e da flora gastrointestinal. Por exemplo, o microrganismo é capaz de utilizar compostos derivados do ferro (hemácias e hemoglobina) do hospedeiro. Sideróforos são compostos que apresentam alta afinidade com o íon ferro, sendo sintetizados por vários patógenos, que permitem aos mesmos competir por este nutriente quando estiver limitado ou armazená-lo da célula hospedeira através de ligações com as proteínas. Algumas cepas de *Campylobacter* podem produzir sideróforos (PARK, 2002).

A presença de *Campylobacter* tem sido relatada desde o início do século 20. No início dos anos 60, trabalhos científicos distinguiram *Campylobacter* de outras espécies de *Vibrio* baseado em testes bioquímicos e sorológicos. Como resultado, *Vibrio fetus* subsp. *fetus* foi reclassificado como *Campylobacter jejuni* em 1963. O gênero *Campylobacter* inclui cerca de 20 espécies e subespécie, com 8 espécies identificadas como agentes de doenças gastrintestinais em humanos (Tabela 1) (SOLOMON e HOOVER, 1999).

Tabela 1. Espécies de *Campylobacter* patogênicos e seus reservatórios

Organismo	Doenças e sintomas	Reservatórios
<i>C. jejuni</i> ssp. <i>jejuni</i>	Enteritis, doenças sistêmicas e síndrome Guillain-Barré	Humanos, cães, gatos, roedores, aves
<i>C. coli</i>	Enteritis	Suínos, aves
<i>C. lari</i>	Enteritis	Aves
<i>C. hyointestinalis</i>	Enteritis	Bovinos, suínos
<i>C. upsaliensis</i>	Enteritis	Cães, gatos
<i>C. fetus</i> ssp. <i>fetus</i>	Enteritis, doenças sistêmicas	Bovinos e Ovinos
<i>C. cinaedi</i>	Enteritis	-

Fonte: Nachamkin (1997); Stelzer et al. (1991) citados por SOLOMON e HOOVER, (1999)

Campylobacter são bactérias Gram-negativas, em forma de espiral e não esporulados. As células são móveis com movimentos característicos a saca-rolha, com um flagelo polar em uma ou ambas as extremidades das células. São microrganismos microaerófilos e termofílicos, com crescimento ótimo em atmosfera contendo 5 % de O₂, 10 % CO₂ e temperatura de 42 - 43 °C. Nenhum carboidrato é fermentado ou oxidado. A energia é obtida de aminoácidos ou intermediários do ciclo do ácido tricarbóxico. São oxidase positiva, urease negativa e catalase positiva (BERGEY'S, 1993).

A contaminação por *Campylobacter* pode causar enterocolite aguda no homem, sendo que os principais sintomas observados são mal-estar, febre, forte dor abdominal e diarreia, que pode ir de aquosa a sanguinolenta. O período de incubação varia de 1 a 11 dias, sendo tipicamente 1 a 3 dias. Em muitos casos, a diarreia pode persistir por mais de uma semana. As infecções por *Campylobacter* podem ser seguidas por raras, embora severas, seqüelas não gastrointestinais como: artrite, a síndrome "Guillain-Barré", que é uma desordem no sistema nervoso periférico resultando em fraqueza dos membros, dos músculos respiratórios e perda de reflexos, que pode se tornar crônico ou levar à morte (ALLOS e BLASER, 1995); e a síndrome "Miller Fisher", uma variante da síndrome Guillain-Barré, caracterizada pela oftalmoplegia, ataxia e perda de reflexos.

O mecanismo pelo qual *C. jejuni* causa doenças em humanos ainda não está completamente elucidado. Dois tipos de diarreias são observados: uma diarreia inflamatória, com febre, fezes sanguinolentas contendo leucócitos, e uma diarreia não inflamatória, com fezes aquosas e ausência de leucócitos e sangue. Investigações da patogenicidade de *Campylobacter* permitiram reconhecer quatro diferentes propriedades de virulência: motilidade, aderência, invasão e produção de toxina. A

motilidade por meio de flagelos é requerida para que o microrganismo chegue ao local de adesão e penetre dentro da célula intestinal. A adesão da bactéria na superfície epitelial é importante na colonização, e pode ser mediada por estruturas fimbriais presentes na superfície bacteriana. A invasão do epitélio celular tem sido observada tanto *in vitro* quanto *in vivo*; no entanto, os níveis de invasão são normalmente baixos, com menos de 1 % em testes *in vitro*. Portanto, a produção de toxina é considerada o fator mais importante. Espécies de *Campylobacter* produzem três tipos de toxina que contribui de forma relevante para sua enteropatogenicidade (WASSENAAR, 1997; SOLOMON e HOOVER, 1999; FORSYTHE, 2002):

1. As enterotoxinas termossensíveis são proteínas secretadas que se ligam a receptores celulares, dentro da célula, e elevam o nível de AMP cíclico das células intestinais, causando mudanças no fluxo de íons e excesso de secreção do fluído, resultando na diarreia aquosa. A enterotoxina de *Campylobacter* é homóloga à toxina do *Vibrio cholerae* e a toxina termolábil de *E. coli*.

2. As citotoxinas são proteínas que causam danos às células intestinais como um pré-requisito para o início da secreção de líquidos; são invasivas e destroem as células-alvo. Seu modo de ação pode ser tanto intracelular quanto pela formação de poros nas células. As citotoxinas intracelulares inibem a síntese protéica da célula ou a formação de filamento de actina. As citotoxinas que causam formação de poros nas células-alvo podem ser detectadas por sua atividade lítica nos eritrócitos. As citotoxinas resultam em diarreia inflamatória, a qual normalmente contém sangue e leucócitos.

3. As toxinas citoletais distensoras que afetam o ciclo regulatório da célula hospedeira. As toxinas inibem a desfosforilação da proteína-quinases cdc2 e previnem que as células realizem a mitose e também pode causar diarreia.

2.2.2. A importância de *Enterococcus* spp. para a indústria de alimentos

Enterococcus como grupo foi observado primeiramente em 1899, e o gênero *Enterococcus* foi proposto apenas em 1903, como diplococos Gram-positivos de origem intestinal. Por volta de 1906, pesquisadores classificaram uma bactéria potencialmente patogênica de um paciente com endocardites como *Streptococcus faecalis*. Na década de 30, foi desenvolvido um sistema de tipagem sorológica para streptococos, sendo que esses de origem fecal possuíam o antígeno D. Desse estudo

foi proposta uma nova classificação para o gênero *Streptococcus*, o qual foi agrupado dentro de quatro divisões designadas: piogênica, viridans, lática e enterococos. O grupo dos enterococos incluía *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus bovis* e *Streptococcus equinus* como cepas do grupo D (FRANZ et al., 1999).

A taxonomia clássica dos enterococos é vaga, uma vez que, não há características fenotípicas que os distinguem de outros microrganismos Gram-positivos, catalase-negativa, e em forma de cocos. A maioria das espécies de *Enterococcus* pode ser distinguida por sua habilidade para crescer a 10 °C e a 45 °C, ótimo a 37 °C, em concentrações de 6,5 % de sal, em pH de 9,6, com 40 % de bile e sobreviver em temperaturas de 60 °C por 30 minutos. Os membros do gênero *Enterococcus* são células espirais ou ovóides, ocorrendo aos pares ou em cadeias curtas. Não formam endósporos. São anaeróbios facultativos, quimioorganotróficos com metabolismo fermentativo; uma ampla variedade de carboidratos é fermentada com a produção principalmente de L(+) ácido láctico, sendo considerados homofermentativos (BERGEY'S, 1993; DEVRIESE et al., 1995).

Mais de 20 espécies de *Enterococcus* são reconhecidas. Várias cepas são usadas na produção de probióticos e outras estão envolvidas na obtenção de produtos fermentados, tais como certos queijos e outros produtos lácteos fermentados. Em produtos fermentados as cepas contribuem na maturação e desenvolvimento de aroma os quais são resultante da atividade proteolítica e lipolítica, assim como a produção de diacetil. *E. faecium* e *E. faecalis* são as duas espécies proeminentes e desempenham importante papel na ocorrência de doenças de origem alimentar em humanos (FRANZ et al., 2003; DOMIG et al., 2003).

Como habitante regular do intestino de humanos e animais, os enterococos podem servir como indicadores de contaminação fecal devido a sua alta tolerância ao calor e capacidade de sobreviver em condições ambientais extremas, tendo assim grande importância para os alimentos e na microbiologia de saúde pública. *E. faecalis* e *E. faecium* têm sido considerados agentes causadores de doenças de origem alimentar.

E. faecalis tem sido considerado de grande importância na microbiologia clínica como um dos causadores de infecções nosocomiais e superinfecções como endocardites, bactericemia, infecções do trato urinário, neonatal, sistema nervoso,

intraabdominal e pélvica. Cepas de *E. faecium* e de *E. faecalis* têm desenvolvido resistência a muitos antibióticos usados na medicina clínica. Daí a importância dos microbiologistas de alimentos avaliarem o significado desse microrganismo nos alimentos (FRANZ et al., 1999; FRANZ et al., 2003).

A microbiota intestinal de aves jovens contém principalmente *E. faecium* e *E. faecalis*, embora *E. cecorum* possa estar presente em aves com mais de 12 semanas. A presença de *Enterococcus* não está associada somente com animais de sangue quente, mas também em solos, águas, plantas e vegetais (DEVRIESE et al., 1995).

A presença de *Enterococcus* no trato gastrointestinal dos animais leva a uma alta contaminação da carne ainda no abatedouro. Estudos revelam alta incidência do microrganismo em carcaças de bovinos, aves e suínos. O aquecimento de carnes processadas durante a produção pode conferir uma vantagem seletiva devido ao fato desse microrganismo ser um dos mais termotolerante, quando comparado a outros microrganismos não esporulantes.

Estudos revelam que *Enterococcus* podem ser encontrados em equipamentos nas fazendas que criam animais, nos animais e em fezes humanas. Esse microrganismo pode ser naturalmente transmitido de alimentos de origem animal para o trato gastrointestinal de humanos. A ingestão de cepas resistentes a vancomicina isoladas de aves colonizou o intestino de humanos durante 20 dias (GELSOMINO et al., 2002; BERCHIERI, 1999).

Algumas cepas de enterococos incluindo *E. faecium* e *E. faecalis* são conhecidas por produzirem bacteriocinas. As enterocinas geralmente são ativas contra outros enterococos, com também, contra cepas de *Listeria monocytogenes*. A atividade anti-*Listeria* pode ser explicada pelo fato que enterococos e listeria serem filogeneticamente próximas. Algumas enterocinas são ativas contra outras bactérias do ácido lático além de outras cepas como *Clostridium* spp., incluindo *C. botulinum*, *C. perfringens* e *C. tyrobutyricum* (GIRAFFA, 1995).

Probióticos são culturas puras ou mistas de microrganismos vivos que, quando consumidos por animais ou o homem afeta beneficemente o hospedeiro por melhorar as propriedades da microbiota residente. Os efeitos funcionais relacionados pelos probióticos são: inibição de patógenos, fortalecimento da mucosa intestinal, atividades anti-mutagênica e anticarcinogênica, estimulação do sistema imune e abaixamento do nível de colesterol no sangue. *E. faecium* e *E. faecalis* têm sido utilizados em preparações de probióticos para humanos e *E. faecalis* é mais

comumente usado como suplemento alimentar para animais. A cepa SF68 de *E. faecium* tem sido estudada minuciosamente para uso como probiótico humano, especialmente no tratamento de diarreias. Sua efetividade no tratamento de distúrbios intestinais pode ser atribuída pelo fato do microrganismo ser um comensal do intestino e apresentar uma curta fase lag e um tempo de geração de 20 minutos em condições ótimas.

Esta cepa é moderadamente resistente a antibióticos e tem efeito inibidor *in vitro* do crescimento de *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *Enterobacter* spp. Também é resistente a baixo pH, insensível aos sais biliares (CANGANELLA et al., 1996; KLEIN, 2003).

O uso de *Enterococcus* como probiótico permanece controverso. Apesar de algumas cepas serem usadas como probiótico, a emergência de cepas resistentes a antibiótico e maior associação de enterococos com doenças humanas tem elevado a preocupação com o uso dos mesmos. A preocupação é que genes de resistência ou genes que codificam fatores de virulência possam ser transferidos para cepas probióticas no trato gastrointestinal (FRANZ et al., 2003).

Por muitos anos, enterococos foi considerado um comensal inofensivo devido ao seu baixo potencial patogênico. Esse fato é verdadeiro, uma vez que, no microrganismo faltam os fatores de virulência quando comparado com outros patógenos Gram-positivos como *Streptococcus* patogênicos, *S. aureus* e *L. monocytogenes*. Para enterococos causar infecção, é necessário que o microrganismo colonize o tecido do hospedeiro, resista aos mecanismos de defesa específicos e não-específicos do hospedeiro e produza mudanças patológicas. Os principais fatores de virulência são: aderência ao tecido hospedeiro, invasão e formação de abscesso, resistência e modulação dos mecanismos de defesa do hospedeiro, secreção de citolisinas e outros produtos tóxicos e produção de feromônios codificados por plasmídeos. Um número de genes que codificam fatores de virulência (especialmente em *E. faecalis*) tem sido seqüenciado, caracterizado e seus efeitos têm sido mostrado em estudos com humanos e animais. Recentes estudos na área médica indicaram que cepas de *E. faecalis* isoladas de humanos têm mais determinantes de virulência do que cepas encontradas em alimentos (GIRAFFA, 2002).

2.3. MATERIAL E MÉTODOS

Realizou-se a coleta de dados ao longo de um período de 1 ano, observando-se duas estações distintas: verão e inverno. As amostras foram coletadas em duas granjas de criação de frangos de corte, com diferentes sistemas de criação: uma granja convencional localizada a 3 Km da cidade de Viçosa e uma granja automatizada localizada a 30 Km da cidade de Viçosa, ambas na região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais. As análises foram conduzidas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Higiene Industrial do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa.

Os dados meteorológicos de temperatura, umidade e índice pluviométrico dos anos de 1999 a 2004 nas estações de inverno e verão foram obtidos junto a Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa.

2.3.1. Amostragem

Em cada granja, o galpão constituiu a amostra do estudo. Foram realizadas análises no galpão vazio, e posteriormente, avaliado em três etapas distintas: no dia do recebimento das aves, após 21 dias de criação e na retirada das aves (ou seja, aproximadamente 45 dias após recebimento das mesmas).

A partir das medidas de comprimento do galpão, o mesmo foi dividido em quadrantes no sentido do comprimento e amostrado no sentido frente-fundo em cinco quadrantes opostos.

No galpão vazio, após o processo desinfecção, foram avaliados o chão e as paredes.

No galpão com aves, em cada quadrante amostrado foram analisadas a cama, os bebedouros, e as cloacas das aves. Ressalta-se que a cama foi avaliada antes do alojamento das aves, quando ainda limpa (Figura 1).



Figura 1. Organograma dos diferentes fatores avaliados.

Foram avaliados três tipos de rações oferecidas as aves nas diferentes etapas de criação (Figura 2). Em cada fase de criação retirou-se uma amostra de 25 g de ração do silo localizado na granja para realizar as análises. A água de abastecimento do galpão também foi analisada físico-química e microbiologicamente.

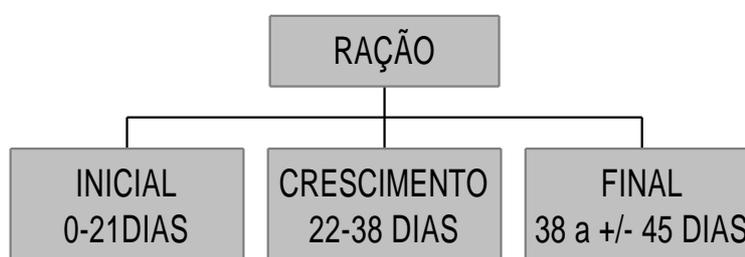


Figura 2. Tipos de ração oferecidas as aves.

Para avaliar o chão e as paredes do galpão vazio dentro de cada quadrante, usaram-se swabs (2x1cm). Um conjunto de 10 swabs formava uma única amostra por

cada quadrante. Coletou-se amostra em 5 pontos diferentes do quadrante em uma área aproximada de 40 cm².

Dez porções de cama (aproximadamente 250g cada porção) foram coletadas em cada quadrante. Após homogeneização destas porções, por técnica de quarteamento, retirou-se uma alíquota representativa de 10 g para análises microbiológicas (BAM, 2001).

A análise dos bebedouros, escolhidos aleatoriamente no quadrante, foi feita usando-se swabs (2x1 cm). Cada 10 bebedouros formavam uma única amostra. Avaliou-se a cloaca de cinco aves por quadrante (EVANS e SAYERS, 2000) usando-se swabs (1x0,5 cm - cotonetes® Johnsons), como descrito anteriormente, o conjunto de swabs formava uma única amostra por quadrante.

2.3.2. Análises microbiológicas

2.3.2.1. Preparo das amostras

Para a análise da água, usaram-se 10 mL da amostra coletada imediatamente antes do abastecimento dos bebedouros no galpão (BAM, 2001). Vinte cinco gramas de cada tipo de ração foram coletadas para análises microbiológicas (STERN et al., 2001).

Os swabs obtidos da amostragem do chão e parede foram rinsados em 100 mL de água peptonada. Retiraram-se alíquotas de 10 mL de cada amostra às quais adicionaram-se 90 mL de caldo de enriquecimento específico para cada microrganismo estudado.

De porções de cama obtidas em cada quadrante, retirou-se uma alíquota representativa de 10 g para análise, adicionando-se à mesma 90 mL de caldo de enriquecimento específico para cada microrganismo estudado (BAM, 2001).

Os swabs de cloaca foram rinsados em 50 mL de água peptonada e os swabs de bebedouros em 100 mL de água peptonada. Retiraram-se alíquotas de 10 mL de cada amostra às quais adicionaram-se 90 mL de caldo de enriquecimento específico para cada microrganismo estudado.

As análises microbiológicas foram realizadas em triplicata.

2.3.2.2. *Campylobacter* spp.

Para avaliação de *Campylobacter*, em cada amostra coletada foi adicionado caldo de enriquecimento Preston (Oxoid) com suplemento de enriquecimento

seletivo (Oxoid), carvão ativado e 5 % de solução redutora FBP (FILGUEIRAS e HOFER, 1989; OYARZABAL, et al., 2005). As amostras foram incubadas a 42 °C por 48 h, obedecendo às condições de microaerofilia (PENNIE et al., 1984). A partir dos caldos e por técnica de esgotamento por estria, transferiu-se o inóculo para placas contendo ágar base seletivo *Campylobacter* spp (Merck) adicionado de carvão ativado, 5 % de solução redutora FBP e suplemento seletivo (Merck), seguido de incubação a 42 °C por 48 h. Foram selecionadas cinco colônias típicas e transferidas para caldo BHI sendo estocadas a -70 °C para posterior identificação bioquímica.

2.3.2.3. *Enterococcus* spp.

Para avaliação de *Enterococcus*, em cada amostra foi adicionado caldo de enriquecimento azida dextrose (Oxoid), incubando-se a 37 °C por 48 h. A partir dos caldos e por técnica de esgotamento por estria, transferiu-se o inóculo para placas contendo ágar Seletivo Slanetz and Bartley (Oxoid), seguido de incubação a 37 °C por 48 h (BAM, 2001). Foram selecionadas cinco colônias típicas e transferidas para caldo BHI sendo estocadas a -70 °C para posterior identificação bioquímica.

2.3.3. Provas Bioquímicas

2.3.3.1. *Campylobacter* spp.

Foram realizados os testes da catalase, redução do nitrato, produção de H₂S em tiras de acetato de chumbo e coloração de Gram para a confirmação do gênero *Campylobacter*. Na identificação da espécie realizou-se o teste da hidrólise de hipurato (BAM, 2001).

2.3.3.2. *Enterococcus* spp.

Utilizou-se o kit *Readycult Enterococci* 100 (Merck) para a confirmação do gênero *Enterococcus*. Para a avaliação, a cada 100 mL de água estéril foi adicionado um envelope do reagente sólido. Homogeneizou-se bem de forma a que não ficassem grânulos no fundo do erlemeyer. Em seguida distribuiu-se 9mL deste caldo em tubos de ensaio com tampa adicionando-se 1 mL da cultura pura isolada seguido de incubação a 37 °C por 24 h.

Na identificação da espécie realizaram-se os testes de tolerância ao telurito e o teste de utilização do piruvato (DAY et al., 2001).

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. Avaliação do ambiente de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado nas estações de inverno e verão

2.4.1.1. Análise físico-química da água de abastecimento

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise físico-química da água de abastecimento das granjas. Comparando tais resultados com os parâmetros da Portaria n° 518 do Ministério da Saúde, de 25 de março de 2004 (BRASIL, 2004) que trata da qualidade da água potável, observa-se que a água de abastecimento fornecida nos dois sistemas de criação encontrava-se dentro dos limites estabelecidos pela referida Portaria para os parâmetros avaliados.

Tabela 2. Análise físico-química e microbiológica da água de abastecimento dos sistemas convencional e automatizado

Parâmetros	Padrão*	Convencional	Automatizado
pH	6,5 – 8,5	7,1	6,9
Acidez (mg/L CO ₂)	5 – 20	18,3	12,1
Alcalinidade (mg/L CaCO ₃)	10 – 50	32,8	50,0
Cloreto (mg/L NaCl)	250	18,5	12,1
Cloro (mg/L Cl ₂)	< 2	1,8	2,6
Coliformes totais (NMP/100mL)	< 2	0,3	0,3
Coliformes a 45°C fecais (NMP/100mL)	< 2	< 2	< 2
Mesófilos (UFC/mL)		1 x 10 ⁰	1 x 10 ⁰
Psicrotróficos (UFC/mL)		1 x 10 ⁰	1 x 10 ⁰

* Portaria 518/2004 do Ministério da Saúde

2.4.1.2. Características ambientais

Os dados referentes à temperatura, umidade e índice pluviométrico de verão e inverno dos anos compreendidos entre 1999 a 2002 estão apresentados nas figuras 3 a 6 e 9 a 12 (anexo). Observa-se que as temperaturas registradas tanto no verão (14 – 30 °C) quanto no inverno (8 – 15 °C) não variam muito, mostrando que na região avaliada não foram observadas variações extremas entre essas duas estações, ao longo deste período, como se observa normalmente no hemisfério norte.

Ao analisar os resultados obtidos nos anos de 2003 e 2004 na estação do verão comparando-a com a estação do inverno (figuras 7, 8, 13 e 14) (anexo), nota-se que não ocorreu interferência da estação no grau de contaminação dos ambientes nos dois sistemas de criação por ambos os microrganismos. Resultados contrários foram observados por JACOBS-REITSMA et al. (1994), WEDDERKOPP et al. (2001) e BOUWKNEGT et al. (2004), em que a incidência da microbiota de *Campylobacter* spp. foi maior no verão.

Uma alta incidência de *Campylobacter* spp. e de *Enterococcus* spp., na estação do inverno não é típica, uma vez que, esta estação é caracterizada por baixas temperaturas, sendo esta limitante ao desenvolvimento desses microrganismos. Portanto, a ausência de diferença nos índices de contaminação das duas estações é justificada pelo fato que nas nossas condições não foi possível detectar grandes diferenças de temperaturas entre as duas estações. Ao avaliar dados meteorológicos dos últimos 5 anos, percebe-se que a diferença da amplitude térmica entre as estações de verão e de inverno não é tão acentuada, sendo possível o desenvolvimento desses microrganismos nestas estações. No período da coleta (inverno de 2003 e verão de 2004) ocorreu um inverno atípico, onde houve a incidência de temperaturas maiores do que normalmente ocorre.

2.4.2. Prevalência de *Campylobacter* spp. e de *Enterococcus* spp. em diferentes fases de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado na estação de inverno

Campylobacter spp. e *Enterococcus* spp. não foram detectados nas análises realizadas após o período de vazio sanitário do galpão, nos dois sistemas de criação. É condição essencial para garantir a sanidade das aves que o galpão apresente boas condições de higiene, ao ser preparado para recepção de um novo lote de aves. Isto pode ser conseguido com uma boa distribuição da cama e dos equipamentos limpos,

desinfetados e em perfeitas condições de uso, e com a checagem dos equipamentos de aquecimento. Deve-se também preparar os círculos de proteção. Os círculos de proteção são estruturas formadas de chapas de compensado montadas de forma a proteger os pintinhos de correntes de ar e evitar que eles se afastem da fonte de aquecimento, da água e do alimento durante os primeiros dias de vida (8 - 15 dias), sendo distribuídos uniformemente ao longo do galpão.

Nos dois sistemas de criação, os galpões foram pré-aquecidos, com temperatura estabilizada pelo menos 24 horas antes da chegada das aves. Água e ração estavam disponíveis para as aves no momento da recepção. No galpão convencional foram montados três círculos de proteção e no galpão automatizado, por permitir melhor controle das condições ambientais, foram montados somente dois círculos ao longo do comprimento do galpão.

Os pintinhos foram distribuídos nos círculos de proteção calmamente, para evitar quedas. No galpão convencional a partir do quinto dia aumentou-se a área circunscrita pelas chapas unindo os círculos em dois. Após aproximadamente 15 dias os círculos foram totalmente retirados. No galpão automatizado os círculos foram retirados no 15º dia.

A Tabela 3 apresenta a contaminação por *Campylobacter* spp. e por *Enterococcus* spp. no galpão de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado no inverno de 2003. Observou-se que *Campylobacter* spp. foi detectado em todos os fatores avaliados nos diferentes sistemas de criação, exceto na água de abastecimento.

Tanto no sistema convencional quanto no sistema automatizado constatou-se que na 1ª fase de criação (0 - 21 dias), todas as aves avaliadas estavam contaminadas, sendo as mesmas oriundas de um mesmo incubatório. Apesar dos estudos mostrarem que a contaminação por *Campylobacter* spp. inicia-se preferencialmente após a 2ª semana (SMITHERMAN, et al., 1984; GENIGEORGIS et al., 1986; EVANS e SAYERS, 2000; SAHIN et al., 2001; STERN, et al., 2001), observou-se que nas nossas condições, a contaminação provavelmente, ocorre já no incubatório podendo estar associada a más condições de higiene em algumas etapas do processo de incubação, uma vez que vários estudos relatam a improvável contaminação originada de transmissão vertical (DOYLE 1984; GENIGEORGIS et al., 1986; SAHIN et al., 2001).

Tabela 3. Prevalência (%) de *Campylobacter* spp. e *Enterococcus* spp. em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação nos sistemas de criação convencional e automatizado durante a estação de inverno do ano de 2003.

Fatores	Sistema Convencional			Sistema automatizado		
	0-21 dias	22-39 dias	40-44 dias	0-21 dias	22-39 dias	40-44 dias
Cloaca						
<i>Campylobacter</i> spp.	100	20	60	100	100	100
<i>Enterococcus</i> spp.	80	ND	100	100	ND	80
Bebedouro						
<i>Campylobacter</i> spp.	100	60	40	60	80	ND
<i>Enterococcus</i> spp.	80	ND	100	100	80	80
Cama						
<i>Campylobacter</i> spp.	100	60	100	100	100	80
<i>Enterococcus</i> spp.	40	ND	100	60	40	100
Ração						
<i>Campylobacter</i> spp.	100	100	ND	100	100	100
<i>Enterococcus</i> spp.	100	ND	100	100	100	100
Cama limpa						
<i>Campylobacter</i> spp.	100	*	*	100	*	*
<i>Enterococcus</i> spp.	ND	*	*	ND	*	*
Água						
<i>Campylobacter</i> spp.	ND	*	*	ND	*	*
<i>Enterococcus</i> spp.	ND	*	*	ND	*	*

* não avaliado; ND – Não detectado

Campylobacter spp. geralmente coloniza o trato gastrointestinal, onde os microrganismos localizam-se, principalmente na mucosa do ceco e da cloaca, não causando mudança patológica evidente. Uma vez que o microrganismo é isolado de um lote, rapidamente todas as aves são colonizadas, ocorrendo a disseminação do microrganismo também no ambiente de criação (FRANCO, 1988).

Analisando os demais fatores, nota-se que a contaminação rapidamente se espalhou por todo o galpão.

Esperava-se que, inicialmente, que na cama limpa não fosse detectado a presença de *Campylobacter* spp., uma vez que não é um meio comum de crescimento do mesmo. A contaminação da serragem utilizada como cama pode ser resultante da má estocagem da mesma, em locais impróprios, podendo assim favorecer a presença de roedores que atuam como carreadores de *Campylobacter* e outros contaminantes. Resultados semelhantes foram observados por MONTROSE et al., (1984) em que a cama com o microrganismo presente, atuou como uma importante fonte de transmissão do patógeno para as aves. O fato da cama limpa se encontrar contaminada, sugere a possibilidade da mesma atuar como fonte de transmissão do patógeno para o pintinho que chega na granja.

As análises realizadas na ração oferecida às aves mostram que esta também se encontrava contaminada. A fonte dessa contaminação pode ser originada na própria fábrica de produção, ou ainda, proveniente da contaminação cruzada com outras rações de lotes anteriores, uma vez que, o silo não passa por nenhum processo de limpeza e desinfecção.

Segundo SILVA (2001) a contaminação da ração animal tem sido reconhecida como fonte primária de infecção nos animais, originando grande número de portadores clinicamente sadios, mas potenciais disseminadores de patógenos em carcaças.

As medidas de controle para evitar contaminação da ração podem ser exercidas pela sanitização de todo equipamento responsável pela mistura, estocagem e transporte da ração. Devem ser realizada limpeza, higiene e correto manuseio dos equipamentos de distribuição, comedouros e bebedouros, no período de criação. Cuidados com higiene pessoal, sapatos, roupas e mãos dos funcionários, principalmente, se não forem exclusivos da área, devem ser constantemente monitoradas, bem como proibida a circulação dos mesmos entre lotes de aves de idades diferentes (SANTOS, 1998).

Quando se observa a microbiota de *Enterococcus* spp., ainda na fase inicial (Tabela 3), nota-se que no sistema convencional a incidência de contaminação por este microrganismo foi menor do que para *Campylobacter*. Este resultado pode estar relacionado ao fato de que microrganismos como *Enterococcus* normalmente são encontrados no trato intestinal das aves, fazendo parte da microbiota residente (GIRAFFA, 2002). Portanto, outros microrganismos patogênicos tais como *Campylobacter* podem estar colonizando o intestino dessas aves em maior número.

Tanto as aves quanto os bebedouros e a cama apresentaram um grau de contaminação menor por *Enterococcus* spp.. Analisando os resultados, observou-se que normalmente a contaminação encontrada era maior nos três primeiros quadrantes, onde havia maior concentração das aves. O fato das aves se concentrarem em uma determinada área do galpão pode ser devido às falhas no sistema de aquecimento, uma vez que, nessa fase inicial elas são mais exigentes quanto à temperatura ótima. O sistema de aquecimento utilizado nessa granja era por campânulas convencionais que servem como fonte de aquecimento dos pintos nos primeiros dias de vida e podem ser fixadas ao madeiramento do aviário por meio de corrente ou adaptada ao sistema de catracas. A regulação da temperatura poderá ser feita elevando-a ou abaixando-a em relação ao nível do piso. Portanto, o comportamento dos pintos é um indicador satisfatório da adequada temperatura da campânula. Os pintos devem estar homoganeamente espalhados dentro do círculo de proteção. A temperatura sob a campânula deve ser de 32 °C. Outro fator que pode ter levado ao amontoamento das aves em determinada área é a entrada de correntes de ar dentro do galpão. Este fato pode ter ocorrido, principalmente devido às condições precárias, ou seja, existência de vários orifícios, das cortinas utilizadas no galpão.

Observa-se que o mesmo não ocorreu no sistema automatizado, sendo que a contaminação por esses dois microrganismos foi igual em todos os fatores avaliados, exceto na cama limpa e na água de abastecimento da granja, onde *Enterococcus* spp. não estava presente. Novamente as aves se concentravam mais nos três primeiros quadrantes, podendo também estar associado às falhas no sistema de aquecimento. O sistema de aquecimento desse galpão era de aquecimento do galpão inteiro, sendo que criava-se um gradiente de temperatura que empurrava o ar quente (originado das campânulas a gás) para dentro do aviário através de um ou mais pontos.

Ao avaliar a prevalência de *Campylobacter* spp. e de *Enterococcus* spp. na 2ª fase de criação (21 - 39 dias), para o sistema convencional notou-se que ocorreu

redução do isolamento da microbiota de *Campylobacter* spp. nas aves (Tabela 3). Essa redução pode estar relacionada ao quadro de diarreia apresentado pelas mesmas nesta fase. Segundo informações obtidas junto ao funcionário da granja essa diarreia durou cerca de uma semana, sendo administrado um antibiótico para controle da mesma. *Enterococcus* spp. não foi detectado nessa fase de criação, novamente podendo estar associada à presença da diarreia e o uso de medicação (Tabela 3).

Os resultados indicam que a menor incidência de *Campylobacter* spp. e a não detecção de *Enterococcus* spp. podem estar associadas à colonização do intestino dessas aves, por outro microrganismo ou parasita oportunista, favorecendo uma competição entre os diferentes grupos. Assim, o desenvolvimento desses microrganismos ficou limitado, possivelmente por serem maus competidores, ou seja, as condições adversas limitam facilmente seu desenvolvimento. Estudos também demonstram que um declínio no número de aves eliminando *Campylobacter* spp. após 19º dia de criação, pode ser resultante do desenvolvimento de resistência das aves ou ainda desenvolvimento da microflora intestinal endógena, como *Lactobacillus*, que são predominantes após 14º dia. *Lactobacillus acidophilus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* têm sido efetivos contra a colonização de *C. jejuni* em estudos de exclusão competitiva (ACHEN, et al., 1998).

Ao observar os dados referentes ao sistema automatizado, percebe-se que microbiota de *Campylobacter* spp. persistiu em todo o ambiente de criação nos diferentes fatores avaliados (Tabela 3). Já na microbiota de *Enterococcus* spp. ocorreu redução, não sendo possível detectar a presença do microrganismo nas aves. Ainda nesse período de criação, novamente as aves apresentaram quadro de diarreia, sendo utilizada a mesma medicação do sistema convencional. Portanto, a não detecção de *Enterococcus* spp. nos swabs das cloacas pode estar associada à colonização em maior grau do intestino dessas aves por outros microrganismos, uma vez que, *Enterococcus* spp. por fazerem parte da microbiota residente, podem ter sido suprimido por outros microrganismos menos exigentes. Apesar das aves não apresentarem contaminação por *Enterococcus* spp., a detecção destes nos bebedouros, na cama e na ração é resultante da presença do mesmo desde o início do período de criação (Tabela 3).

Na 3ª fase de criação (39 - 44 dias) no sistema convencional, nota-se que a microbiota de *Campylobacter* spp. e de *Enterococcus* spp. voltou a ser detectada nas aves, quando comparado àquelas da 2ª fase (Tabela 3). Esse resultado pode ser

justificado pelo controle da diarreia, eliminando assim a flora competidora e supressão do antibiótico, estando às aves com aspecto físico mais saudável. Novamente observa-se a extensão da contaminação nos bebedouros e na cama.

Na análise da ração final oferecida às aves foi possível observar contaminação somente por *Enterococcus* spp.

No sistema automatizado ao avaliar os diferentes fatores constatou-se que ocorreu uma persistência na microbiota de *Campylobacter* spp. A mesma observação do sistema convencional pode ser feita para a microbiota de *Enterococcus* spp., em que foi possível detectar novamente a presença do microrganismo nas aves avaliadas, podendo ser justificado pelo controle da diarreia (Tabela 3).

2.4.3. Prevalência de *Campylobacter* spp. e *Enterococcus* spp. em diferentes fases de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado na estação de verão

A Tabela 4 mostra a prevalência de *Campylobacter* spp. e de *Enterococcus* spp. em galpão de criação de frango de corte nos sistemas convencional e automatizado no verão de 2004.

Na 1ª fase de criação (0-21 dias) resultados semelhantes aos encontrados na estação de inverno foram obtidos, sendo que as aves alojadas no verão, também apresentavam alta prevalência de contaminação por *Campylobacter* spp. e por *Enterococcus* spp. em ambos os sistemas de criação (Tabela 4). A alta contaminação detectada nos bebedouros e na cama é resultante da presença de aves contaminadas no ambiente de criação.

Estudos mostram que *Campylobacter* spp. pode sobreviver por períodos extensos no ambiente e nas aves, desta forma padrões higiênicos deficientes podem permitir a disseminação e infecção de novos lotes ao persistir em ciclos de produção sucessivos (ONO e YAMAMOTO, 1999).

Tabela 4. Prevalência (%) de *Campylobacter* spp. e *Enterococcus* spp. em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação nos sistemas de criação convencional e automatizado durante a estação de verão do ano de 2004.

Fatores	Sistema Convencional			Sistema automatizado		
	0-21 dias	22-39 dias	40-49 dias	0-21 dias	22-39 dias	40-49 dias
Cloaca						
<i>Campylobacter</i> spp.	60	100	60	100	100	100
<i>Enterococcus</i> spp.	60	100	100	100	80	100
Bebedouro						
<i>Campylobacter</i> spp.	60	100	80	100	100	80
<i>Enterococcus</i> spp.	40	100	100	100	80	80
Cama						
<i>Campylobacter</i> spp.	100	100	100	100	100	100
<i>Enterococcus</i> spp.	40	40	100	100	40	100
Ração						
<i>Campylobacter</i> spp.	ND	100	100	100	100	100
<i>Enterococcus</i> spp.	100	100	100	100	100	100
Cama limpa						
<i>Campylobacter</i> spp.	100	*	*	100	*	*
<i>Enterococcus</i> spp.	100	*	*	100	*	*
Água						
<i>Campylobacter</i> spp.	ND	*	*	ND	*	*
<i>Enterococcus</i> spp.	ND	*	*	ND	*	*

* não avaliado; ND- Não detectado

Esperava-se que, inicialmente, a cama limpa não estivesse contaminada, uma vez que, não é um meio comum de crescimento de *Campylobacter* spp. e de *Enterococcus* spp. Portanto, a contaminação da cama limpa pode ser resultante da contaminação da serragem usada no sistema convencional e da casca de café usada no sistema automatizado por roedores, animais contaminados ou ainda más condições de estocagem dos materiais utilizados. Não foi possível detectar a presença de *Campylobacter* na ração, sendo encontrado somente *Enterococcus*. Já no sistema automatizado a ração inicial encontrava-se contaminada por ambos os microrganismos.

Na 2ª fase (21 - 39 dias) e 3ª fase (39 - 49 dias) tanto no sistema convencional quanto automatizado a contaminação por *Campylobacter* spp. e por *Enterococcus* spp. persistiu em todos os fatores avaliados (Tabela 4).

Notou-se ainda que no sistema convencional a contaminação aumentou a partir da 2ª fase, podendo estar associada a entrada de ar e insetos durante o período em que as cortinas são recolhidas para renovação do ar dentro do galpão. O ar e os insetos podem atuar como carreadores de microrganismos.

2.4.4. Identificação Bioquímica

2.4.4.1. *Campylobacter* spp.

Os resultados da identificação bioquímica quanto ao gênero revelaram que as cepas avaliadas eram Gram-negativas, catalase positivas, reduziram o nitrato e apresentaram reação positiva no teste de acetato de chumbo, ocorrendo o escurecimento da tira. Observou-se também que todas as cepas identificadas como *Campylobacter* nas estações de inverno e de verão hidrolisaram o hipurato, sendo portanto, identificadas como *C. jejuni*.

2.4.4.2. *Enterococcus* spp.

Na identificação bioquímica quanto a confirmação do gênero, as cepas foram identificadas como do gênero *Enterococcus*, uma vez que foi possível visualizar a mudança de coloração do meio de amarelo para verde, resultante da quebra do substrato X GLU cromogênio pela enzima β -D glucosidase. 90 % das cepas isoladas foram *E. faecium* apresentando resultado negativo para o teste de tolerância

ao telurito e teste de utilização do piruvato. Somente 10 % das cepas avaliadas foram identificadas como *E. faecalis*.

Esses resultados estão em concordância com a literatura em que estudos revelam que em frango de corte as espécies de ocorrência mais freqüente são *C.jejuni*, *C. coli*, *E. faecium* e *E. faecalis* (SOLOMON e HOOVER, 1999; FRANZ et al., 1999).

2.5. CONCLUSÕES

Não ocorreu interferência da estação do ano no grau de contaminação por *Campylobacter* e *Enterococcus* dos ambientes nos sistemas de criação convencional e automatizado pelos resultados obtidos na avaliação meteorológica da região onde as granjas estão localizadas.

Enterococcus spp. e *Campylobacter* spp. não foram detectados nas análises realizadas após o período de vazio sanitário do galpão, nos dois sistemas de criação. É condição essencial para garantir a sanidade das aves que o galpão apresente boas condições de higiene, ao ser preparado para recepção de um novo lote de aves. Notou-se também que, a água de abastecimento fornecida nos dois sistemas de criação não apresentou contaminação por *Campylobacter* spp. e *Enterococcus* spp.

Observou-se ainda que independente do sistema de criação utilizado e estação do ano, foi possível detectar *Campylobacter* spp. e *Enterococcus* spp. ao longo do período de criação das aves. Na identificação bioquímica, as cepas de *Campylobacter* foram identificadas como *C. jejuni*. Já em relação às cepas de *Enterococcus*, 90% dos isolados foram *E. faecium* e 10 % *E. faecalis*.

Portanto, medidas de controle devem ser tomadas visando reduzir a contaminação com estes patógenos desde o incubatório, na granja e na indústria de processamento, de tal forma que a criação de um programa de treinamento de mão de obra e a adoção de boas práticas agropecuárias possa interromper ou minimizar o ciclo de contaminação dos patógenos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHEN, M.; MORISHITA, T.Y.; LEY, E.C. Shedding and colonization of *Campylobacter jejuni* in broilers from day-of-hatch to slaughter age. **Avian Diseases**, Pennsylvania, v.42, p. 732-737, 1998.

ALLOS, B.M.; BLASER, M.J. *Campylobacter jejuni* and the expanding spectrum of related infections. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v.20, p.1092–1101, 1995.

BAM-BACTERIOLOGICAL ANALYTICAL MANUAL ONLINE. *Campylobacter* U.S. Food & Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, Chapter 7, 2001.

BERCHIERI, A. Intestinal colonization of a human subject by vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. **Clinical Microbiology and Infection**, Cambridge, v. 5, p. 97-100, 1999.

BERGEY- **Manual of Determinative Bacteriology**. 9rd Ed., (J.G. Holt; N.R. Krieg; P.H.A. Sneath; J.T. Staley and S.T. Williams, eds.). 790p. Willians & Wilkins, 1993.

BERNDTSON, E.; DANIELSSON-THAM, M.L.; ENGVALL, A. *Campylobacter* incidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.32, p. 35-47, 1996.

BOLDER, N.M. The microbiology of the slaughter and processing of poultry. In: DAVIES, A.; BOARD, R. **The Microbiology of Meat and Poultry**. Blackie Academic & Professional, 1999, chapter 5, p. 158-171.

BOUWKNEGT, M.; van de GIESSEN, A.W.; DAM-DEISZ, W.D.C.; HAVELAAR, A.H.; NAGELKERKE, N.J.D.; HENKEN, A.M. Risk factors for the presence *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.62, p.35-49, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004, Normas e padrão de potabilidade da água destinada ao consumo humano. **Diário Oficial** (da República Federativa do Brasil), Brasília.

CANGANELLA, F.; GASBARRI, M.; MASSA, S.; TROVATELLI, L.D. A microbiological investigation on probiotic preparations used for animal feeding. **Microbiol. Research**, Jena, v. 151, p.167-175, 1996.

CHE, Y.; LI, Y.; SLAVIK, M. Detection of *Campylobacter jejuni* in poultry samples using an enzyme-linked immunoassay coupled with an enzyme electrode. **Biosensors & Bioelectronics**, Ingham, v.16, p.791-797, 2001.

DAY, A.M.; SANDOE, J.A.T.; COVE, J.H.; PHILLIPS-JONES, M.K. Evaluation of a biochemical test scheme for identifying clinical isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.33, p.392-396, 2001.

DEVRIESE, L.A.; POT, B.; VAN DAMME, L.; KERSTERS, K.; HAESBROUCK, F. Identification of *Enterococcus* species isolated from foods of animal origin. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.26, p. 187-197, 1995.

DOMIG, K.J.; MAYER, H.K.; KNEIFEL, W. Methods used for the isolation, enumeration, characterization and identification of *Enterococcus* spp. 1. media for isolation and enumeration. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.88, n.2-3, p.147-164, 2003.

DOYLE, M.P. Association of *Campylobacter jejuni* with laying hens and eggs. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.47, n. 3, p. 533-536, 1984.

DUFRENNE, J.; RITMESSTER, W.; ASCH, E.D.; LEUSDEN, F.V.; JONGE, R. Quantification of the contamination of chicken and chicken products in the Netherlands with *Salmonella* and *Campylobacter*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n.4, p. 538-541, 2001.

EVANS, S.J.; SAYERS, A.R. A longitudinal study of *Campylobacter* infection of broiler flocks in Great Britain. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.46, p. 209-223, 2000.

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, RJ. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.20, n.3, p.303-308, 1989.

FORSYTHE, S.J. Doenças de origem alimentar. In: FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002, capítulo 3, p.65-99.

FRANCO, D.A. *Campylobacter* species: considerations for controlling a foodborne pathogen. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.51, n.2, p. 145-153, February, 1988.

- FRANZ, C.M.A.P.; HOLZAPFEL, W.H.; STILES, M.E. Enterococci at the crossroads of food safety? **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.47, p.1-24, 1999.
- FRANZ, C.M.A.P.; STILES, M.E.; SCHLEIFER, K.H.; HOLZAPFEL, W.H. Enterococci in food – a conundrum for food safety? **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.88, p.105-122, 2003.
- GELSOMINO, R.; VANCANNEYT, M.; CONDON, S.; SWINGS, J.; COGAN, T.M. Source of enterococci in a farmhouse raw-milk cheese. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.68, p.3560-3565, 2002
- GENIGEORGIS, C.; HASSUNEH, M.; CPLLINS, P. *Campylobacter jejuni* infection on poultry farms and its effect on poultry meat contamination during slaughtering. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.49, n.11, p. 895-903, November, 1986.
- GIRAFFA, G. Enterococcal bacteriocinas: their potential as anti-listeria factors in dairy technology. **Food Microbiology**, London, v.12, p.291-299, 1995.
- GIRAFFA, G. Enterococci from foods. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v.74, p. 1-9, 2002.
- HUMPHREY, T.; MASON, M.; MARTIN, K. The isolation *Campylobacter jejuni* from contaminated surfaces and its survival in diluents. **Food Microbiology**, London, v.26, p. 295-303, 1995.
- ISMAIL, S.A.S.; DEAK, T.; ABD EL-RAHMAN, H.A.; YASSIEN, M.A.M; BEUCHAT, L.R. Presence and changes in populations of yeast on raw and processed poultry stored at refrigeration temperature. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.62, p. 113-121, 2000.
- JACOBS-REITSMA, W.F.; BOLDER, N.M.; MULDER, R.W.A.W. Cecal carriage of *Campylobacter* and *Salmonella* in Dutch broiler flocks at slaughter: a one-year study. **Poultry Science**, Champaign, v. 73, p. 1260-1266, 1994.
- JORGENSEN, F.; BAILEY, R.; WILLIAMS, S.; HENDERSON, P.; WAREING, D.R.A.; BOLTON, F.J.; FROST, J.A.; WARD, L.; HUMPHREY, T.J. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.76, n.1-2, p.151-164, 2002.
- KLEIN, G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.88, n.2-3, p.123-131, 2003.
- KOTULA, K.L.; PANDYA, Y. Bacterial contamination of broiler chickens before scalding. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.58, n.12, p. 1326-1329, December, 1995.

- MONTROSE, M.S.; SHANE, S.M.; HARRINGTON, K.S. Role of litter in the transmission of *Campylobacter jejuni*. **Avian Diseases**, Pennsylvania, v.29, n.2, p. 392-399, 1984.
- ONO, K.; YAMAMOTO, K. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.47, p. 211-219, 1999.
- OYARZABAL, O.A.; MACKLIN, K.S.; BARBAREE, J.M.; MILLER, R.S. Evaluation of agar plates for direct enumeration of *Campylobacter* spp. From poultry carcass rinses. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n.6, p.3351-3354, 2005.
- PARK, S.F. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.74, p. 177-188, 2002.
- PENNIE, R.A.; ZUNINO, J.N.; ROSE JR., E.; GUERRANT, R.L. Economical, simple method for production of the gaseous environment required for cultivation of *Campylobacter jejuni*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.20, n.3, p.320-322, 1984.
- PETERSEN, L.; NIELSEN, E.M.; ON, S.L. Serotype and genotype diversity and hatchery transmission of *Campylobacter jejuni* in commercial poultry flocks. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.82, p.141-154, 2001.
- PETTON, J.R.; ROSE, N.; DENIS, M.; SALVAT, G. Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.50, p. 89-100, 2001.
- RODRIGO, S.; ADESIYUN, A.; ASGARALI, Z.; SWANSTON, W. Prevalence of *Campylobacter* spp. on chickens from selected retail processors in Trinidad. **Food Microbiology**, London, v.22, p. 125-131, 2005.
- SACKEY, B.A.; MENSAH, P.; COLLISON, E.; SAKYI-DAWSON, E. *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan Accra. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.71, p. 21-28, 2001.
- SAHIN, O.; ZHANG, Q.; MEITZLER, J.C.; HARR, B.S.; MORISHITA, T.Y.; MOHAN, R. Prevalence, antigenic specificity and bactericidal activity of poultry anti-*Campylobacter* maternal antibodies. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n.9, p.3951-3957, 2001.
- SANTOS, E.J. **Rastreamento da disseminação de salmonelas em frangos de corte a partir de alimento naturalmente contaminado**. 1998. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, J.A. Microrganismos patogênicos em carne de frango. **Higiene Alimentar**. v. 58, 1998. Disponível em: <http://www.zootecnista.com.br> . Acesso em : Outubro 2001.

SMITHERMAN, R.E.; GENIGEORGIS, C.A.; FARVER, T.B. Preliminary observation on the occurrence of *Campylobacter jejuni* at four California chicken ranches. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.47, p. 293-298, 1984.

SOLOMON, E.B.; HOOVER, D.G. *Campylobacter jejuni*: a bacterial paradox. **Journal of Food Safety**, Westport, v.19, p.121-136, 1999.

STERN, N.J.; LINE, J.E. Comparison of three methods for recovery of *Campylobacter* spp. From broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.55, n.9, p. 663-666, September, 1992.

STERN, N.J. Influence of season and refrigerated storage on *Campylobacter* spp. contamination of broiler carcasses. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, v.4, p. 235-238, 1995.

STERN, N.J.; LINE, J.E.; CHEN, H.C. *Campylobacter*. In: **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3rd Ed., (F.P. Downes and K. Ito, eds.). p 301-310. American Health Association, Washington, DC, 2001.

STERN, N.J.; FEDORKA-CRAY, P.; BAILEY, J.S.; COX, N.A.; CRAVEN, S.E.; HIETT, K.L.; MUSGROVE, M.T.; LADELY, S.; COSBY, D.; MEAD, G.C. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected US poultry production and processing operations. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.64, p. 1705-1710, 2001.

TAUXE, R. Emerging foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.78, p.31-41, 2002.

WASSENAAR, T.M. Toxin production by *Campylobacter* spp. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.10, p.466-476, 1997.

WEDDERKOPP, A.; GRADEL, K.O.; JORGENSER, J.C.; MADSEN, M. Pre-harvest surveillance of *Campylobacter* and *Salmonella* in Danish broiler flocks: a 2-year study. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 68, p. 53-59, 2001.

WESLEY, I.V.; HURD, H.S.; MUROAKA, W.T. Los efectos del transporte y espera sobre la *Salmonella* y *Campylobacter* en pavos comerciales. **Industria Avícola**, p. 10-16, julho 2004.

ZIPRIN, R.I.; YOUNG, C.R.; STANKER, L.H.; HUME, M.E.; KONKEL, M.E. The absence of cecal colonization of chicks by a mutant of *Campylobacter jejuni* not expressing bacterial fibronectin-binding protein. **Avians Disease**, Pennsylvania, v.43, p. 586-589, 1999.

ANEXO

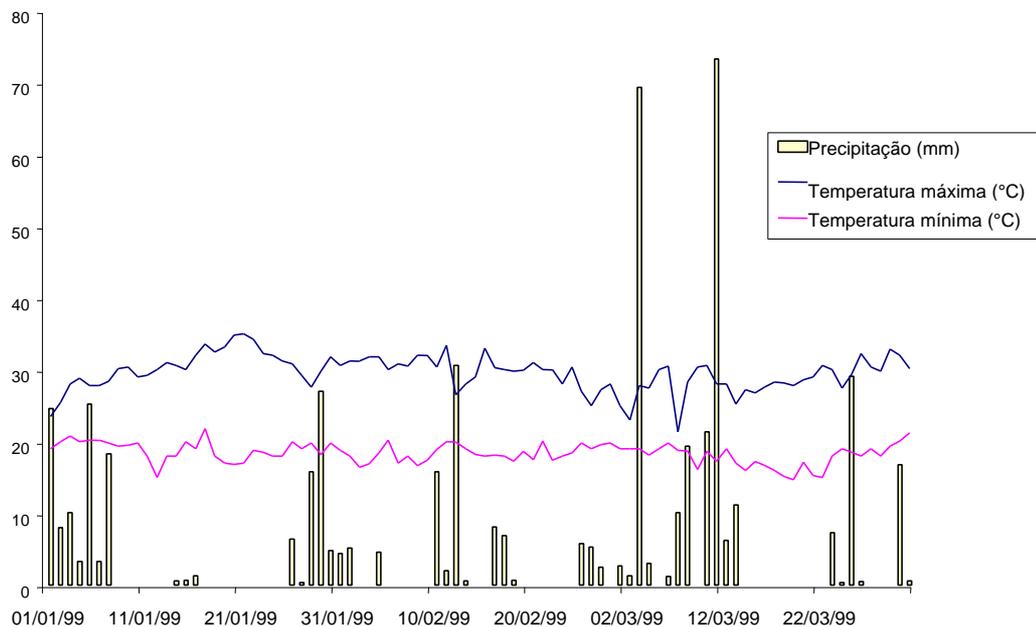


Figura 3. Dados meteorológicos do verão de 1999 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

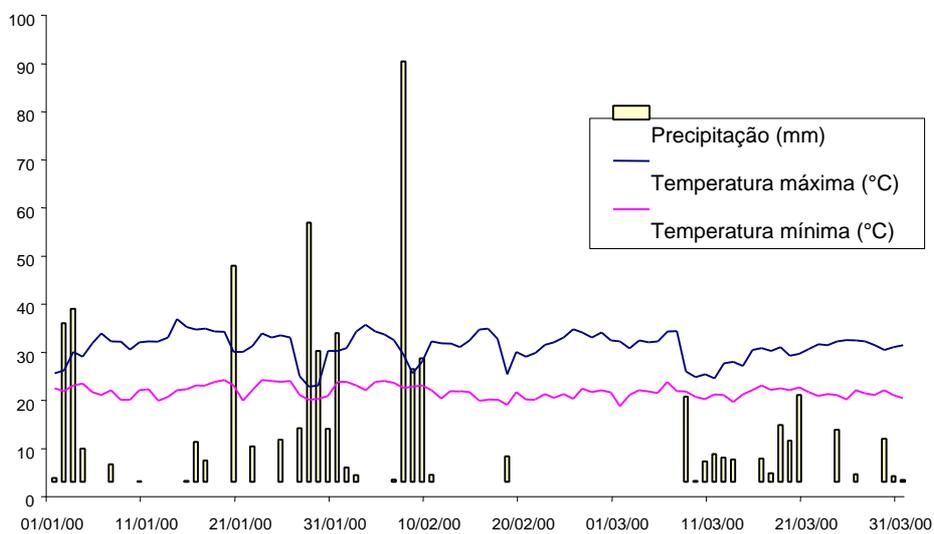


Figura 4. Dados Meteorológicos do verão de 2000 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

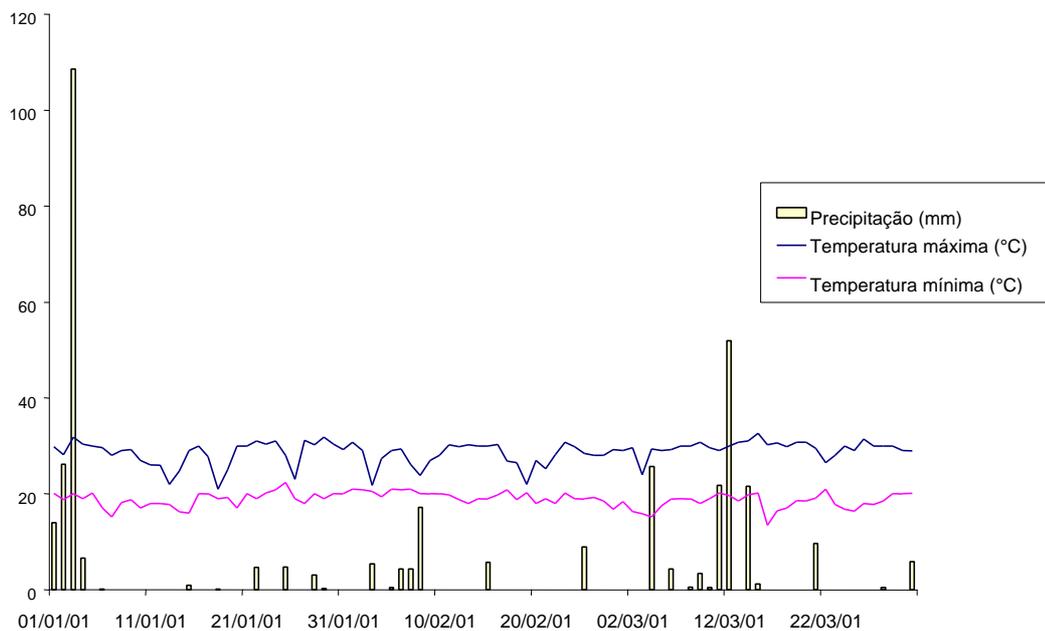


Figura 5. Dados meteorológicos do verão de 2001 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

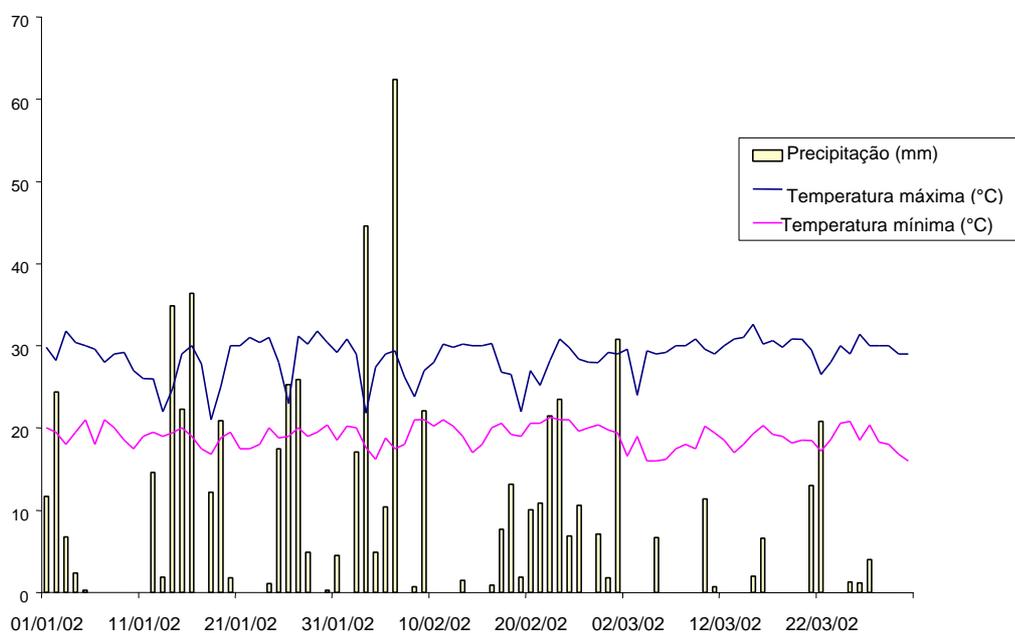


Figura 6. Dados meteorológicos do verão de 2002 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

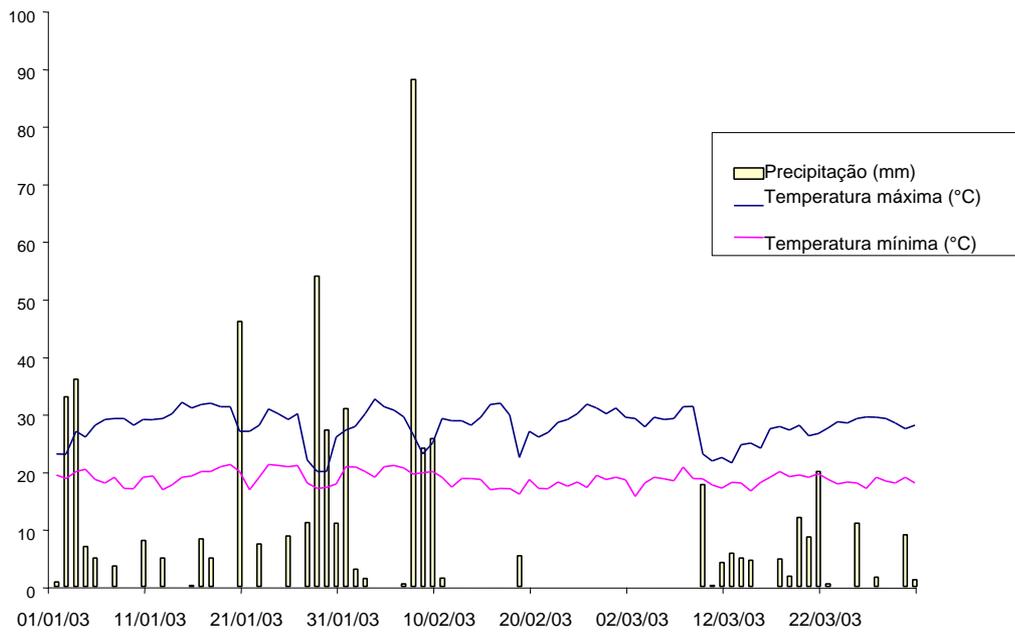


Figura 7. Dados meteorológico do verão de 2003 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

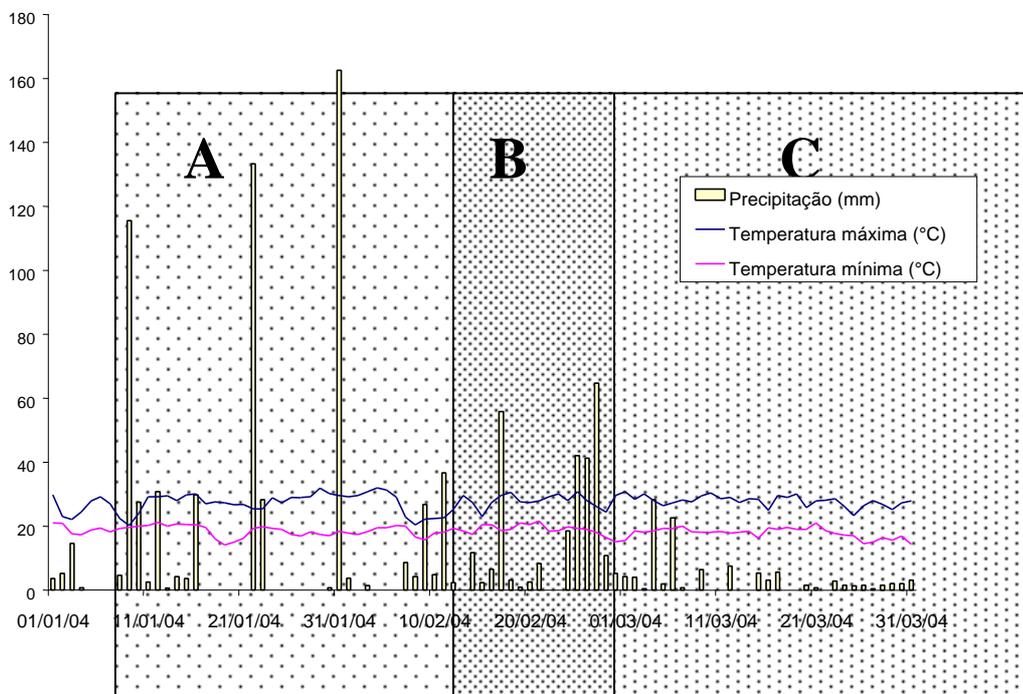


Figura 8. Dados meteorológicos do verão de 2004 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa
 A/B: período de coleta de amostras na granja convencional;
 B/C: período de coleta de amostras na granja automatizada.

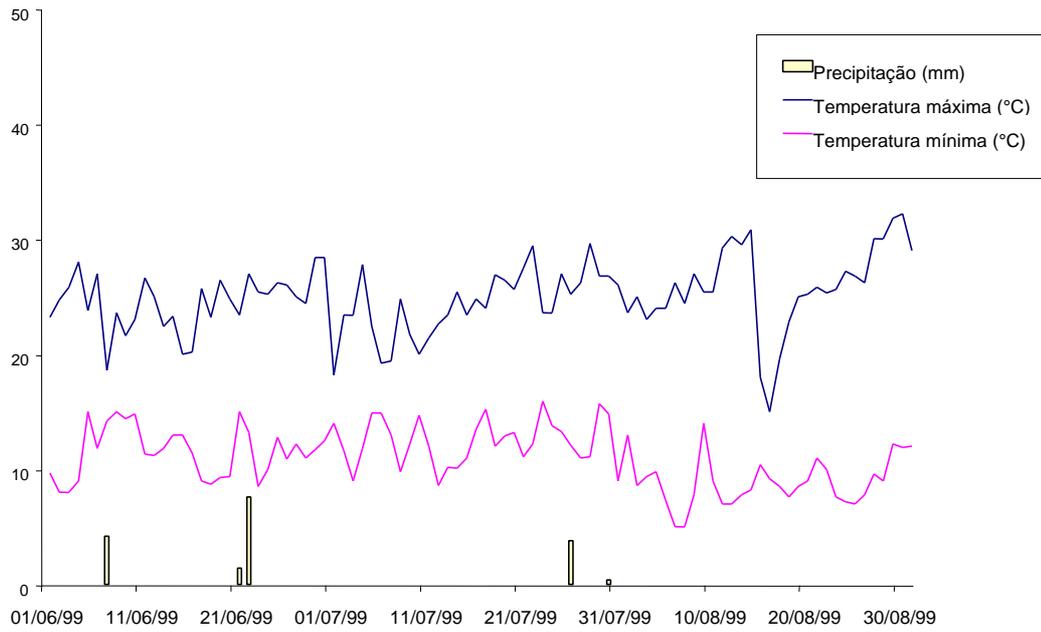


Figura 9. Dados meteorológicos do inverno de 1999 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

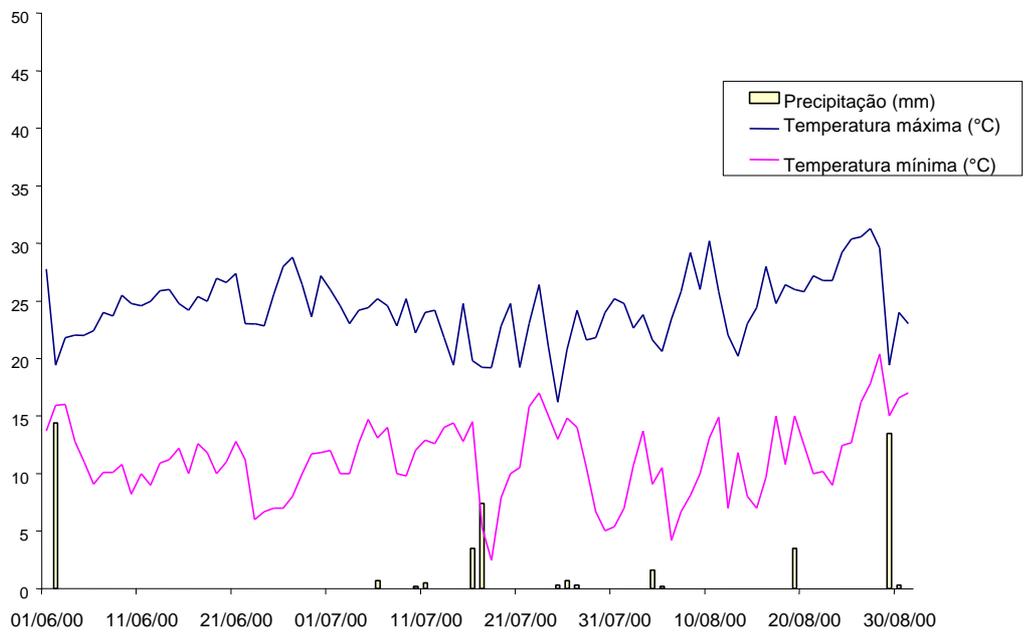


Figura 10. Dados meteorológicos do inverno de 2000 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

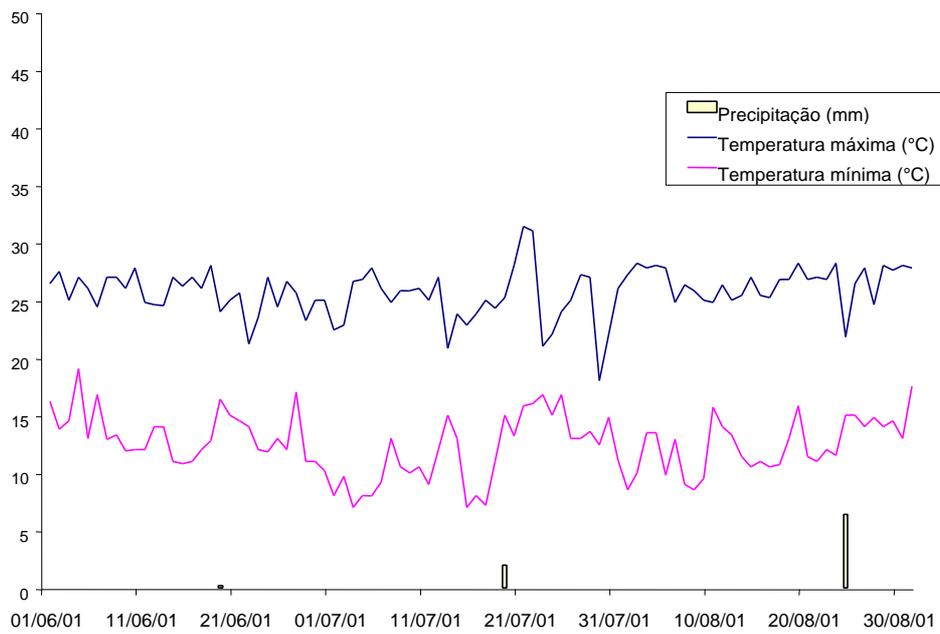


Figura 11. Dados meteorológicos do inverno de 2001 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

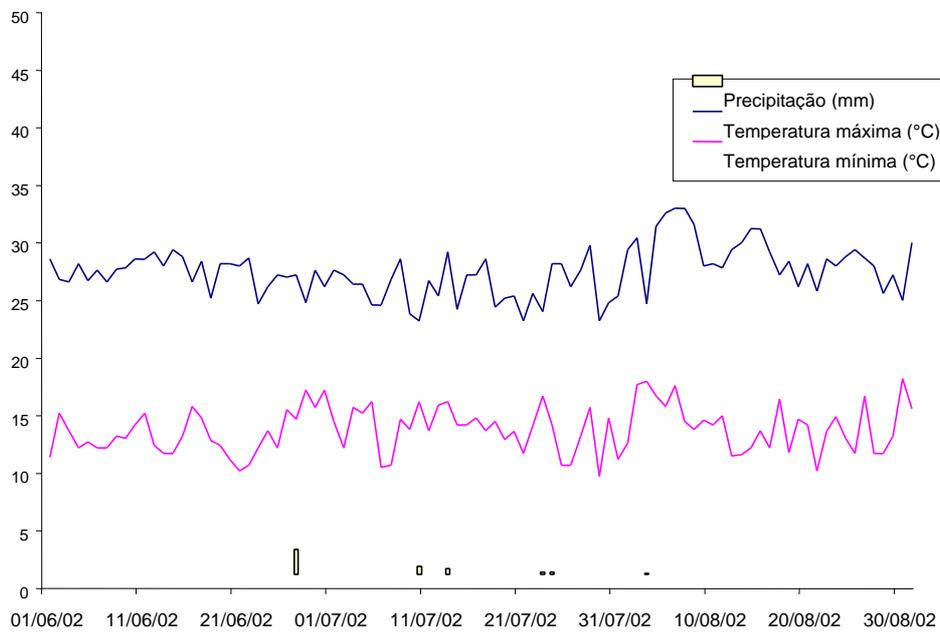


Figura 12. Dados meteorológicos do inverno de 2002 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

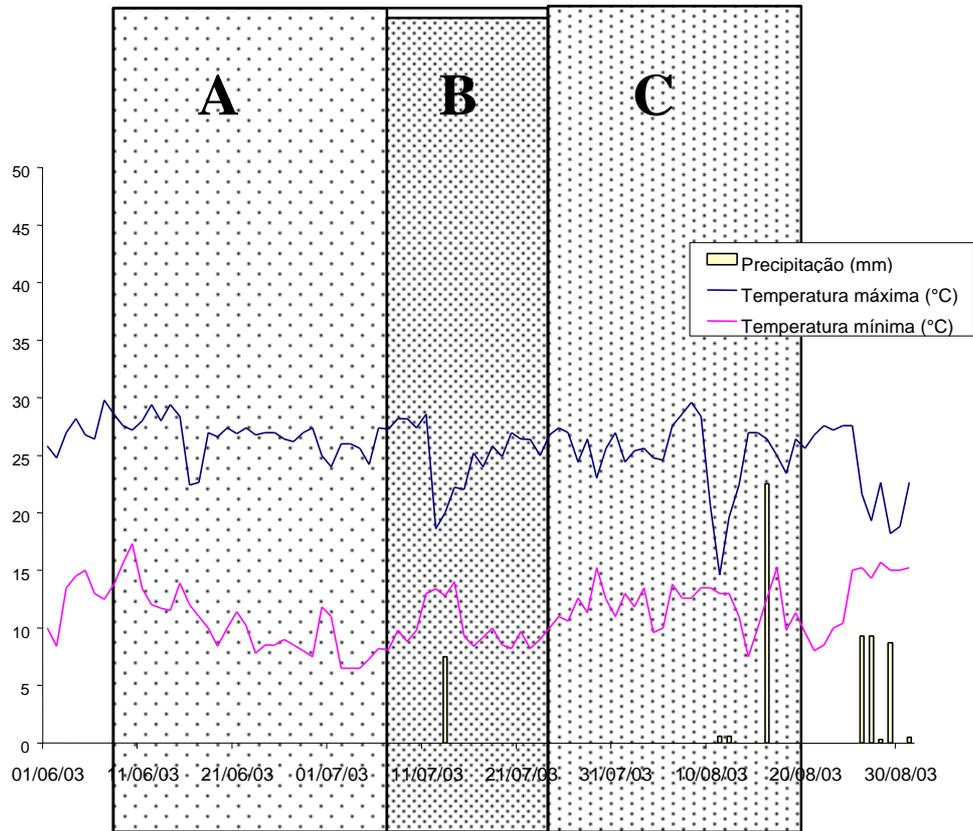


Figura 13. Dados meteorológicos do inverno de 2003 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa
 A/B: período de coleta de amostras na granja automatizada.
 B/C: período de coleta de amostras na granja convencional;

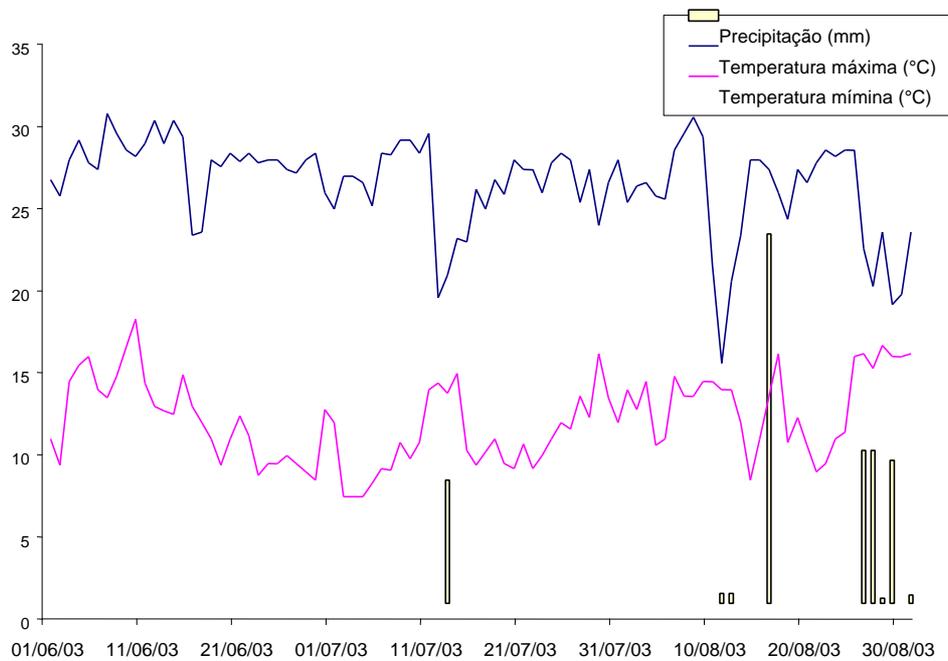


Figura 14. Dados meteorológicos do inverno de 2004 da Cidade de Viçosa
 Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Viçosa

Tabela 5. Prevalência (%) de *Campylobacter* spp. e *Enterococcus* spp. nos diferentes quadrantes em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação no sistema convencional durante a estação de inverno de ano de 2003

Fatores	0-21 dias					22-39 dias					40-44 dias				
	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q
Cloaca															
<i>C. spp.</i>	100	100	100	100	100	20	ND	ND	ND	ND	60	60	60	ND	ND
<i>E. spp.</i>	80	80	ND	80	80	ND	ND	ND	ND	ND	100	100	100	100	100
Bebedouro															
<i>C. spp.</i>	100	100	100	100	100	60	60	60	ND	ND	40	40	ND	ND	ND
<i>E. spp.</i>	80	80	80	80	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100	100	100	100	100
Cama															
<i>C. spp.</i>	100	100	100	100	100	60	60	60	ND	ND	100	100	100	100	100
<i>E. spp.</i>	40	ND	40	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	100	100	100	100	100

ND- Não detectado

Tabela 6. Prevalência (%) de *Campylobacter* e *Enterococcus* nos diferentes quadrantes em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação no sistema convencional durante a estação de verão de ano de 2004

Fatores	0-21 dias					22-39 dias					40-49 dias				
	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q
Cloaca															
<i>C. spp.</i>	60	60	60	ND	ND	100	100	100	100	100	60	60	60	ND	ND
<i>E. spp.</i>	60	60	60	ND	ND	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Bebedouro															
<i>C. spp.</i>	60	60	60	ND	ND	100	100	100	100	100	80	80	80	ND	80
<i>E. spp.</i>	40	40	ND	ND	ND	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Cama															
<i>C. spp.</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>E. spp.</i>	40	ND	40	ND	ND	40	40	ND	ND	ND	100	100	100	100	100

ND- Não detectado

Tabela 7. Prevalência (%) de *Campylobacter* e *Enterococcus* nos diferentes quadrantes em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação no sistema automatizado durante a estação de inverno de ano de 2003

Fatores	0-21 dias					22-39 dias					40-44 dias				
	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q
Cloaca															
<i>C. spp.</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>E. spp.</i>	100	100	100	100	100	ND	ND	ND	ND	ND	80	80	80	80	ND
Bebedouro															
<i>C. spp.</i>	60	60	60	ND	ND	80	80	80	80	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>E. spp.</i>	100	100	100	100	100	80	80	80	80	ND	80	80	80	80	ND
Cama															
<i>C. spp.</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80	80	80	ND
<i>E. spp.</i>	60	60	60	ND	ND	40	40	ND	ND	ND	100	100	100	100	100

ND- Não detectado

Tabela 8. Prevalência (%) de *Campylobacter* e *Enterococcus* nos diferentes quadrantes em galpão de criação de frango de corte nas diferentes fases de criação no sistema automatizado durante a estação de verão de ano de 2004

Fatores	0-21 dias					22-39 dias					40-49 dias				
	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q	1Q	2Q	3Q	4Q	5Q
Cloaca															
<i>C. spp.</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>E. spp.</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	ND	100	100	100	100	100
Bebedouro															
<i>C. spp.</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	80	80	80	80	ND
<i>E. spp.</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	ND	80	80	80	80	ND
Cama															
<i>C. spp.</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>E. spp.</i>	100	100	100	100	100	40	40	ND	ND	ND	100	100	100	100	100

ND- Não detectado

CAPÍTULO 3
**PERFIL DE RESISTÊNCIA DE *Campylobacter jejuni* E *Enterococcus faecium* e
Enterococcus faecalis ISOLADOS DO AMBIENTE DE CRIAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE A DIFERENTES ANTIBIÓTICOS**

3.1. INTRODUÇÃO

O surgimento dos antibióticos causou verdadeira revolução na medicina, alterando dramaticamente o resultado da luta contra os microrganismos. Os primeiros antibióticos foram isolados de fontes naturais (microrganismos vivos como leveduras, fungos e bactérias), sendo que atualmente muitos são sintetizados por fermentações microbianas. São produtos do metabolismo secundário de alguns microrganismos, seus mecanismos de ação são variados tendo como alvo diferentes funções celulares. O efeito dessas substâncias é de eliminação ou inibição, sendo que aquelas consideradas de amplo espectro inibem bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (BROCK et al., 2000).

Os antibióticos são utilizados tanto na terapia humana quanto animal. Na medicina veterinária são usados em doses preventivas ou curativas para combater infecções. As substâncias mais utilizadas nos tratamentos de animais são: penicilina, estreptomicina, ampicilina, tetraciclina, e sulfonamidas. Os antibióticos também podem ser usados como promotores do crescimento, pois atuam no intestino selecionando a microbiota intestinal e, eliminam microrganismos produtores de toxinas (BENÍCIO, 1996).

Uma parcela do aumento das infecções de origem alimentar pode ser atribuída ao freqüente isolamento de cepas resistentes a antibióticos em humanos e animais. Tal resistência parece estar associada ao uso dos mesmos na alimentação animal. Seu uso como promotores de crescimento em espécies domésticas como o frango de corte, mesmo em baixas dosagens tem levado ao aparecimento, de cepas resistentes na microbiota intestinal.

Portanto, atualmente a ocorrência de microrganismos resistentes a antibióticos tem sido considerada uma questão de saúde pública, recebendo atenção tanto de organizações nacionais e internacionais tais como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a Organização Mundial de Saúde (OMS), a Organização Mundial para a Saúde Animal (OIE) e o Codex Alimentarius. O aparecimento e a disseminação destes microrganismos resistentes podem dificultar o tratamento de infecções humanas, aumentando os custos do tratamento e as taxas de morbidade e mortalidade na população humana.

Medidas de controle devem ser tomadas visando auxiliar no controle da disseminação de resistência de microrganismos tanto para o homem quanto para os animais. Trabalhos devem ser realizados no sentido de conscientizar a população pela busca de orientações e informações em relação a qualidade do alimento que se consome; por uma terapia adequada, pela prescrição correta de antibióticos e por uma maior fiscalização na aquisição dessas drogas sem orientação de um profissional capacitado. Outras medidas a serem adotadas seria o uso restrito de antibióticos em animais de produção e a adoção de um programa de monitoramento da resistência dos principais patógenos que podem ser veiculados por alimentos.

Dentro deste contexto, este estudo teve por objetivo avaliar o grau de resistência de *Campylobacter jejuni*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* isolados do ambiente de criação de frango de corte a diferentes antibióticos.

3.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.2.1. Uso de promotores de crescimento na produção de frango de corte

A população bacteriana no trato gastrointestinal de frangos de corte é qualitativamente e quantitativamente ampla. Após a eclosão, o trato gastrointestinal é rapidamente colonizado (MARCH, 1979). SALANITRO et al. (1978) observaram que nos primeiros 4 dias o intestino delgado e o ceco de aves são particularmente colonizados por *Streptococcus* e *Enterococcus*. Aproximadamente 85 % dos organismos isolados do duodeno, íleo e ceco são Gram-positivos. A maioria das bactérias do intestino delgado são anaeróbias facultativas, ao passo que as bactérias anaeróbias estritas incluem a maior parte da microbiota cecal (Tabela 1) (SALANITRO et al. 1978).

Tabela 1. Distribuição de bactérias intestinais em frangos de corte.

Bactérias Nome	Intestino			
	Duodeno	Jejuno	Íleo	Ceco
<i>Streptococcus</i>	36.6	8.9	16.8	0.7
<i>Staphylococcus</i>	0.4	-	0.5	-
<i>Lactobacillus</i>	19	33.8	59	-
<i>Escherichia coli</i>	5.4	33	14.7	-
Cocos Anaeróbios	1.8	0.9	0.5	14.2
<i>Eubacterium</i>	26.4	22.6	7.8	60.6
<i>Propionibacterium</i>	0.3	0.4	-	-
<i>Clostridium</i>	1.8	0.4	-	2.1
<i>Geminger</i>	1.5	-	-	3.4
<i>Fusobacterium</i>	3.7	-	0.5	6.2
Bacteróides	-	-	-	12.8
Anaeróbios facultativos	61.4	75.7	91	0.7
Anaeróbios	38.6	24.3	9	99.3

Adaptado de SALANITRO et al. 1978.

A microbiota no trato gastrointestinal é responsável por importantes funções no organismo da ave. No papo está presente uma população de *Lactobacillus* que

podem trazer benefícios a ave, pois, controlam a multiplicação de bactérias indesejáveis através da redução do pH (MARCH, 1979). Acredita-se que a quantidade significativa de amido seja digerido no papo do frango como resultado da ação bacteriana (DUKES, 1993).

Existem algumas bactérias normalmente presentes no trato gastrointestinal que possuem a capacidade de sintetizar vitaminas do complexo B e vitamina K (MARCH, 1979).

A presença da microbiota não patogênica no trato digestivo afeta a absorção de ácidos graxos de cadeia longa, como o palmítico e esteárico. Alguns microrganismos possuem a habilidade de desconjugar e desidroxilar os sais biliares (MAcNAB, 1973).

Normalmente a flora microbiana se encontra em equilíbrio e qualquer mudança nesta proporção é potencialmente causadora de baixo desempenho produtivo e infecções intestinais. Provavelmente, bactérias patogênicas estão presentes no intestino por toda a vida da ave, mas somente quando surge um fator que altera o ambiente a seu favor é que ocorre a proliferação até um número suficiente para produzir um sintoma clínico (MARCH, 1979).

Alguns fatores como idade, resposta imune, dieta, administração oral de antibióticos e quimioterápicos podem ser responsáveis pela alteração da microbiota intestinal normal (SOARES, 1996).

O uso de agentes antimicrobianos como aditivos às rações para prevenir ou controlar doenças, estimular o crescimento e melhorar a conversão alimentar tem sido prática comum na avicultura industrial há quase 50 anos. Quando usados em níveis subterapêuticos em rações de animais proporcionam aumento no ganho de peso, melhora na conversão alimentar e redução na mortalidade. Desta forma são classificados como microingrediente alimentar, pertencendo à classe dos pró-nutrientes e do grupo dos promotores de crescimento. A indústria animal tem passado por mudanças significativas nos últimos anos, não somente no âmbito nacional como mundial. Existe uma grande pressão quanto à segurança do uso dos promotores de crescimento em relação à saúde humana. A avicultura moderna tem se caracterizado pela alta densidade de criação expondo a ave a um contato maior aos antígenos, aumentando o desafio microbiano (IAFIGLIOLA, 2000).

O modo de ação pelo quais os promotores de crescimento agem vem sendo estudado desde a década de 50, tendo sido propostos inúmeros mecanismos para

explicar o efeito promotor do crescimento dessas substâncias; contudo, o modo de ação ainda não está totalmente elucidado. Baseando-se em dados resumidos por vários autores, pode-se dizer que os promotores de crescimento exercem os seguintes efeitos sobre o crescimento e produção (IAFIGLIOLA, 2000):

1. Efeito metabólico: por este mecanismo os promotores de crescimento, de alguma forma, afetam diretamente a taxa ou o padrão de processos metabólicos do animal. Esse modo de ação parece não ser apropriado para aqueles agentes antimicrobianos que não são absorvidos e que permanecem na luz do trato intestinal, a não ser que a ação ocorra sobre as células do epitélio intestinal afetando a absorção de nutrientes (CROMWELL, 1991).

2. Efeito nutricional: propõe que os promotores de crescimento possam reduzir as necessidades de certos nutrientes das seguintes formas:

- ✓ Estimulando o crescimento de certos microrganismos que sintetizam vitaminas ou aminoácidos;
- ✓ Aumentando a disponibilidade de nutrientes pela formação de quelatos;
- ✓ Diminuindo os organismos que competem com o animal por nutrientes.

3. Efeito no controle de doenças: através da eliminação dos microrganismos causadores de manifestações clínicas ou subclínicas de doenças, que provocam o declínio no ritmo de crescimento.

4. Efeito protetor: Através dos quais os promotores de crescimento podem inibir o crescimento de organismos produtores de toxinas. O aumento na taxa do *turnover* celular resulta na eliminação muito rápida dos enterócitos, portanto as células jovens não expressam sua capacidade máxima para secretar enzimas, digerir ou absorver nutrientes. A menor quantidade de nutrientes absorvidos pelo animal resulta em maior produção de toxina bacteriana. Essa toxina muitas vezes é absorvida e biotransformada pelo fígado resultando em um aumento do órgão, dos hepatócitos e do *turnover* celular hepático (BENÍCIO, 1996).

Atualmente o uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação animal vem sendo discutida incessantemente em todo o mundo. É um assunto polêmico e controverso. Os dois pontos mais problemáticos que envolvem o uso desses promotores de crescimento é a preocupação com a transferência de bactérias resistentes aos antibióticos para seres humanos e também com a seleção de bactérias resistentes em humanos através de resíduos na carne.

Na União Européia, os promotores de crescimento usados na ração animal são estritamente controlados pela legislação. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reafirmou em uma conferência realizada em Berlim, na Alemanha, em 1997 que “o uso de qualquer promotor de crescimento deve ser proibido se for usado em terapêutica humana” (ERPELDING, 1999).

A União Européia suspendeu o uso de avoparcina, virginiamicina, espiramicina, tilosina e bacitracina de zinco como promotores de crescimento tentando, minimizar a seleção de bactérias resistentes de interesse humano. Decretou ainda o banimento de monensina, salinomicina, flavomicina e avilamicina a partir de janeiro de 2006 (NETO, 2005).

O uso da avoparcina levou ao aparecimento de cepas de *Enterococcus* resistentes a vancomicina (VRE) em animais de produção, resultando numa possível transferência de resistência ao antibiótico vancomicina. Vancomicina é usada na terapêutica humana há muitos anos, sendo eficaz contra *Enterococcus* os quais causam infecções em pacientes com deficiência imunológica (MUDD, 1997).

No Brasil, já foi banido das rações, o uso de nitrofurazona, furazolidona e cloranfenicol (Portaria DAS/MA n° 448 de 10 de setembro de 1998), avoparcina (Portaria SVS/MS n° 819 de 16 de outubro de 1998), penicilina, oxitetraciclina e clortetraciclina como promotores de crescimento (Portaria SVS/MA n° 159 de 23 de junho de 1992) (MARQUES, 2004).

A preocupação com o uso de antibióticos é cada vez mais evidente, uma vez que o Brasil é um importante exportador de produtos de origem animal, podendo sofrer sanções por estar empregando na alimentação animal drogas proibidas por outros países.

Os antibióticos, para serem aceitos e empregados como promotores de crescimento, devem satisfazer certos requisitos (BENÍCIO, 1996; BUTOLO, 1998):

1. Melhorar o desempenho da maneira efetiva e econômica
2. Ser atuantes em pequenas dosagens
3. Não devem apresentar resistência cruzada com outros microingredientes de alimentação
4. Não devem ter efeitos deletérios ao ambiente
5. Não devem ser absorvidos pelo trato gastrointestinal
6. Não devem estar envolvidos em transferência de resistência

7. Não devem deixar resíduos na carcaça
8. Devem permitir a manutenção da flora gastrointestinal normal
9. Não podem ser tóxicos para os animais e ao ser humano nas dosagens recomendadas
10. Não podem ser mutagênicos ou carcinogênicos

Segundo o Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (1998), os antibióticos e quimioterápicos mais usados no Brasil como promotor de crescimento foram: ácido 3-nitro, avilamicina, bacitracina, carbadox, colistina, enramicina, flavomicina, halquinol, lasalocida, lincomicina, monensina, nitrovin, olanquidox, tiamulina, tilosina e virginamicina (IAFIGLIOLA, 2000).

O uso de antibióticos na alimentação animal pode causar problemas na terapia de infecções em animais devido a seleção para resistência entre bactérias patogênicas para os mesmos. Adicionalmente, os animais frequentemente abrigam bactérias patogênicas ao homem em seu trato gastrointestinal: agentes zoonóticos (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Listeria*, *E. coli*). O desenvolvimento de resistência destas bactérias zoonóticas constitui um perigo de saúde pública, devido ao insucesso nos tratamentos das infecções primeiramente por aumentar o risco de falhas nos tratamentos das doenças, mas também por permitir a aquisição de elementos genéticos transmissíveis, que podem afetar outras propriedades assim como a habilidade para colonizar um hospedeiro ou persistir no campo ou ainda no ambiente de processamento (AaRESTRUP e WEGENER, 1999). A utilização de antibióticos como promotores de crescimento em espécies domésticas como o frango de corte, mesmo em baixas dosagens tem levado ao aparecimento, de linhagens resistentes a antibióticos na microbiota intestinal (AaRESTRUP, 1999; AaRESTRUP e WEGENER, 1999).

As estruturas de alguns promotores de crescimento, como avoparcina, virginamicina, tilosina e avilamicina, são semelhantes às estruturas de antibióticos de última geração desenvolvidos para uso humano, tais como, vancomicina, quinupristina-dalfopristina, eritromicina e ziracina, respectivamente (Tabela 2). O estabelecimento de programas de monitoramento do consumo de antibióticos e a ocorrência de resistência em humanos e animais faz-se necessário, visando evitar o uso indiscriminado destes antibióticos na produção animal (AaRESTRUP et al., 1998; WITTE, 2000b).

Tabela 2. Antimicrobianos usados como promotores de crescimento

Substância	Reabsorção entérica	Atividade bacteriana	Espectro da atividade	Resistência cruzada com outros antimicrobianos
Quinoxalina (Olaquinox)	+	Bactericida	Gram+ Gram -	Não demonstrado
Glicopeptídeos (Avoparcina)	-	Bacteriostático	Gram +	Vancomicina, Teicoplanina
Ionóforos (monensina, salinomina)	-/+	Bactericida	Gram +	Não demonstrado
Macrolídeos (Tilosina)	-/+	Bacteriostático	Gram +	Macrolídeos
Streptograminas (Virginiamicina)	-	Bacteriostático	Gram +	Outras streptograminas, macrolídeos
Polipeptídeo Bacitracina de Zn	-	Bactericida	Gram +	Não demonstrado
Oligossacarídeo (Avilamicina)	-	Bactericida	Gram +	Everninomicina

Fonte: WITTE, 2000b.

3.2.2. Importância e principais mecanismos de ação dos antibióticos

Os mecanismos de ação dos antibióticos podem ser resumidos em: inibição da síntese da parede celular de bactérias; dano a membrana celular; inibição da síntese protéica; inibição da síntese de ácidos nucleicos (TORTORA et al., 2000).

✓ Inibição da síntese da parede celular de bactérias

Os antibióticos que atuam na inibição da síntese da parede celular são seletivos, uma vez que, interferem no D-alanyl-D-alanina, que é um dipeptídeo requerido na síntese do peptidoglicano da parede celular. A integridade da célula bacteriana é assegurada pela parede celular, pois esta confere rigidez, forma e mantém a tonicidade do meio interno da célula. A composição da parede é variável, dependendo se bactéria é Gram-positiva ou Gram-negativa. O peptidoglicano encontrado na parede de ambas as classes de bactérias é constituído de monômeros formados por N-acetil glicosamina e ácido N-acetilmurâmico (TORTORA et al., 2000). Podem ser citadas como exemplos de antibióticos que inibem a síntese de

parede celular, as penicilinas naturais e semi-sintéticas (grupo dos β lactâmicos). Durante o processo de replicação bacteriana, o antibiótico inibe as enzimas que fazem a ligação entre as cadeias peptídicas, impedindo, portanto, o desenvolvimento da estrutura normal do peptidoglicano. Estas enzimas, transpeptidase, carboxipeptidase e endopeptidase, localizam-se logo abaixo da parede celular e são denominadas de "proteínas ligadoras de penicilina" (*penicillin-binding proteins* – PBPs). A habilidade de penetrar na parede celular e o grau de afinidade destas proteínas com a penicilina determinam a sua atividade antibacteriana. As bactérias, por sua vez, diferem na sua composição quanto ao tipo e à concentração de PBPs e, conseqüentemente, quanto à permeabilidade de suas paredes celulares ao antibiótico. Apenas células em crescimento ativo são afetadas pelo antibiótico, desta forma, têm-se simultaneamente diferentes graus de suscetibilidade bacteriana ao mesmo (YAN e GILBERT, 2004).

O termo penicilina refere-se a um grupo de mais de 50 antibióticos quimicamente relacionados. Todos possuem em comum uma estrutura central contendo um anel β -lactâmico denominado núcleo. Suas moléculas são diferenciadas pelas cadeias laterais químicas ligadas ao núcleo. Podem ser produzidas tanto de forma natural como sintética. As penicilinas naturais são extraídas da cultura do fungo *Penicillium* (penicilina G e V). As semi-sintéticas foram desenvolvidas de duas formas: a) pela interrupção da síntese de penicilina e obtenção apenas do núcleo da penicilina comum para uso; e b) remoção das cadeias laterais a partir da molécula natural completa e adição química de outras cadeias laterais (BROCK et al., 2000).

Antibióticos polipeptídicos também interferem com a síntese do peptidoglicano. Com exemplo desse antibiótico tem-se a bacitracina e a vancomicina sendo ambos efetivos principalmente contra bactérias gram-positivas, tais como estafilococos e estreptococos (BROCK et al., 2000).

✓ **Dano à membrana celular**

Os antibióticos que causam dano a membrana celular promovem mudanças na sua permeabilidade. Estas mudanças resultam na perda de metabólitos importantes da célula microbiana. São menos comuns do que outros tipos de antibióticos. Como representante desse grupo temos a polimixina B que causa a ruptura da membrana plasmática por ligação aos fosfolípídeos da membrana (TORTORA et al., 2000).

✓ **Inibição da síntese de proteínas**

A estrutura do ribossomo é responsável pela toxicidade seletiva aos antibióticos que afetam a síntese de proteínas. Os principais representantes deste grupo de antibiótico são o cloranfenicol, a eritromicina, as tetraciclina e a gentamicina (aminoglicosídeos).

O cloranfenicol é um antibiótico bacteriostático com amplo espectro. Penetra com facilidade pela parede microbiana, não exigindo um mecanismo de transporte que consuma energia e desta forma atinge seu alvo de ação. No citoplasma, o antibiótico liga-se a subunidade 50S do ribossomo procarioto 70S, e com isso impede a perfeita ação do RNA-t que é fundamental para a síntese proteica. Deste modo, o cloranfenicol inibe a formação de ligações peptídicas durante o alongamento da cadeia polipeptídica (TORTORA et al., 2000).

A eritromicina faz parte de um grupo de antibióticos denominados de macrolídeos devido à presença de um anel lactona macrocíclico. Este antibiótico também reage com a subunidade 50S do ribossomo 70S, apresentando um estreito espectro de atividade, afetando principalmente bactérias gram-positivas.

As tetraciclina são um grupo de antibióticos produzidos por *Streptomyces* spp. São efetivos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. As tetraciclina interferem na fixação do RNAt, que carrega o aminoácido, no ribossomo, impedindo a adição de aminoácidos no alongamento da cadeia polipeptídica.

Os aminoglicosídeos são um grupo de antibióticos no qual os aminoaçúcares estão ligados por ligações glicosídicas. Com amplo espectro de atividade, possuem atividade significativa contra bactérias gram-negativas. Estes antibióticos interferem no início da síntese proteica, alterando a conformação da porção 30S no ribossomo 70S procariótico. Esta interferência faz com que a mensagem do RNAm seja lida incorretamente (TORTORA et al., 2000).

✓ **Inibição da síntese de ácidos nucléicos**

Alguns antibióticos atacam o DNA ou o RNA das células. Podem atuar bloqueando o crescimento natural da célula, pela interferência com os processos de replicação e transcrição. O principal representante deste grupo são as quinolonas (ácido nalidíxico). O ácido nalidíxico exerce somente efeito bactericida por inibição seletiva de uma enzima, DNA girase, necessária para a replicação do DNA. Na década de 80, foi desenvolvido um novo grupo de antibióticos, as fluoroquinolonas

(norfloxacina e ciprofloxacina) que apresentam a mesma ação das quinolonas (TORTORA et al., 2000).

3.2.3. Resistência microbiana

A resistência a antimicrobianos reflete a seleção Darwiniana, em que os organismos sensíveis são eliminados, enquanto os resistentes permanecem vivos. Segundo WITTE (2000a) a intensa variabilidade genética das bactérias, que leva à resistência é causada, principalmente pela mutação e pelos eficientes mecanismos de transferência de DNA, sejam eles:

- 1) Conjugação, em que o DNA é transferido por contato direto, célula a célula;
- 2) Transdução, transferência de DNA de uma célula a outra, por meio de bacteriófagos;
- 3) Transformação, processo pelo qual um DNA exógeno é capaz de penetrar em uma célula receptora e,
- 4) Transposição em que ocorre a transferência de DNA de uma célula a outra, por meio de transposons.

A mutação é um processo que ocorre espontaneamente em uma população mesmo na ausência da droga; o antibiótico então funcionará apenas como agente selecionador de bactérias mutantes.

Existe a preocupação não somente com as bactérias patogênicas resistentes, mas também com as bactérias comensais, que colonizam determinados sítios e constituem um reservatório de genes de resistência (GR), podendo levar a sérios problemas de saúde, decorrentes da possibilidade de transferência de GR e fatores de virulência entre as bactérias (AMINOV et al., 2001). Este nível de resistência é um bom indicador para verificar a pressão seletiva dos antibióticos na microbiota normal, e, assim, inferir sobre o comportamento das bactérias patogênicas (VAN DEN BOGAARD e STOBBERINGH, 2000). O fenômeno de transferência horizontal de GR e a presença deste reservatório poderiam explicar a rápida disseminação de resistência a antibióticos de organismos comensais para a microbiota patogênica (AMINOV et al., 2001). Tem sido também demonstrada a transferência de bactérias da microbiota dos animais para humanos e vice-versa, transferência esta quase sempre feita pela cadeia alimentar (MOREIRA, 2002).

A emergência de patógenos possuidores de genes de resistência a antibióticos tem sido uma das principais preocupações nos últimos anos. O uso freqüente destas drogas na medicina e na agricultura tem resultado na distribuição da resistência aos antibióticos e no desenvolvimento de eficientes mecanismos para disseminação de genes de resistência, especialmente entre as espécies de bactérias gram-negativas (FERBER, 1998; BRIGGS e PRATAMICO, 1999).

Outro mecanismo de resistência é o sistema de bomba de efluxo multidrogas, sendo preocupante, porque a presença de um único sistema na célula pode diminuir a susceptibilidade da mesma a um amplo espectro de quimioterápicos (PAULSEN et al., 1996). As bombas de efluxo multidrogas (MDRs) são translocases de membranas possuidoras de uma surpreendente capacidade de expulsar da célula uma variedade de drogas não-relacionadas (LEWIS, 1994). Por mecanismos desconhecidos, essas proteínas reconhecem como substratos, compostos tóxicos estruturalmente diferentes e, assim, os bombeiam para fora da célula (PAULSEN et al., 1996). Não está claro se o efluxo de diferentes toxinas é uma função fisiológica primária da célula ou se é uma desorganização de funções da célula (NEYFAKH, 1997).

Algumas bombas excluem, seletivamente, antibióticos específicos, enquanto outras são referidas como bombas de resistência multidrogas (MDR), pois expulsam drogas de estruturas químicas diferentes. Os genes que codificam as bombas de drogas específicas estão localizados, geralmente, em plasmídeos transmissíveis ou em transposons, e os genes que codificam as MDRs normalmente são constituintes dos cromossomos bacterianos (LEE et al., 2000).

O significado clínico do sistema de resistência por bomba de efluxo não é muito claro, mas, sem dúvida, está presente em bactérias, e o uso excessivo de uma droga exerceria pressão necessária para selecionar mutações que resultem em um sistema de efluxo eficiente (COLEMAN et al., 1994).

Os sistemas de efluxo são dependentes de energia e podem ser por transporte ativo primário ou secundário (LEVY, 1992; NIKAIDO, 1994).

As bactérias Gram-negativas são, geralmente mais resistentes a um maior número de antibióticos e a agentes quimioterápicos do que as Gram-positivas (NIKAIIDO, 1998). Isto pode ser explicado, de certa forma, pela estrutura das bactérias Gram-negativas, nas quais a membrana externa funciona como uma barreira que limita o acesso de agentes antimicrobianos aos seus alvos no interior celular (VAARA, 1992).

A Food and Drug Administration (FDA-CVM, 2005) relatou que a emergência da resistência antimicrobiana é um problema multifatorial e requer soluções urgentes. Os efeitos de transferência de resistência aos antibióticos de bactérias de animais para humanos são determinados por uma cadeia complexa de eventos, que incluem: a habilidade da droga em induzir resistência bacteriana; a probabilidade que o uso em animais venha a promover tal resistência; a probabilidade que qualquer bactéria resistente no animal seja transferida aos humanos e a probabilidade que tal transferência resulte em fracasso no tratamento com antibióticos em humanos devido à resistência. Portanto, estratégias devem ser desenvolvidas com o objetivo de identificar os fatores-chaves associados a resistência bacteriana e formas de combatê-la tais como programas de monitoramento do consumo de antibióticos e redução do uso de antibióticos em animais.

3.2.4. Resistência a antibióticos de *Campylobacter* spp. isolados de frango de corte

Atualmente a preocupação com surtos de toxinfecções alimentares tem aumentado devido ao freqüente isolamento de cepas resistentes a antibióticos tanto em animais como no homem. O desenvolvimento de resistência em bactérias zoonóticas parece estar relacionado primeiramente ao uso de antibióticos em animais. Isto é consequência do uso de antibióticos na produção intensiva de animais para fins terapêuticos e como promotores de crescimento. Portanto, alimentos de origem animal como carne de aves pode representar um veículo de transmissão de cepas resistentes ao homem (AQUINO et al., 2002; PEZZOTTI et al., 2003).

Campylobacter spp. constitui um exemplo do grupo de microrganismos, chamados patógenos emergentes, que vêm despertando grande interesse e preocupação de profissionais da área de saúde pública. O microrganismo pode ser transmitido por contato direto ou carcaças contaminadas, pela ingestão de alimentos e água contaminada, ou por fezes de indivíduos com infecção ativa.

Campylobacter spp. pode causar uma enterocolite aguda, sendo que os principais sintomas observados são mal-estar, febre, forte dor abdominal e diarreia que pode ir de aquosa a sanguinolenta. O período de incubação varia de 1 a 11 dias, sendo mais tipicamente de 1 a 3 dias. Em muitos casos, a diarreia pode persistir por mais de uma semana. As infecções por este microrganismo podem ser seguidas por raras, embora severas seqüelas não gastrointestinais como: artrite, a síndrome

“Guillain-Barré”, que é uma desordem no sistema nervoso periférico resultando em fraqueza dos membros, dos músculos respiratórios e perda de reflexos, que pode se tornar crônico ou levar à morte (ALLOS e BLASER, 1995); e a síndrome “Miller Fisher”, uma variante da síndrome Guillain-Barré, caracterizada pela oftalmoplegia, ataxia e perda de reflexos.

As enterites causadas por *Campylobacter* spp. normalmente são auto-limitantes, no entanto, antibióticos podem ser indicados para o tratamento. A eritromicina é considerada a droga preferida para o tratamento (ENGBERG et al., 2001). No tratamento de infecções gastrintestinais por *Campylobacter jejuni* as fluoroquinolonas (ciprofloxacina), gentamicina e tetraciclina são usadas como drogas alternativas. As quinolonas (ácido nalidíxico) também são usadas para selecionar cepas de *Campylobacter* resistentes a fluoroquinolonas devido a correlação próxima entre estes dois antibióticos (GUPTA et al., 2004). O desenvolvimento de resistência a antimicrobianos, tal como a emergência de *C. jejuni* resistentes a fluoroquinolonas em humanos, pode comprometer o tratamento de pacientes em casos severos, onde o tratamento com a droga é necessário.

JAIN et al. (2005) realizaram um estudo de caso em uma comunidade rural no norte da Índia visando investigar a prevalência e os determinantes sócio-epidemiológicos e a resistência a drogas de isolados de *Campylobacter* spp. nesta comunidade. Infecção por *Campylobacter* spp. foi maior em crianças com menos de 5 anos, famílias envolvidas na agricultura e pessoas com hábitos higiênicos precários. O perfil de resistência das cepas isoladas foi de 81,6% a ampicilina, 71,4% a ciprofloxacina, 26,5% a tetraciclina, 10,2% a gentamicina e 6,1% a eritromicina. 30,6% das cepas apresentaram resistência multidrogas, sendo que a combinação mais freqüente foi de ampicilina, tetraciclina e ciprofloxacina.

Campylobacter spp. resistente a fluoroquinolonas tem emergido na última década nos Estados Unidos. De 1997 a 2001, a prevalência de cepas resistentes aumentou significativamente de 13 para 19%. Pesquisas realizadas no mercado varejista de frangos revelam que as aves podem atuar como fonte de infecções domésticas por *Campylobacter* spp. resistente a ciprofloxacina (ÂNGULO et al., 2004).

Dados do FDA-CVM mostram que as primeiras fluoroquinolonas aprovadas pelo FDA para uso em animais nos Estados Unidos foram sarafloxacina em 1995 e enrofloxacina em 1996. Estes antibióticos foram aprovadas para uso em frangos e

perus no tratamento de infecções respiratórias principalmente aquelas causadas por *E. coli*. Estes agentes eram administrados em todo o galpão pela água de bebida. McDERMOTT et al., (2002) detectaram o rápido desenvolvimento de cepas resistentes a ciprofloxacina em um experimento com aves infectadas com *Campylobacter* spp. e posteriormente tratadas com enrofloxacin e sarafloxacin.

Segundo GOOTZ e MARTIN (1991), durante os últimos anos, tem ocorrido emergência de resistência a quinolonas entre cepas de *Campylobacter* spp. Esta emergência pode ser atribuída à habilidade que o microrganismo tem para desenvolver um alto nível de resistência as quinolonas devido a uma única mutação no gene *gyrase*.

SACKEY et al. (2001) avaliando a qualidade microbiológica de frangos observaram a presença de *Campylobacter* spp. em 14,4 % do conteúdo intestinal das aves, com os isolados apresentando resistência a ampicilina e tetraciclina. Bactérias resistentes podem também ser disseminadas entre diferentes espécies animais durante o transporte para o abate e durante o processo ante-mortem (ENGLER et al., 2005).

Em outro estudo FREDIANI-WOLF e STEPHAN (2003) observaram que a resistência a ciprofloxacina, eritromicina e estreptomicina de cepas de *Campylobacter* spp. isoladas de carcaças de frango foi de 1,5 %, 9,2 % e 27,7 %, respectivamente.

SAENZ et al. (2000) avaliando a resistência a antibiótico de cepas de *Campylobacter* spp., observaram uma alta frequência de cepas resistentes a ciprofloxacina, principalmente aquelas isoladas de frangos e suínos e uma resistência cruzada entre ácido nalidíxico e ciprofloxacina em todas as cepas estudadas, que foram resistentes ao ácido nalidíxico e sensível a ciprofloxacina. Os autores concluíram que o gênero *Campylobacter* pode apresentar certo nível de resistência intrínseca que pode estar associada a presença de uma bomba de efluxo. O aparecimento de mutação no gene *gyrA* pode levar a um fenótipo de completa resistência. Resultados semelhantes foram observados por MAYRHOFER et al., (2004), os quais detectaram também resistência cruzada entre ácido nalidíxico e ciprofloxacina.

Para reduzir os níveis de resistência dos principais patógenos, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda programas de vigilância, monitoramento da resistência, uso prudente de antibióticos, educação dos usuários, pesquisas e o uso de alternativas para o tratamento antimicrobiano tal como vacinação (WHO, 2001).

Nos anos de 2000 e 2001, um estudo foi realizado na Itália para investigar a ocorrência e resistência de *Campylobacter jejuni* e *C. coli* em bovinos, aves, suínos e na carne dos mesmos. *Campylobacter* spp. foi encontrado em 82,9 % das aves examinadas e em 81,3 % da carnes das aves. Resistência a quinolonas foi observada em 78,6 % das cepas de *C. coli* e 52,8 % das cepas de *C. jejuni* isolados da carne de aves (PEZZOTTI et al., 2003).

A susceptibilidade a diferentes antibióticos por cepas de *Campylobacter* spp. isoladas de frangos pode não refletir exatamente a mesma susceptibilidade de cepas obtidas de alimentos ou patologias humanas. Portanto, diferentes perfis de resistência podem resultar de um possível “efeito filtro” do processo de transformação dos alimentos, diferenças na patogenicidade ou seleção de resistência na flora humana. No entanto, clones de pequena patogenicidade podem conter genes de resistência, transferíveis para outras cepas de *Campylobacter* spp. mais virulentas ou ainda para espécies bacterianas patogênicas (TAYLOR e COURVALIN, 1988).

Em um programa de monitoramento da resistência a antibióticos em *Campylobacter* spp. realizado no Japão no período de 1999 a 2001, divulgou-se que *C. jejuni* foi isolado das fezes de bovino, frangos e poedeiras, enquanto *C. coli* foi isolado somente das fezes de suínos, indicando que a frequência de espécies de *Campylobacter* difere dependendo do animal. Foi também constatada uma alta frequência de cepas resistentes à tetraciclina podendo estar associado ao excessivo uso deste antibiótico no tratamento de animais (ISHIHARA et al., 2004).

RONNER et al. (2004) ao investigarem o perfil de resistência de *C. jejuni* e *C. coli* isolados de aves, observaram que as cepas foram sensíveis a eritromicina, cloranfenicol e gentamicina, e foram resistentes a ciprofloxacina. Os autores concluíram que eritromicina permanece sendo a droga indicada no tratamento de pacientes infectados com *Campylobacter*, sendo importante à realização de testes de resistência antes do tratamento de pacientes infectados com o microrganismo.

3.2.5. Resistência a antibióticos de *Enterococcus* spp. isolados de frango de corte

Enterococcus spp. tem como habitat predominante o trato gastrointestinal de humanos e animais e devido a sua alta tolerância ao calor e capacidade de sobreviver em condições ambientais extremas podem ser usados como indicadores da qualidade sanitária de alimentos. Nas últimas décadas, o gênero *Enterococcus* tem emergido

como importante patógeno, isolado em hospitais de pacientes imunodepressivos e unidades intensivas. Este aumento do número de infecções causado por este microrganismo pode estar relacionado ao uso ilimitado de antibióticos de amplo espectro (BUTAYE et al., 2000, TEJEDOR-JUNCO et al., 2005).

Outro fator relevante é o uso de antibióticos como promotores de crescimento na alimentação animal, podendo ter originado um reservatório de transferência de resistência a antibióticos em vários ecossistemas. Esta transferência de resistência foi identificada nas criações de animais devido o uso de avoparcina como aditivo alimentar. Há um forte vínculo epidemiológico entre uso de antibióticos na medicina humana e criação animal e a emergência, distribuição e persistência de cepas resistentes em produtos animais (IKE et al., 1999; AaRESTRUP et al., 2000; RADU et al., 2001; CHEN et al., 2002; GIRAFFA, 2002).

Enterococcus spp. apresentam um amplo espectro de resistência tanto natural como adquirida. Este microrganismo é naturalmente resistente a penicilinas semi-sintéticas (oxacilina), aminoglicosídeos (baixo nível), vancomicina (baixo nível: *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. flavescens*), lincosamidas (principalmente), polimixinas, estreptograminas (*E. faecalis*). A sensibilidade de *Enterococcus* spp. a aminoglicosídeos é devido a uma alta dependência de energia deste antibiótico dentro da célula. Este microrganismo não possui citocromos e, portanto, não são capazes de produzir a energia necessária para seu metabolismo, apresentando uma resistência intrínseca. O aumento no uso de antibióticos úteis ao tratamento de infecções com *Enterobacteraiceae* ou anaeróbios e contra os quais *Enterococcus* spp. possui resistência natural ou uma baixa susceptibilidade podem levar a seleção e aumentar a incidência de *Enterococcus* ou a superinfecções por este gênero. Este fato é uma das razões da maior ocorrência de infecções causadas por este microrganismo nos hospitais nos últimos 20 - 30 anos (KLARE et al., 2003).

Cepas resistentes a vancomicina, especialmente *E. faecium* são encontradas com grande frequência em bovinos, aves, suínos e outros produtos cárneos. Estudos epidemiológicos em granjas que utilizavam avoparcina mostraram uma significativa associação com a presença de *Enterococcus* resistentes a vancomicina (VRE) em animais. VRE tem sido encontrado em poças de água de tratamento de plantas com adubos, fezes de gado, amostras de carne de frango mal cozida, fezes de suínos e aves (WEGENER et al., 1997; SON et al., 1999; FRANZ et al. 2003; POETA, et al.,

2005). Desta forma *Enterococcus* particularmente, *E. faecium* resistente a vancomicina tem se tornado um importante patógeno nosocomial.

CHEN et al. (2002), comparando a diferença de susceptibilidade antimicrobiana de *E. faecium* de humanos e em carcaças de aves, observaram que *E. faecium* em aves foram mais resistentes a vancomicina, teicoplanina e avoparcina, quando comparado com *E. faecium* de humanos. Todos os *E. faecium* de humanos foram resistentes a eritromicina e tilosina, comparado com somente 58,6 % dos *E. faecium* de aves. Estreptogramina foi ativo contra todos os isolados, exceto para 4 cepas encontradas em frangos. *E. faecium* resistentes a vancomicina foram mais resistentes a tetraciclina embora mais susceptível a cloranfenicol do que *E. faecium* resistente a vancomicina em humanos.

BORGEN et al. (2000) verificaram a presença de VRE em fazendas de criação de aves mesmo após o uso de avoparcina ter sido eliminado após 4 anos, em galpões vazios e limpos, na incubadora e em fezes. O estudo revelou que VRE persistiu no ambiente da fazenda após despopulação e limpeza dos galpões, uma vez que pode-se detectar falhas no processo de higienização dos mesmos, justificando a persistência do microrganismo.

BORGEN et al. (2001) avaliando granjas de frangos quanto a presença de *Enterococcus*, 3 anos após o uso de avoparcina ter sido proibido, detectaram a presença do microrganismo em 81 de 100 amostras avaliados, sendo que 9 possuíam o gene de resistência *vanA*. Carcaças de frangos originadas de fazendas com uso anterior de avoparcina apresentaram uma alta incidência de VRE em comparação com aquelas aves originadas de fazendas onde nunca foi usado avoparcina. Esses resultados confirmam a associação entre uso de avoparcina como promotor de crescimento e a ocorrência de VRE em aves.

Na Espanha, um estudo realizado visando determinar o perfil de resistência de enterococos resistentes a vancomicina em produtos de aves obtidos em diferentes supermercados e abatedouros, após a proibição do uso de avoparcina, identificou a presença de *E. faecalis*, *E. faecium* e *E. hirae*, tanto nas aves dos supermercados como no abatedouro. Todas as cepas apresentaram um alto nível de resistência a ampicilina, quinupristina-dalfopristina e aminoglicosídeos e foram caracterizados como tendo o gene *vanA*, mesmo após 1 ano da abolição do uso da avoparcina como promotor de crescimento (ROBREDO et al., 2000).

LEME et al. (2000) avaliando a resistência de *E. faecium* no Brasil, em aves que receberam em sua alimentação avoparcina, teicoplanina e vancomicina, observaram que cepas resistentes não foram detectadas, embora ocorresse um aumento de *E. faecium* nas fezes das aves alimentadas com avoparcina, independente da idade.

WILSON e McAFEE (2002) observaram que granjas com animais contaminados com *Enterococcus* resistente a vancomicina (VRE), podem atuar como contaminantes do ambiente uma vez que estes liberam excretas que podem contaminar os alimentos destinados a alimentação animal através de aves e animais silvestres. E que as aves atuam como fonte potencial de infecção com VRE, sendo necessário a adoção de boas práticas higiênicas visando reduzir o risco de infecção.

HAYES et al. (2001) observaram também a ocorrência de resistência em *E. faecium* em aves pelo uso de estreptogramina e quinupristina-dalfopristina. A resistência adquirida por este microrganismo sugere que o mesmo pode comprometer o potencial terapêutico do quinupristina-dalfopristina.

O antibiótico quinupristina-dalfopristina foi aprovado para uso em humanos em 1999 para o tratamento de infecções por *E. faecium* resistentes a vancomicina. No entanto, virginiamicina, um análogo do quinupristina-dalfopristina, tem sido usado com o promotor de crescimento para animais desde 1974 nos Estados Unidos (WEGENER et al., 1999). Em um estudo conduzido pelo CDC-NCID em 1998 a 1999, antes da aprovação do uso de quinupristina-dalfopristina em humanos, foi possível detectar 58 % de *E. faecium* resistentes a quinupristina-dalfopristina em aves compradas em supermercados de 4 estados diferentes. Adicionalmente, *E. faecium* resistentes a quinupristina-dalfopristina foi encontrado em 1 % das fezes de pessoas submetidas a exames laboratoriais. Estes resultados sugerem que o uso de virginiamicina na alimentação das aves tem criado um reservatório de *E. faecium* resistentes a quinupristina-dalfopristina, no qual as pessoas estão comumente expostas. O uso de quinupristina-dalfopristina em humanos para o tratamento de *E. faecium* resistentes a vancomicina e outras sérias infecções pode contribuir para uma pressão de seleção adicional, levando a um aumento na incidência de resistentes a quinupristina-dalfopristina em humanos (ÂNGULO et al., 2004).

AaRESTRUP et al. (2000) avaliando a resistência a diferentes antibióticos de *E. faecium* e *E. faecalis* isolados de humanos, frangos e suínos, observaram a ocorrência de uma ampla resistência a cloranfenicol, macrolídeos, kanamicina,

estreptomicina e tetraciclina entre os isolados das três fontes. Os autores concluíram que há a ocorrência de um similar perfil de resistência e genes de resistência, indicando que a transmissão de enterococos resistentes ou genes de resistência entre humanos, suínos e aves é possível.

Estudos revelam diferenças no nível de resistência entre as espécies de *Enterococcus*, sendo que cepas de *E. faecium* normalmente apresentam maior resistência a β -lactâmicos e as cepas de *E. faecalis* maior resistência a gentamicina. Constatou-se ainda que os isolados de humanos apresentam maior nível de resistência do que aqueles de origem animal (BUSANI et al., 2004).

A resistência encontrada em patógenos entéricos tem mostrado um progressivo aumento ao longo dos anos em muitas áreas do mundo. Tentativas para minimizar o desenvolvimento de resistência a antibióticos e otimizar os tratamentos incluem intervenções educacionais para médicos e pacientes, uso apropriado de antibióticos, redução e até mesmo proibição do uso de promotores de crescimento na alimentação animal, otimização de medidas de controle de infecções visando prevenir a disseminação de microrganismos resistentes, desenvolvimento e uso de técnicas de diagnóstico rápido para otimizar a terapia e o desenvolvimento de medidas preventivas como vacinas (LARRY e PICKERING, 2004).

3.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1. Obtenção das cepas

Para realização do teste de resistência a antibióticos foram utilizadas cepas de *Campylobacter jejuni*, *E. faecium* e *E. faecalis*, obtidas dos diferentes fatores avaliados no ambiente de criação de frango de corte em etapas anteriores, como descrito na seção análises microbiológicas do CAPÍTULO 2. O esquema da amostragem está representado nas Figuras 1 e 2 abaixo.

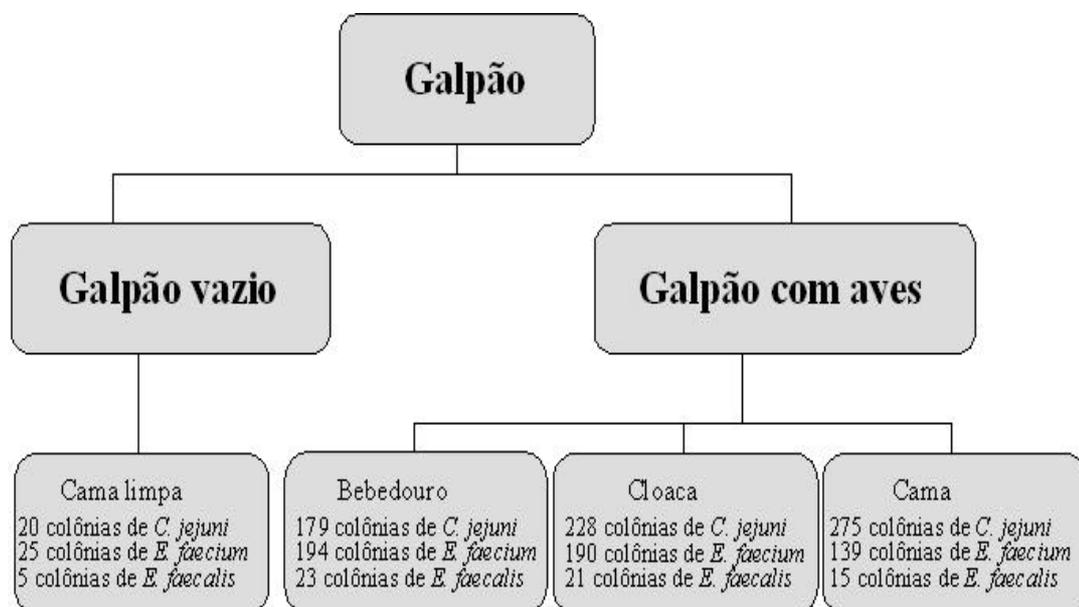


Figura 1. Número de colônias selecionadas do ambiente de criação de frango de corte para avaliação do perfil de resistência a diferentes antibióticos

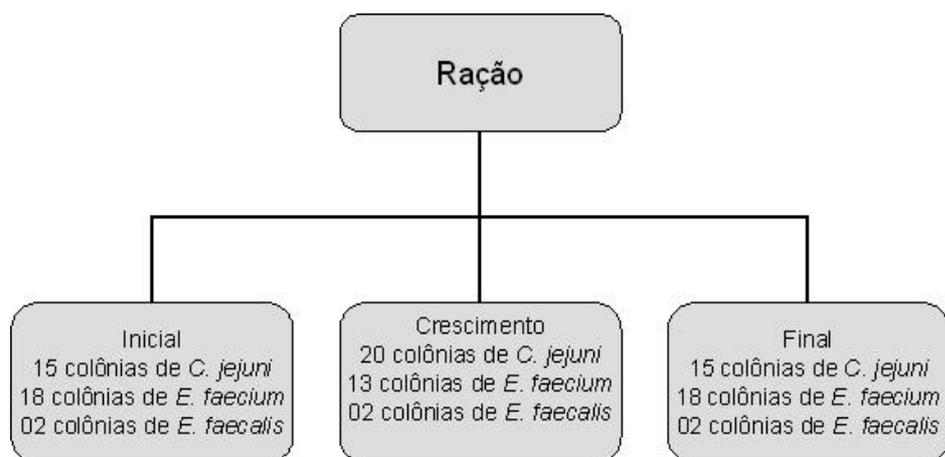


Figura 2. Número de colônias selecionadas na ração ministradas as aves para avaliação do perfil de resistência a diferentes antibióticos

3.3.2. Teste de resistência a antibióticos

O teste de resistência aos antibióticos foi realizado pelo método de Kirby Bauer ou método de difusão em placa (BROCK et al., 2000).

Para avaliar a resistência a antibióticos, os isolados de *Campylobacter jejuni*, *E. faecium* e *E. faecalis* foram reativados em Caldo Brain Heart Infusion (BHI-Oxoid) a 42 °C (em microaerofilia) e 37 °C por 48h, respectivamente. Após este período, uma alíquota da cultura ativada de cada microrganismo foi espalhada, uniformemente na superfície de placas contendo Ágar Mueller Hinton (Oxoid), sendo que para as cepas de *C. jejuni* adicionou-se 5 % de solução redutora FBP (FILGUEIRAS e HOFER, 1989). As placas foram deixadas em uma superfície plana para que ocorresse completa absorção. Em seguida discos de antibióticos foram colocados sobre a superfície da placa com o auxílio de uma pinça estéril em posições equidistantes. Uma leve pressão foi feita sobre os mesmos para uma boa aderência ao meio. Em seguida as placas contendo *C. jejuni* foram incubadas a 42 °C por 18 h, obedecendo às condições de microaerofilia e aquelas contendo *E. faecium* e *E. faecalis* foram incubadas a 35 °C por 18 h.

Após o período de incubação, avaliou-se a formação de halo de inibição através da leitura realizada com o auxílio de paquímetro medindo-se o diâmetro da zona de inibição incluindo o diâmetro do disco. Os resultados dos diâmetros das zonas de inibição foram interpretados conforme especificação da Tabela Padrão do

National Committee for Clinical Laboratory Standard, classificando os microrganismos em sensível, intermediário ou resistente (NCCLS, 2003).

Para as cepas de *C. jejuni* os antibióticos testados foram Ácido nalidíxico (30 µg), Azitromicina (15 µg), Bacitracina (10UI), Cefalotina (30 µg), Ciprofloxacina (5 µg), Cloranfenicol (30µg), Eritromicina (15 µg), Penicilina G (10UI), Sulfonamidas (300µg), Tetraciclina (30 µg), Trimetoprima (5µg) e Vancomicina (30µg). Na avaliação da resistência das cepas de *E. faecium* e *E. faecalis* os antibióticos testados foram Bacitracina (10UI), Cloranfenicol (30µg), Eritromicina (15 µg), Penicilina G (10UI), Sulfonamidas (300µg), Tetraciclina (30 µg), Trimetoprima (5µg) e Vancomicina (30µg) e quinupristina-dalfopristina (50mcg).

As cepas de referências utilizadas como controles foram: 1- *Campylobacter jejuni* – ATCC 29428; 2- *Campylobacter coli* – cepa cedida pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais; 3- *Enterococcus faecium* - SI96321; 4- *E. faecalis* -ATCC 19433.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1. Avaliação do perfil de resistência de *Campylobacter jejuni* isolados do ambiente de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado nas estações de inverno e de verão

A Figura 3 apresenta o perfil de resistência de *C. jejuni* isolados no sistema de criação convencional nas estações de inverno e de verão. Pode-se observar que os isolados de *C. jejuni* apresentaram maiores percentagens de resistência para os antibióticos sulfonamidas, tetraciclina, eritromicina e penicilina. Os maiores perfis de resistência intermediária foram registrados para os antibióticos bacitracina, trimetoprima, vancomicina, cloranfenicol, ácido nalidíxico e azitromicina. Já para os antibióticos cefalotina e ciprofloxacina, a maioria dos isolados foram classificados como sensíveis.

Ao avaliar os isolados obtidos no sistema automatizado, percebeu-se semelhança no perfil de resistência daqueles obtidos no sistema convencional, sendo que novamente as maiores resistências foram encontradas nos antibióticos sulfonamidas, tetraciclina, eritromicina, penicilina (Figura 4). Os isolados classificados como intermediários foram obtidos dos antibióticos bacitracina, trimetoprima, vancomicina, cloranfenicol, ácido nalidíxico, azitromicina e cefalotina. Para os antibióticos ciprofloxacina todos os isolados foram sensíveis.

Constatou-se também que as cepas de *C. jejuni* isoladas nas diferentes estações do ano e tipo de sistema de criação avaliados apresentaram perfis de resistência semelhantes.

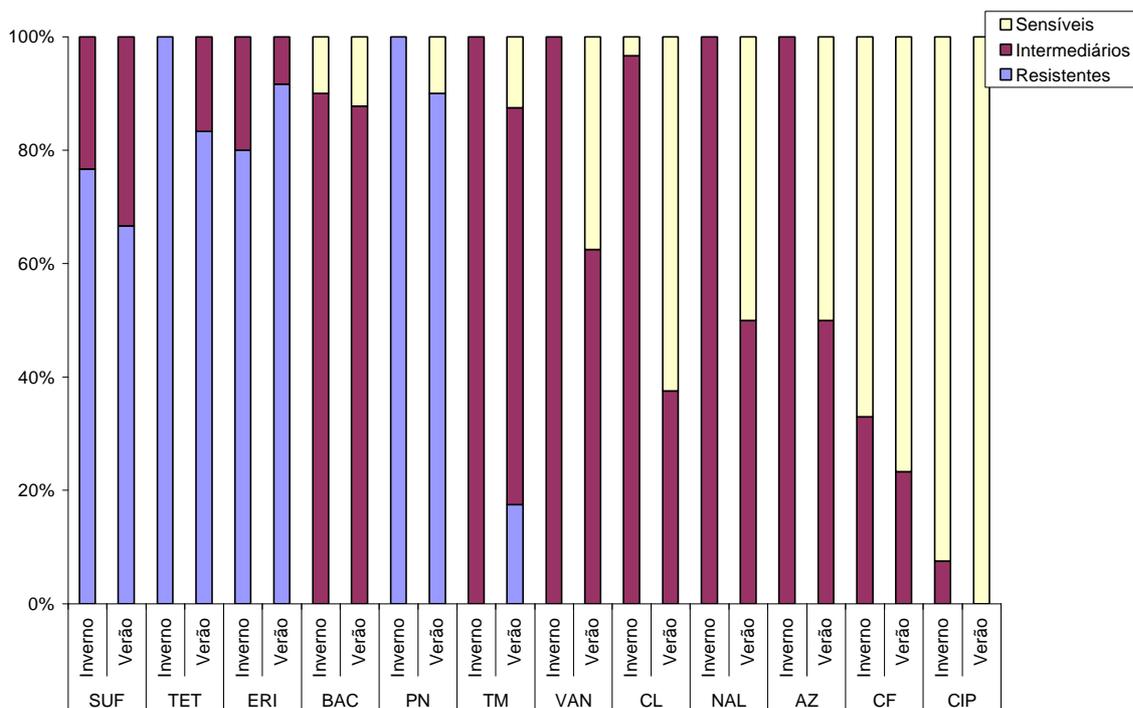


Figura 3. Perfil de resistência de *Campylobacter jejuni* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação convencional nas estações de inverno e de verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC - Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; NAL – Ácido Nalidíxico; AZ – Azitromicina; CF – Cefalotina; CIP – Ciprofloxacina).

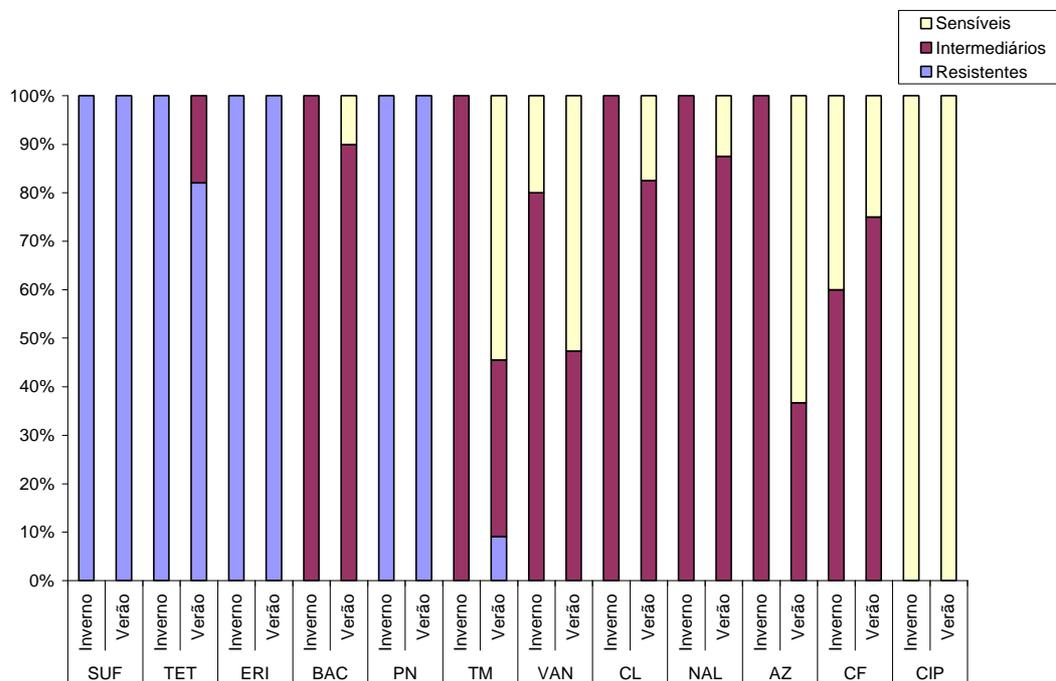


Figura 4. Perfil de resistência de *Campylobacter jejuni* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação automatizado nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC - Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; NAL – Ácido Nalidíxico; AZ – Azitromicina; CF – Cefalotina; CIP – Ciprofloxacina).

Resultados contrários foram observados em outros estudos onde foi detectada alta resistência de *Campylobacter* a fluoroquinolonas (ciprofloxacina) (ENGBERG et al., 2001; NACHAMKIN et al., 2002; PEZZOTTI et al. 2003; JAIN et al., 2005).

Neste estudo não foi detectada resistência a fluoroquinolonas, entretanto outros antibióticos também utilizados na terapia humana apresentaram um perfil de resistência preocupante, especialmente àqueles utilizados no tratamento de campilobacteriose, como o ácido nalidíxico e a eritromicina. A sensibilidade das cepas de *C. jejuni* a fluoroquinolonas pode ser resultante da menor exposição deste microrganismo a este antibiótico e conseqüente menor pressão de seleção.

A resistência apresentada por *C. jejuni* a sulfonamidas pode estar associada ao seu uso intensivo, principalmente por ser um antibiótico de baixo custo. HUOVINEN et al., (1995) citam que os principais mecanismos de resistência são mutações cromossomais e aquelas mediada por plasmídeos.

Resultados semelhantes foram encontrados em estudos em países europeus onde há uma alta freqüência de resistência a tetraciclina entre cepas de *Campylobacter*. Os autores relatam que a excessiva quantidade de tetraciclina que foi usada no tratamento de animais pode ter sido a causa desta alta resistência (ISHIHARA et al., 2004).

A resistência apresentada pelas cepas a eritromicina é bastante preocupante, uma vez, que ela é uma das drogas indicadas no tratamento de pacientes infectados com *Campylobacter*. SUTCLIFFE et al., (1996) relatam três mecanismos de resistência apresentados pela eritromicina:

1. Modificações mediadas pelo gene *erm* methylase no RNAr que altera um local comum no RNAr 23S que se liga aos macrolídeos.
2. Presença de enzimas (EreA e EreB) que hidrolisam o anel lactônico do núcleo macrocíclico e fosfotransferases (tipo I e tipo II) que inativam os macrolídeos por introduzir um fosfato no grupo 2' - hidroxil do amino-açúcar.
3. Presença de uma bomba de efluxo.

A resistência observada nas cepas de *C. jejuni* a penicilina está em acordo com a literatura. TAJADA et al., (1996) relatam que no geral, a maioria das espécies de *Campylobacter* são resistentes a um grande número de antibióticos β lactâmicos e que este microrganismo apresenta resistência intrínseca a penicilina. BUTAYE et al, (2000) observaram que a alta resistência a penicilina pode ser mediada por alterações nas proteínas ligadoras de penicilina (PBPs), pela produção de β lactamase ou pela

incapacidade destes compostos em penetrar através das porinas na membrana externa, contribuindo assim para a resistência.

O uso indiscriminado de antibióticos como promotores de crescimento e na terapia veterinária tem exposto bactérias a uma substancial e constante pressão de seleção, uma vez que as aves freqüentemente abrigam bactérias patogênicas ao homem em seu trato intestinal, como *Campylobacter*. Portanto o desenvolvimento de resistência deste microrganismo a vários antibióticos constitui um problema de saúde pública. Enquanto a resistência a um único antibiótico é preocupante, a resistência múltipla pode conduzir a falhas no tratamento, aumentando o índice de morbidade e mortalidade.

3.4.2. Avaliação do perfil de resistência de *Enterococcus faecium* e de *Enterococcus faecalis* isolados do ambiente de criação de frango de corte em dois sistemas de criação: convencional e automatizado nas estações de inverno e verão

As Figuras 5 e 6 apresentam o perfil de resistência de *E. faecium* isolados no sistema de criação convencional e automatizado nas estações de inverno e de verão. Pode-se observar que os isolados de *E. faecium* apresentaram maiores percentagens de resistência somente para o antibiótico penicilina. Verifica-se também que perfis de resistência intermediária foram registrados para os antibióticos sulfonamidas, tetraciclina e eritromicina. As cepas foram classificadas como sensíveis para os antibióticos bacitracina, trimetoprima, vancomicina, cloranfenicol e quinupristina-dalfopristina.

Ao avaliar o perfil de resistência de *E. faecalis* isolados no sistema de criação convencional e automatizado nas estações de inverno e verão (Figuras 7 e 8), nota-se uma semelhança no perfil de resistência daqueles obtidos para os isolados de *E. faecium*.

Constatou-se também que as cepas de *E. faecium* e *E. faecalis* isoladas nas diferentes estações do ano e tipo de sistema de criação avaliado apresentaram perfis de resistência semelhantes.

Diferentes resultados foram observados em outros trabalhos onde foi detectada alta resistência de *E. faecium* e *E. faecalis* a vancomicina e quinupristina-

dalfoprisitna (SON et al., 1999; BORGEM et al., 2000; BORGEM, et al., 2001, HAYES et al., 2001; CHEN et al., 2002).

Neste estudo não foi detectada resistência a vancomicina e quinupristina-dalfopristina como cita a literatura, que pode estar associada a menor exposição destes microrganismos a estes antibióticos. Este resultante é importante, uma vez que são antibióticos utilizados na terapia humana, especialmente no tratamento de doenças causadas por enterococos.

A sensibilidade das cepas de *E. faecium* e *E. faecalis* a quinupristina-dalfoprisitna encontrada neste trabalho, confirmam os resultados da avaliação de risco realizado pelo FDA-CVM para o promotor de crescimento virginamicina, onde o mesmo não oferece risco à saúde humana, devido a ausência de resistência cruzada com a quinupristina-dalfoprisitna, uma vez que, apresentam estruturas químicas semelhantes, (FDA-CVM, 2005).

Resultados contrários foram obtidos em relação à resistência apresentada pelas cepas de *E. faecium* e *E. faecalis* a penicilina, em que estudos revelam que há diferenças no nível de resistência entre as espécies de *Enterococcus*, sendo que cepas de *E. faecium* normalmente apresentam maior resistência a β -lactâmicos do que as cepas de *E. faecalis* (BUSANI et al., 2004). A resistência apresentadas por *E. faecium* e *E. faecalis* a penicilina pode ser resultante de fatores genéticos. KLARE et al., (2003) observaram que *Enterococcus* são naturalmente resistentes a penicilinas semi-sintéticas.

Portanto há evidências de que o uso abusivo de antibióticos em animais pode afetar a saúde humana. Diferentes mecanismos de resistência apresentados por patógenos de origem alimentar podem resultar em números maiores de casos de doenças em humanos, uma vez que, esta resistência pode facilitar as infecções em indivíduos que estão se automedicando, resultando assim em infecções que de outra maneira poderia não ter ocorrido. A resistência a antibióticos pode também delongar a administração do tratamento apropriado e a necessidade de usar antibióticos mais tóxicos e em maiores concentrações, complicando assim tratamentos simples de infecções e limitando as opções de tratamento, que pode tornar-se problemático com a presença de microrganismos resistentes a multidroga (TOLLEFSON e KARP, 2004).

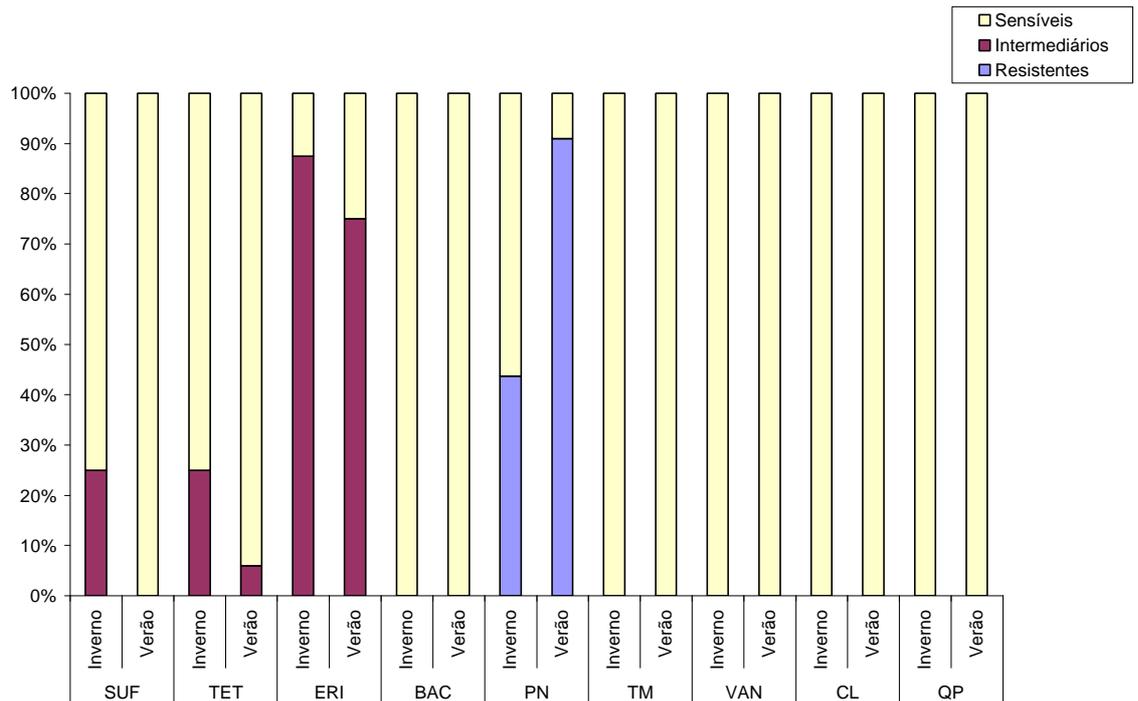


Figura 5. Perfil de resistência de *E. faecium* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação convencional nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; QP – Quinupristina-dalfopristina).

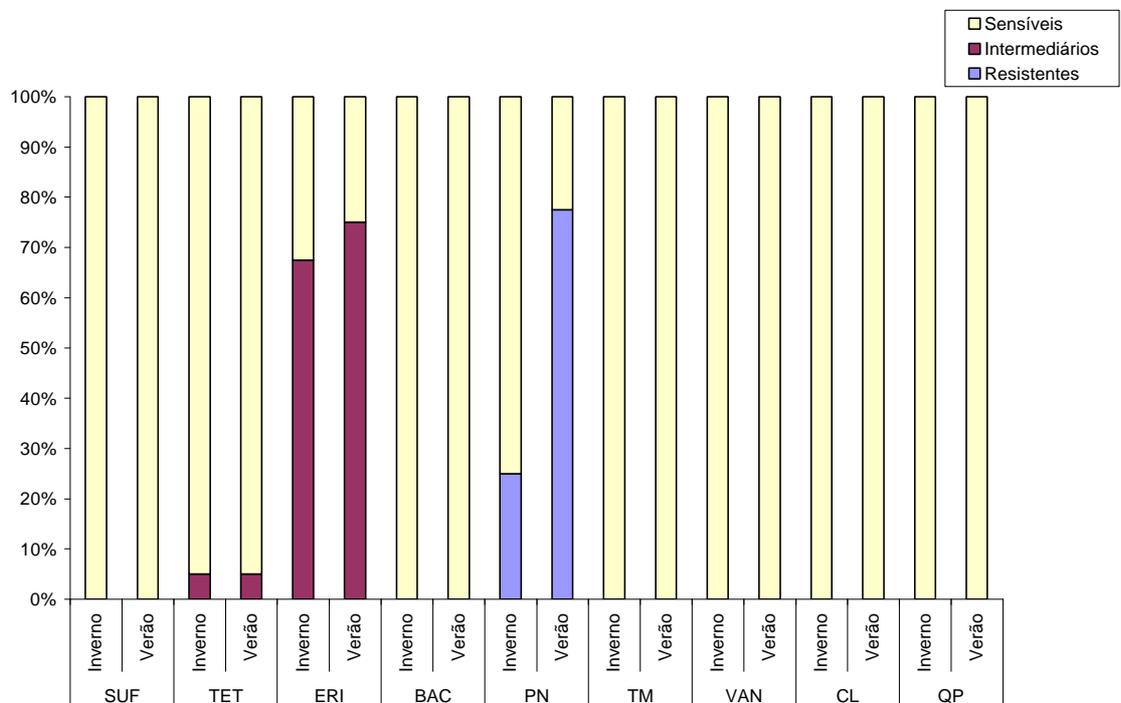


Figura 6. Perfil de resistência de *E. faecium* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação automatizado nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; QP – Quinupristina-dalfopristina).

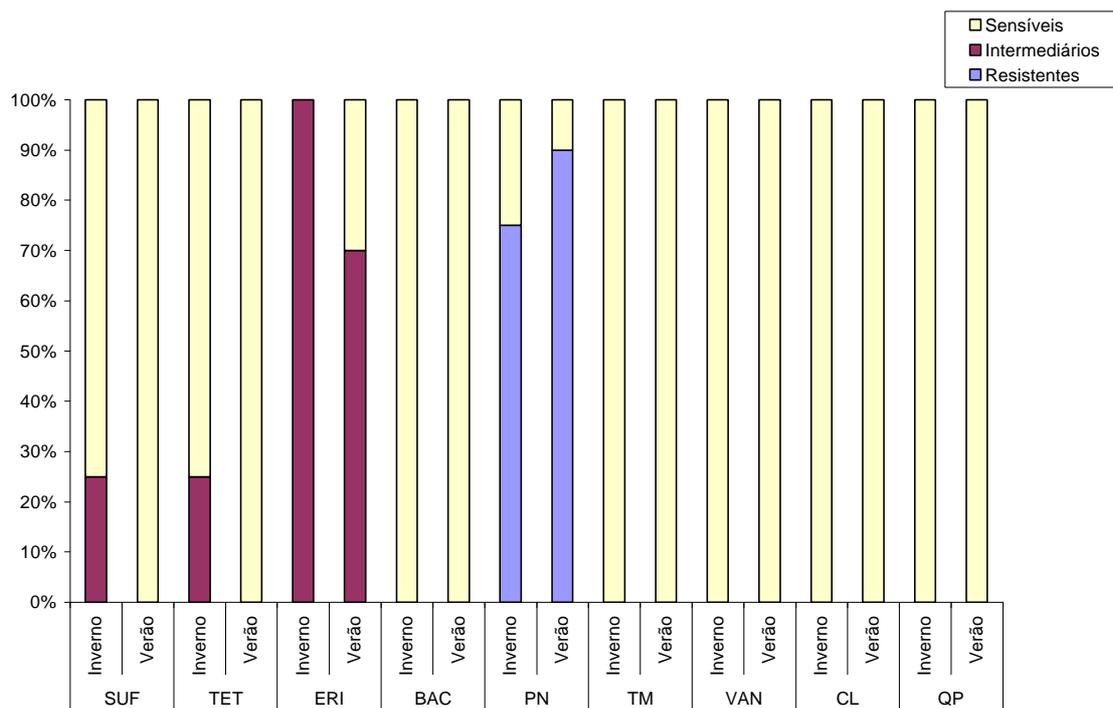


Figura 7. Perfil de resistência de *E. faecalis* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação convencional nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; QP – Quinupristina-dalfopristina).

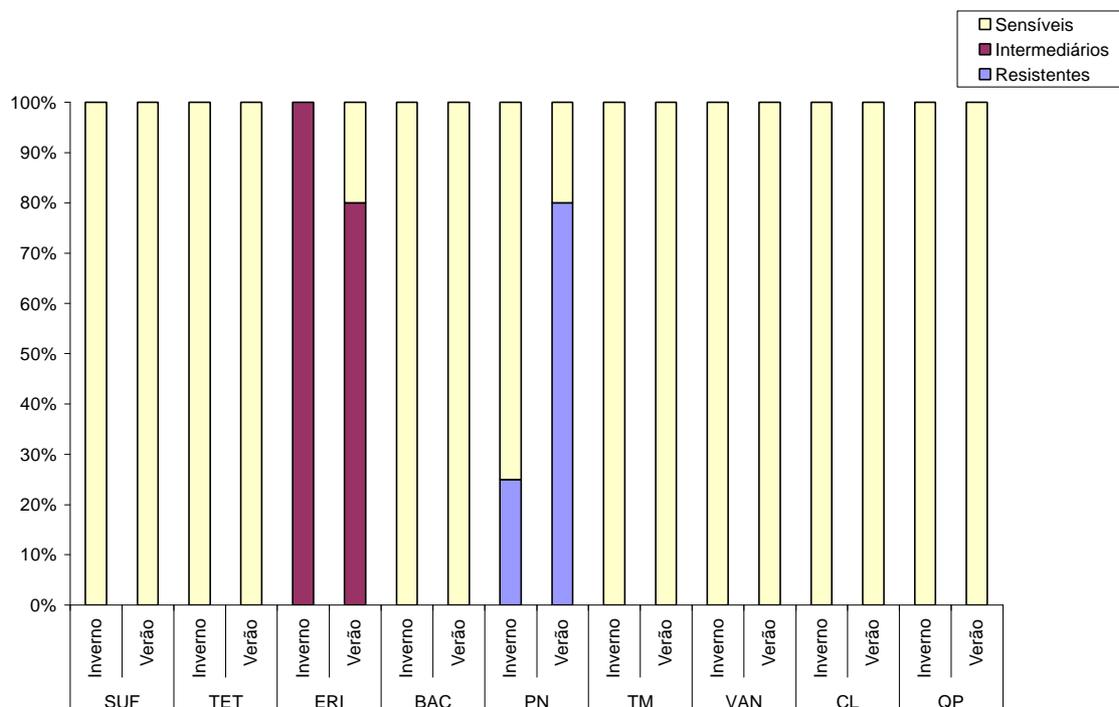


Figura 8. Perfil de resistência de *E. faecalis* isolados do ambiente de criação de frango de corte no sistema de criação automatizado nas estações de inverno e verão (SUF – Sulfonamidas; TET – Tetraciclina; ERI - Eritromicina; BAC -Bacitracina; PN – Penicilina; TM – Trimetoprima; VAN – Vancomicina; CL – Cloranfenicol; QP – Quinupristina-dalfopristina).

3.5. CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos na avaliação do perfil de resistência de *C. jejuni*, *E. faecium* e *E. faecalis*, nos sistemas convencional e automatizado, constatou-se que o perfil de resistência apresentado pelos microrganismos foi diferente daqueles citados pela literatura.

Para as cepas de *C. jejuni* as maiores percentagens de resistência foram observadas para os antibióticos sulfonamidas, tetraciclina, eritromicina e penicilina.

Para as cepas de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* as maiores percentagens de resistência foi observada para o antibiótico penicilina.

Com base neste estudo foi possível concluir que não há efeito da estação do ano e do sistema de criação nos perfis de resistência de *C. jejuni*, *E. faecium* e *E. faecalis* e que nas condições brasileiras o perfil de resistência desses microrganismos difere daqueles apresentados pelos países americanos e europeus, onde a resistência exibe números alarmantes. Mesmo assim, novos estudos no Brasil devem ser realizados visando conhecer o perfil de resistência destes e de outros microrganismos de interesse, tanto em animais como em humanos a fim de definir estratégias de controle do consumo de antibióticos na produção animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AaRESTRUP, F. M.; BAGER, F.; JENSEN, N. E.; MADSEN, M.; MEYLING, A.; WEGENER, H. C. Surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from food animals to antimicrobial growth promoters and related therapeutic agents in Denmark. **Acta Pathologica, Microbiologica Immunologica Scandinavica**, Kobenhavn, v. 106, n. 6, p. 602-622, 1998.

AaRESTRUP, F.M. Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v.12, p.279-285, 1999.

AaRESTRUP, F.M.; WEGENER, H.C. The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. **Microbes and Infection**, Paris, v.1, p.639-644, 1999.

AaRESTRUP, F.M.; AGERSO, Y.; GERNER-SMIDT, P.; MADSEN, M.; JENSEN, L.B. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community broilers, and pigs in Denmark. **Diagnostic Microbiology and Infections Disease**, New York, v.37, p.127-137, 2000.

ALLOS, B.M.; BLASER, M.J. *Campylobacter jejuni* and the expanding spectrum of related infections. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v.20, p.1092-1101, 1995

AMINOV, R.I.; GARRIGUES-JEANJEAN, N.; MACKIE, R.I.; Molecular ecology of tetracycline resistance: development and validation on primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.67, p. 22-32, 2001.

ÂNGULO, F.J.; BAKER, N.L.; OLSEN, S.J.; ANDERSON, A.; BARRETT, T.J. Antimicrobial use in agriculture: controlling the transfer of antimicrobial resistance to humans. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, Philadelphia, v.15, n.2, p.78-85, 2004.

AQUINO, M.H.C.; PACHECO, A.P.G.; FERREIRA, M.C.S.; TIBANA, A. Frequency of isolation and identification of thermophilic *Campylobacter* from animals in Brazil. **The Veterinary Journal**, London, v.164, p.159-161, 2002.

BENÍCIO, L.A.S. Paineis: restrições e uso de aditivos (promotores de crescimento) em rações de aves; visão da indústria. In: **Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas**, APINCO, Curitiba, PR, *Anais...*, FACTA, p. 17-26, 1996.

BORGEN, K.; SORUM, M.; KRUSE, H.; WASTESON, Y. Persistence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) on Norwegian broiler farms. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v.191, p.255-258, 2000.

BORGEN, K.; SORUM, M.; WASTESON, Y.; KRUSE, H. VanA-type vancomycin-resistant enterococci (VRE) remain prevalent in poultry carcasses 3 years after avaporcín was banned. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.64, p.89-94, 2001.

BRIGGS, C.E.; PRATAMICO, P.M. Molecular characterization of antibiotic resistance gene cluster *Salmonella typhimurium* DT104. **Antimicrobial agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 43, p. 846-849, 1999.

BROCK, T.D.; MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. Microbial Growth Control. In: BROCK, T.D.; MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Biology microorganisms**. 9. ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 2000, chapter 18, p. 770-779.

BUSANI, L.; GROSSO, M.D.; PALADINI, C.; GRAZIANI, C.; PANTOSTI, A.; BIAVASCO, F.; CAPRIOLI, A. Antimicrobial susceptibility of vancomycin susceptible and resistant enterococci isolated in Italy from raw meat products, farm animals, and human infections. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.97, p.17-22, 2004.

BUTAYE, P.; VAN-DAMME, K.; DEVRIESE, L.A.; VAN-DAMME, L.; BAELE, M.; LAUWERS, S.; HAESEBROUCK, F. In vitro susceptibility of *Enterococcus faecium* isolated from food to growth-promoting and therapeutic antibiotics. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.54, p.181-187, 2000.

BUTOLO, J.E. Agentes antimicrobianos em rações de aves e suínos. In: 35., **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Botucatu, 1998, *Anais...*, Botucatu: UNESP, FMVZ, p. 237-254.

CENTER FOR DISEASE CONTROL-NATIONAL CENTER FOR INFECTIOUS DISEASES (CDC-NCID). **Foodnet**. Estados Unidos. Disponível em: www.cdc.gov/foodnet, Acesso: Setembro de 2004.

CHEN, H.Y.; HILL, R.L.R.; KIRK, M.; CASEWELL, M.W.; BEIGHTON, D. Differential antimicrobial susceptibility between human and chicken isolates of vancomycin-resistant and sensitive *Enterococcus faecium*, **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v.19, p.39-46, 2002.

COLEMAN, K.; ATHALYE, M.; CLANCEY, A.; DAVISON, M.; PAYNE, D.J.; PERRY, C.R.; CHOPRA, I. Bacterial resistance mechanisms as therapeutic targets. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v. 33, p.1091-1116, 1994.

CROMWELL, G.L. Agents antimicrobial. In: MILLER, E.R.; ULREY, D.E.; LEWIS, A.J. **Swine Nutrition**. Stoneham: Butterworth-Heinemann, 1991, p. 297-314.

DUKES, H,H, **Fisiologia dos animais domésticos**. 11 ed., Rio de janeiro: Guanabara, 1993.

ENGBERG, J.; AARESTRUP, F.M.; TAYLOR, D.E.; SMIDT, P.G.; NACHAMKINS, I. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C.coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v.7, n.1, p.24-34, 2001.

ENGLER, M.D.; FEDORKA-CRAY, P.J.; LADELY, S.R.; DARGATZ, D.A. Antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* from feedlot cattle. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.99, p.285-291, 2005.

ERPELDING, D.L. Promotores de crescimento: ciência vs política. In: **Simpósio Internacional sobre Nutrição de Aves**, Campinas, SP, *Anais...*, FACTA, p.187-197, 1999.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION-CENTER FOR VETERINARY MEDICINE (FDA-CVM). **Risk Assessment of Streptogramin Resistance in *Enterococcus faecium* Attributable to the Use of Streptogramins in Animals**. 2003, 101p. Disponível em: http://www.fda.gov/cvm/documents/sref_ra_finaldraft.pdf. Acesso em: Abril de 2005.

FERBER, D. New hunt for the roots of resistance. **Science**, Washington, v. 280, 1998.

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, RJ. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.20, n.3, p.303-308, 1989.

FRANZ, C.M.A.P.; STILES, M.E; SCHLEIFER, K.H.; HOLZAPFEL, W.H. Enterococci in food – a conundrum for food safety? **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.88, p.105-122, 2003.

FREDIANI-WOLF, V.; STEPHAN, R. Resistance patterns of *Campylobacter* spp. strains isolated from poultry carcasses in a big Swiss poultry slaughterhouse. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.89, p. 233-240, 2003.

GIRRAFA, G. Enterococci from foods. **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v.744, p.1-9, 2002.

GOOTZ, T.D.; MARTIN, B.A. Characterization of high-level quinolone resistance in *Campylobacter jejuni*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v.35, p.840-845, 1991.

GUPTA, A.; NELSON, J.M.; BARRETT, T.J.; TAUXE, R.V.; ROSSITER, S.P.; FRIEDMAN, C.R.; JOYCE, K.W.; SMITH, K.E.; JONES, T.F.; HAWKINS, M.A.; SHIFERAW, B.; BEEBE, J.L.; VUGIA, D.J.; RABATSKY-EHR, T.; BENSON, J.A.; ROOT, T.P.; ÂNGULO, F.J. Antimicrobial resistance among *Campylobacter* strains, United States, 1997-2001. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v.10, n.6, p.1102-1109, 2004.

HAYES, J.R.; McINTOSH, A.C.; QAIYUMI, S.; JOHNSON, J.A.; ENGLISH, L.L.; CARR, L.E.; WAGNER, D.D.; JOSEPH, S.W. High-frequency recovery of Quinupristin-Dalfopristin-Resistant *Enterococcus faecium* isolates from the poultry production environment. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.39, n.6, p.2298-2299, 2001.

HUOVINEN, P.; SUNDSTROM, L.; SWEDBERG, G.; SKOLD, O. Trimethoprim and sulfonamide resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v.39, n.2, p.279-289, 1995.

IAFIGLIOLA, M.C. **O uso de cobre e antibiótico como promotores de crescimento em rações para frangos de corte**. 2000. 72f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

IKE, Y.; TANIMOTO, K.; OZAWA, Y.; NOMURA, T.; FUJIMOTO, S.; TOMITA, H. Vancomycin-resistant enterococci in imported chickens in Japan. **Research Letters**, Amsterdam, v.353, 1999.

ISHIHARA, K.; KIRA, T.; OGIKUBO, K.; MORIOKA, A.; KOJIMA, A.; KIJIMA-TANAKA, M.; TAKAHASHI, T.; TAMURA, Y. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food-producing animals on farms (1999-2001): results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v.24, p.63-69, 2004.

JAIN, D.; SINHA, S.; PRASAD, K.N.; PANDEY, C.M. *Campylobacter* species and drug resistance in a north Indian rural community. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.99, p.207-214, 2005.

KLARE, I.; KONSTABEL, C.; BADSTUBNER, D.; WERNER, G.; WITTE, W. occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.88, p.269-290, 2003.

LARRY, K.; PICKERING, M.D. Antimicrobial resistance among enteric pathogens. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, Philadelphia, v.15, n.2, p.71-77, 2004.

LEE, A.; MAO, W.; WARREN, M.S.; MISTRY, A.; HOSHINO, K.; OKUMURA, R.; ISHIDA, H.; LOMOVSKAYA, O. Interplay between efflux pumps may provide either additive or multiplicative effects on drug resistance. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.182, p. 3142-3150, 2000.

LEME, I.L.; FERREIRA, A.J.P.; BOTTINO, J.A.; PIGNATARI, A.C.C. Glycopeptides susceptibility among enterococci isolated from a poultry farm in São Paulo, Brazil (1996/1997). **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.31, p.53-57, 2000.

LEVY, S.B. Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v.36, p. 695-703, 1992.

LEWIS, K. Multidrug resistance pumps in bacteria variations on a theme. **Trends in Biochemical Sciences**, Amsterdam, v.19, p.119-123, 1994.

MAcNAB, J.M. The avian caeca: a review. **World's Poultry Science Journal**, New York, v. 29, n.3, p. 251-263, 1973.

MARCH, B.E. The host and its microflora: an ecological unit. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 49, n.3, p.857-867, 1979.

MARQUES, H.L. Melhoradores de desempenho. **Avicultura Industrial**, São Paulo, n.04, edição 1122, 68p, 2004.

MAYRHOFER, S.; PAULSEN, P.; SMULDERS, F.J.M.; HILBERT, F. Antimicrobial resistance profile of five major food-borne pathogens isolated from beef, pork and poultry. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.97, n.1, p.23-29, 2004.

McDERMOTT, P.F.; BODEIS, S.M.; ENGLISH, L.L.; WHITE, D.G.; WALKER, R.D.; ZHAO, S. Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* evolves rapidly in chickens treated with fluoroquinolones. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.185, p.837-840, 2002.

MUDD, T. Feed antibiotics: do they have a future? **Feed Mix**, Doetinchen, v.5, n.1, p.18-20, 1997.

MOREIRA, M.A.S. **Mecanismos de resistência aos antimicrobianos em *Escherichia coli* e em *Enterobacter cloacae***. 2002. 103f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NACHAMKIN, I.; UNG, H.; LI, M. Increasing fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni*, Pennsylvania, USA, 1982-2001. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v.8, n.12, p.1501-1503, 2002.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS - NCCLS. **Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing**. Tables M100-S13, 2003.

- NETO, J.P. Fatos sobre legislação e uso de antibióticos como aditivos em rações. **Avicultura Industrial**, São Paulo, n.09, ed.1138, p.24-35, 2005.
- NEYFAKH, A.A. Natural functions of bacterial multidrug transporters. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v.5, p. 309-312, 1997.
- NIKAIDO, H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. **Science**, Washington, v. 264, p. 382-388, 1994.
- NIKAIDO, H. Antibiotic resistance caused by gram-negative multidrug efflux pumps. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 27, p. 32-41, 1998.
- PAULSEN, I.T.; BROWN, M.H.; SKURRAY, R.A. Proton-dependent multidrug efflux systems. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 60, p. 575-606, 1996.
- PEZZOTTI, G.; SERAFIN, A.; LUZZI, I.; MIONI, R.; MILAN, M.; PERIN, R. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 82, n.3, p.281-287, 2003.
- POETA, P.; ANTUNES, T.; RODRIGUES, J. *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina isolados de fezes de frangos, pombos, gamos e ratos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.58, n.3, p.412-414, 2005.
- RADU, S.; TOOSA, H.; RAHIM, R.A.; REEZAL, A.; AHMAD, M.; HAMID, A.N.; RUSUL, G.; NISHIBUCHI, M. Occurrence of the *vanA* and *vanC2/C3* genes in *Enterococcus* species isolated from poultry sources in Malaysia. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, New York, v.39, p.145-153, 2001.
- ROBREDO, B.; SINGH, K.V.; BAQUERO, F.; MURRAY, B.E.; TORRES, C. Vancomycin-resistant enterococci isolated from animals and food. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.54, p.197-204, 2000.
- RONNER, A.C.; ENGVALL, E.O. ANDERSSON, L.; KAIJSER, B. Species identification by genotyping and determination of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from humans and chickens in Sweden. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.96, p.173-179, 2004.
- SACKEY, B.A.; MENSAH, P.; COLLISON, E.; SAKYI-DAWSON, E. *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan Accra. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.71, p. 21-28, 2001.
- SAENZ, Y.; ZARAZAGA, M.; LANTERO, M.; GASTANARES, M.J.; BAQUERO, F.; TORRES, C. Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997-1998. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v.44, n.2, p.267-271, 2000.

SALANITRO, E.; BLAKE, I.G.; MUIRHEAD, P.A.; MAGLIO, M.; GOODMAN, J.R. Bacteria isolated from the duodenum, ileum, and cecum of young chicks. **Applied and Environment Microbiology**, Washington, v.35, n.4, p. 782-790, 1978.

SOARES, L.L.P. Paineis: restrições e uso de aditivos (promotores de crescimento) em rações de aves. Visão do fabricante. In: **Conferência de Ciência e Tecnologia Avícolas**, APINCO, Curitiba, PR, *Anais...*, FACTA, p.27-36, 1996.

SON, R.; NIMITA, F.; RUSUL, G.; NASRELDIN, E.; SAMUEL, L.; NISHIBUCHI, M. Isolation and molecular characterization of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Malaysia. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.29, p.118-122, 1999.

SUTCLIFFE, J.; GREBE, T.; KAMRADT, A.T.; WONDRACK, L. Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v.40, n.11, p.2562-2566, 1996.

TAJADA, P.; GARCES, J.L.G.; ALÓS, J.I.; BALAS, D.; COGOLLOS, R. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to 12 β -lactam agents and combinations with β -lactamase inhibitors. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v.40, n.8, p.1924-1925, 1996.

TAYLOR, D.E.; COURVALIN, P. Mechanisms of antibiotic resistance in *Campylobacter* species. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Bethesda, v.32, p.1107-1112, 1988.

TEJEDOR-JUNCO, M.T.; AFONSO-RODRÍGUEZ, O.; MARTÍN-BARRASA, J.L.; GONZÁLEZ-MARTÍN, M. Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus* strains isolated from poultry faeces. **Research in Veterinary Science**, London, v.78, p.33-38, 2005.

TOLLEFSON, L.; KARP, B.E. Human health impact from antimicrobial use in food animals. **Médecine et Maladies Infectieuses**, Paris, v.34, p.514-521, 2004.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Drogas antimicrobianas. In: TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L **Microbiologia**, 6^a edição, Artmed, 2000, cap.20, p.531-546.

VAARA, M. Agents that increase the permeability of the outer membrane. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 56, p. 395-411, 1992.

VAN DEN BOGAARD, A.E.; STOBBERINGH, E.E. Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 14, p. 327-335, 2000.

WEGENER, H.C.; MADSEN, M.; NIELSEN, N.; AARESTRUP, F.M. Isolation of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* from food. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.35, p.57-66, 1997.

WEGENER, H.C.; AaRESTRUP, F.M. JENSEN, L.B. Use of antimicrobial growth promoters in food animals and *Enterococcus faecium* resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. **Emerging Infectious Disease**, Atlanta, v.5, p.329-335, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Antibiotic resistance synthesis of recommendations by expert policy groups. WHO/CDS/DRS/2001.10. 2001.

WILSON, I.G.; McAFEE, G.G. Vancomycin-resistant enterococci in shellfish, unchlorinated waters, and chicken. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.2434, p., 2002.

WITTE, W. Ecological impact of antibiotic use in animals on different complex microflora: environment. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v.14, p.321-325, 2000a.

WITTE, W. Selective pressure by antibiotic use in livestock. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v.16, p.s19-s24, 2000b.

RESUMO E CONCLUSÕES

Este trabalho teve por objetivos verificar que fatores no ambiente de criação de frango de corte são relevantes na prevalência da contaminação microbiana, avaliar a qualidade microbiológica de frangos de corte criados nos sistemas de criação convencional e automatizado, nas estações de inverno e de verão com relação à presença de *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *Enterococcus faecium* e *E. faecalis*, avaliar o grau de resistência a diferentes antibióticos das espécies identificadas e elaborar mecanismos de controles prévios e posteriores ao sacrifício das aves que permitam minimizar a contaminação e a disseminação destas etiologias entre lotes e a unidade de abate de modo a impedir que tais problemas atinjam o consumidor.

Na avaliação do ambiente de criação constatou-se que não ocorreu interferência da estação do ano no grau de contaminação dos ambientes nos dois sistemas de criação (convencional e automatizado) por *Campylobacter* e *Enterococcus*.

Mediante as respostas obtidas nos questionários e na avaliação visual “in loco” das granjas notou-se que as más condições de higiene associada à ausência de um programa de biossegurança adotado pelas mesmas são fatores que permitem incidência de uma alta contaminação por diferentes microrganismos.

Campylobacter e *Enterococcus* não foram detectados nas análises realizadas após o período de vazio sanitário do galpão, nos dois sistemas de criação. Observou-se ainda que independente do sistema de criação utilizado e estação do ano, foi possível detectar *Campylobacter* e *Enterococcus* ao longo do período de criação das

aves. Na identificação bioquímica, as cepas de *Campylobacter* foram identificadas como *C. jejuni*. Já em relação as cepas de *Enterococcus*, 90% dos isolados foram *E. faecium* e 10 % *E. faecalis*.

Na avaliação do perfil de resistência de *C. jejuni*, *E. faecium* e *E. faecalis*, nos sistemas convencional e automatizado, constatou-se que o perfil apresentado pelos microrganismos foi diferente daqueles citados pela literatura.

Para as cepas de *C. jejuni* as maiores percentagens de resistência foram observadas para os antibióticos sulfonamidas, tetraciclina, eritromicina e penicilina.

Para as cepas de *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis* a maior percentagem de resistência foi observada para o antibiótico penicilina.

Sugere-se a adoção de medidas de controle visando reduzir a contaminação com estes patógenos desde o incubatório, na granja e na indústria de processamento, de tal forma que a criação de um programa de treinamento de mão de obra e a adoção de boas práticas agropecuárias possam interromper ou minimizar o ciclo de contaminação dos patógenos

Sugere-se ainda que novos estudos em nível de Brasil sejam realizados visando conhecer o perfil de resistência destes e de outros microrganismos de interesse, tanto em animais como humanos a fim de definir estratégias de controle do consumo de antibióticos na produção animal.

ANEXO

Tabela 3. Perfil de resistência (%) de cepas de *Campylobacter jejuni* isolados do sistema convencional de criação de frangos de corte- estação do inverno

Granja Convencional – Estação do inverno													
Fatores	Espécie	SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	NAL	AZ	CF	CIP
Cloaca	<i>C. jejuni</i> (R)	77,7	100	88,9	0	100	0	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	22,3	0	11,1	77,7	0	100	100	88,9	100	100	44,4	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	22,3	0	0	0	11,1	0	0	55,6	100
Bebedouro	<i>C. jejuni</i> (R)	80	100	90	0	100	0	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	20	0	10	70	0	100	100	90	100	100	60	30
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	30	0	0	0	10	0	0	40	70
Cama	<i>C. jejuni</i> (R)	92,3	100	92,3	0	92,3	0	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	7,7	0	7,7	84,6	7,7	100	76,9	84,6	92,3	92,3	46,2	23,1
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	15,4	0	0	23,1	15,4	7,7	7,7	53,8	76,9
Cama Limpa	<i>C. jejuni</i> (R)	100	100	50	0	100	0	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	0	0	50	100	0	100	100	100	100	100	0	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	100
Ração	<i>C. jejuni</i> (R)	50	100	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	50	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100

SUF-Sulfonamidas (I: 13-16); TET-Tetraciclina (I: 15-18); ERI-Eritromicina (I: 14- 22); BAC-Bacitracina (I: 9-12); PN-Penicilina G (I: ?); TM-Trimetoprima (I: 11-15); VAN-Vancomicina (I: 15-16); CL-Cloranfenicol (I: 13-17); NAL-Ácido Nalidíxico (I: 14-18); AZ-Azitromicina (I: 14-17); CF-Cefalotina (I: 15-17); CIP-Ciprofloxacina (I: 16-20)

Tabela 4. Perfil de resistência (%) de cepas de *Campylobacter jejuni* isolados do sistema convencional de criação de frangos de corte- estação do verão

Fatores	Espécie	Granja Convencional – Estação do verão											
		SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	NAL	AZ	CF	CIP
Cloaca	<i>C. jejuni</i> (R)	81,8	81,8	81,8	0	100	27,3	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	18,2	18,2	18,2	91	0	45,5	36,6	27,3	72,7	27,3	45,5	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	9	0	27,2	63,4	72,7	27,3	72,7	54,5	100
Bebedouro	<i>C. jejuni</i> (R)	50	75	75	0	100	25	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	50	25	25	66,7	0	75	41,7	33,3	58,3	50	33,3	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	33,3	0	0	58,3	66,7	41,7	50	66,7	100
Cama	<i>C. jejuni</i> (R)	53,3	73,3	46,7	0	100	20	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	46,7	26,7	53,3	60	0	80	33,3	13,3	53,3	46,6	20	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	40	0	0	66,7	86,7	46,7	53,4	80	100
Cama Limpa	<i>C. jejuni</i> (R)	50	100	100	0	50	0	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	50	0	0	100	0	50	50	0	0	50	0	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	0	50	50	50	100	100	50	100	100
Ração	<i>C. jejuni</i> (R)	100	75	100	0	100	25	0	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	0	25	0	100	0	75	75	50	100	50	50	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	0	0	0	25	50	0	50	50	100

SUF-Sulfonamidas (I: 13-16); TET-Tetraciclina (I: 15-18); ERI-Eritromicina (I: 14- 22); BAC-Bacitracina (I: 9-12); PN-Penicilina G (I: ?); TM-Trimetoprima (I: 11-15); VAN-Vancomicina (I: 15-16); CL-Cloranfenicol (I: 13-17); NAL-Ácido Nalidíxico (I: 14-18); AZ-Azitromicina (I: 14-17); CF-Cefalotina (I: 15-17); CIP-Ciprofloxacina (I: 16-20)

Tabela 5. Perfil de resistência (%) de cepas de *Campylobacter jejuni* isolados do sistema automatizado de criação de frangos de corte- estação do inverno

Granja Automatizada – Estação do inverno													
Fatores	Espécie	SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	NAL	AZ	CF	CIP
Cloaca	<i>C. jejuni</i> (R)	100	100	100	0	100	0	93,3	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	0	0	0	100	0	100	6,7	93,3	100	100	80	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	0	0	0	0	6,7	0	0	20	100
Bebedouro	<i>C. jejuni</i> (R)	71,4	100	85,7	0	100	0	28,6	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	28,6	0	14,3	85,7	0	100	71,4	85,7	100	100	57,1	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	14,3	0	0	0	14,3	0	0	42,9	100
Cama	<i>C. jejuni</i> (R)	78,5	100	92,8	0	100	0	57,7	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	21,5	0	7,2	71,4	0	100	42,3	85,7	100	100	50	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	28,6	0	0	0	14,3	0	0	50	100
Cama Limpa	<i>C. jejuni</i> (R)	100	100	100	0	100	0	100	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	0	0	0	100	0	100	0	100	100	100	50	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	100
Ração	<i>C. jejuni</i> (R)	100	100	100	0	100	0	66,6	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	0	0	0	83,3	0	100	33,4	83,3	83,3	83,3	33,3	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	16,7	0	0	0	16,7	16,7	16,7	66,7	100

SUF-Sulfonamidas (I: 13-16); TET-Tetraciclina (I: 15-18); ERI-Eritromicina (I: 14- 22); BAC-Bacitracina (I: 9-12); PN-Penicilina G (I: ?); TM-Trimetoprima (I: 11-15); VAN-Vancomicina (I: 15-16); CL-Cloranfenicol (I: 13-17); NAL-Ácido Nalidíxico (I: 14-18); AZ-Azitromicina (I: 14-17); CF-Cefalotina (I: 15-17); CIP-Ciprofloxacina (I: 16-20)

Tabela 6. Perfil de resistência (%) de cepas de *Campylobacter jejuni* isolados do sistema automatizado de criação de frangos de corte- estação do verão

Granja Automatizada – Estação do verão													
Fatores	Espécie	SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	NAL	AZ	CF	CIP
Cloaca	<i>C. jejuni</i> (R)	46,7	80	73,3	0	100	20	40	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	53,3	20	26,7	80	0	80	53,3	80	100	86,6	100	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	20	0	0	6,7	20	0	13,4	0	100
Bebedouro	<i>C. jejuni</i> (R)	85,7	100	92,8	7,1	100	42,9	42,8	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	14,3	0	7,2	78,5	0	57,1	35,7	57,1	100	71,4	78,5	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	14,4	0	0	21,5	42,9	0	28,6	21,5	100
Cama	<i>C. jejuni</i> (R)	53,3	80	86,6	0	100	26,7	26,6	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	46,7	20	13,4	73,3	0	73,3	46,6	100	93,3	60	66,6	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	26,7	0	0	26,8	0	6,7	40	33,4	100
Cama Limpa	<i>C. jejuni</i> (R)	100	100	100	0	100	0	50	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	0	0	0	100	0	0	0	50	50	0	50	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	0	0	100	50	50	50	100	50	100
Ração	<i>C. jejuni</i> (R)	66,6	50	66,6	0	100	0	66,6	0	0	0	0	0
	<i>C. jejuni</i> (I)	33,4	50	33,4	83,3	0	0	16,6	100	100	50	83,3	0
	<i>C. jejuni</i> (S)	0	0	0	16,7	0	100	16,8	0	0	50	16,7	100

SUF-Sulfonamidas (I: 13-16); TET-Tetraciclina (I: 15-18); ERI-Eritromicina (I: 14- 22); BAC-Bacitracina (I: 9-12); PN-Penicilina G (I: ?); TM-Trimetoprima (I: 11-15); VAN-Vancomicina (I: 15-16); CL-Cloranfenicol (I: 13-17); NAL-Ácido Nalidíxico (I: 14-18); AZ-Azitromicina (I: 14-17); CF-Cefalotina (I: 15-17); CIP-Ciprofloxacina (I: 16-20)

Tabela 7. Perfil de resistência (%) de cepas de *E. faecium* e *E. faecalis* isolados do sistema convencional de criação de frangos de corte-estação do inverno

Granja Convencional – Estação do inverno										
Fatores	Espécie	SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	QP
Cloaca	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	75	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	75	0	0	0	12,5	0	12,5
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	25	100	25	100	87,5	100	87,5
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Bebedouro	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	50	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	75	0	0	12,5	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	25	100	50	87,5	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Cama	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	50	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	0	100	50	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Ração	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	100	100	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	0	0	0	100	100	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	100	100	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	0	0	0	100	100	100	100	100	100

SUF-Sulfonamidas (I: 13-16); TET-Tetraciclina (I: 15-18); ERI-Eritromicina (I: 14- 22); BAC-Bacitracina (I: 9-12); PN-Penicilina G (I: ?); TM-Trimetoprima (I: 11-15); VAN-Vancomicina (I: 15-16); CL-Cloranfenicol (I: 13-17); QP-Quinupristina-dalfopristina (I: 15-16).

Tabela 8. Perfil de resistência (%) de cepas de *E. faecium* e *E. faecalis* isolados do sistema convencional de criação de frangos de corte-estação do verão

		Granja Convencional – Estação do verão								
Fatores	Espécie	SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	QP
Cloaca	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	90	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	90	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	10	100	10	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	50	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	50	100	0	100	100	100	100
Bebedouro	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	90	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	10	30	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	90	70	100	10	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	50	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	100	100	50	100	100	100	100
Cama	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	75	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	12,5	0	87,5	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	87,5	100	12,5	100	25	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Cama limpa	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100

Cont.

Fatores	Espécie	SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	QP
Ração	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	20	80	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	80	20	100	0	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100

SUF-Sulfonamidas (I: 13-16); TET-Tetraciclina (I: 15-18); ERI-Eritromicina (I: 14- 22); BAC-Bacitracina (I: 9-12); PN-Penicilina G (I: ?); TM-Trimetoprima (I: 11-15); VAN-Vancomicina (I: 15-16); CL-Cloranfenicol (I: 13-17); QP-Quinupristina-dalfopristina (I: 15-16).

Tabela 9. Perfil de resistência (%) de cepas de *E. faecium* e *E. faecalis* isolados do sistema automatizado de criação de frangos de corte-estação do inverno

Granja Automatizada – Estação do inverno										
Fatores	Espécie	SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	QP
Cloaca	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	50	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	75	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	25	100	50	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Bebedouro	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	25	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	58,3	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	41,7	100	75	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	100	100	100	100	100
Cama	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	22,3	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	77,8	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	22,2	100	77,7	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	100	100	100	100	100
Ração	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	20	60	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	80	40	100	100	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	100	100	100	100	100

SUF-Sulfonamidas (I: 13-16); TET-Tetraciclina (I: 15-18); ERI-Eritromicina (I: 14- 22); BAC-Bacitracina (I: 9-12); PN-Penicilina G (I: ?); TM-Trimetoprima (I: 11-15); VAN-Vancomicina (I: 15-16); CL-Cloranfenicol (I: 13-17); QP-Quinupristina-dalfopristina (I: 15-16).

Tabela 10. Perfil de resistência (%) de cepas de *E. faecium* e *E. faecalis* isolados do sistema automatizado de criação de frangos de corte-estação do verão

Granja Automatizada – Estação do verão										
Fatores	Espécie	SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	QP
Cloaca	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	84,6	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	15,4	84,6	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	84,6	15,4	100	15,4	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100
Bebedouro	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	70	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	20	60	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	80	40	100	30	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	50	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	50	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	50	100	50	100	100	100	100
Cama	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	60	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	90	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	10	100	40	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	50	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	50	100	100	100	100
Cama limpa	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	80	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	50	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	50	100	20	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	50	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	50	100	0	100	100	100	100

Cont.

Par.	Espécie	SUF	TET	ERI	BAC	PN	TM	VAN	CL	QP
Ração	<i>E.faecium</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecium</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100
	<i>E.faecalis</i> (R)	0	0	0	0	100	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (I)	0	0	100	0	0	0	0	0	0
	<i>E.faecalis</i> (S)	100	100	0	100	0	100	100	100	100

SUF-Sulfonamidas (I: 13-16); TET-Tetraciclina (I: 15-18); ERI-Eritromicina (I: 14- 22); BAC-Bacitracina (I: 9-12); PN-Penicilina G (I: ?); TM-Trimetoprima (I: 11-15); VAN-Vancomicina (I: 15-16); CL-Cloranfenicol (I: 13-17); QP-Quinupristina-dalfopristina (I: 15-16).