

Universidade Federal de Minas Gerais
Conselho de Pós-Graduação
Escola de Veterinária



ISOLAMENTO DE *Campylobacter jejuni* EM LEITE CRU, ÁGUA DE
ESTABULO E FEZES DE CRIANÇAS PORTADORAS DE DIARRÉIA,
JUIZ DE FORA - MG, 1985

Márcia Cristina de Sena Oliveira

U.F.M.G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

Belo Horizonte
Minas Gerais
1988

506/53/0460

Márcia Cristina de Sena Oliveira

7.636.089
048i
4300

ISOLAMENTO DE *Campylobacter jejuni* EM LEITE CRU, ÁGUA DE
ESTABULO E FEZES DE CRIANÇAS PORTADORAS DE DIARRÉIA,
JUIZ DE FORA - MG, 1985

Tese apresentada à Escola de
Veterinária da Universidade Fe-
deral de Minas Gerais, como re-
quisito parcial para a obtenção
do Grau de Mestre em Medicina
Veterinária.

Área: Epidemiologia

Belo Horizonte
Minas Gerais
1988

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
20/03/90
50690-07

VD000002591

614.57

0481 Oliveira, Márcia Cristina de Sena, 1958-
Isolamento de *Campilobacter jejuni* em
leite cru, água de estábulo e fezes de
crianças portadoras de diarreia, Juiz de
Fora, MG, 1985/ Márcia Cristina de Sena
Oliveira. - Belo Horizonte: Escola de Ve-
terinária da UMFG, 1988.

41p. : il.

Tese (Mestrado)

1. *Campilobacter jejuni* - Identifica-
ção. 2. Água - Bacteriologia. 3. Leite -
Bacteriologia. 4. Fezes - Exames. I. Títu-
lo

Aprovada em 25/08/88

Edson Clemente dos Santos

PROF. EDSON CLEMENTE DOS SANTOS

- Orientador -

Teófilo José Pimentel da Silva

PROF. TEÓFILO JOSÉ PIMENTEL DA SILVA

Élvio Carlos Moreira

PROF. ÉLVIO CARLOS MOREIRA

Philadelpho Benedictus da Siqueira

PROF. PHILADELPHO BENEDICTUS DA SIQUEIRA

Ao Henrique, Bruno
e Guilherme, com
muito amor

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Edson Clemente dos Santos, pela orientação, amizade e apoio.

Aos Professores Francisco Cecílio Viana, Philadelpho Benedictus Siqueira, Teófilo José Pimentel da Silva e Elvio Carlos Moreira pelas sugestões.

Aos Professores do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva.

A Dra. Cláudia Lúcia Oliveira Pinto pela ajuda e amizade inestimáveis na cidade de Juiz de Fora.

Aos Funcionários do CEPE/ILCT-EPAMIG, especialmente ao Dr. Otacílio Lopes Vargas e Sônia Borges.

Aos colegas do curso de mestrado, em particular à Cláudia Inez Pereira Lima, pela grande amizade e alegre convivência.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Aos meus familiares, amigos e todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.



RESUMO

Com o objetivo de se verificar a prevalência da contaminação pelo *Campylobacter jejuni* foram analisadas 83 amostras de água de abastecimento e de bebedouro de animais, 169 amostras de água residual de latões e 192 amostras de leite cru, provenientes de propriedades rurais da bacia leiteira de Juiz de Fora - MG, no período de agosto a dezembro de 1985. Concomitantemente, foram analisadas amostras de fezes de 50 crianças com idades variando entre zero e 13 anos, portadores de diarreia, internadas na Santa Casa de Misericórdia de Juiz de Fora.

Nenhuma das 83 amostras de água de abastecimento e das 169 amostras de água residual de latões se apresentou positiva para o *Campylobacter jejuni*, enquanto que somente 2 entre 83 amostras de água de bebedouros de animais foram positivas para esse microrganismo, representando 2,40% do total. Entre as 192 amostras de leite cru analisadas apenas uma estava positiva (0,52% do total). A prevalência de *C. jejuni* nas fezes de crianças portadoras de diarreia foi de 4%.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. LITERATURA CONSULTADA.....	5
2.1. Aspectos clínicos e epidemiológicos da campilobacteriose humana	5
2.1.1. Reservatórios.....	5
2.1.1.1. Cães.....	6
2.1.1.2. Felinos.....	6
2.1.1.3. Aves.....	6
2.1.1.4. Bovinos.....	7
2.1.2. Sintomas.....	8
2.1.3. Achados de laboratório.....	8
2.1.4. Distribuição por faixa etária.....	9
2.2. <i>Campylobacter jejuni</i> como contaminante em água e leite cru.....	10
2.2.1. Fontes de contaminação para o leite cru.	10
2.2.2. Fontes de contaminação para a água.....	11
2.3. Dados epidemiológicos da campilobacteriose humana.....	11
2.3.1. Adquirida via leite cru.....	11
2.3.2. Adquirida via água.....	14

2.4. <i>Campylobacter jejuni</i> como agente das gastrentes infantis.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1. Propriedades rurais estudadas.....	17
3.2. Amostras utilizadas.....	17
3.2.1. Leite cru, água e água residual de lactões	17
3.2.2. Fezes.....	18
3.3. Exames microbiológicos.....	18
3.3.1. Leite cru, água e água residual de lactões	18
3.3.2. Fezes.....	19
3.4. Provas confirmativas.....	19
3.4.1. Teste de KOH a 3%.....	19
3.4.2. Prova da produção de catalase.....	20
3.4.3. Prova da produção da oxidase.....	20
3.4.4. Prova de motilidade.....	20
3.4.5. Prova da fermentação de açúcares e produção de H ₂ S em meio T.S.I.....	20
3.4.6. Prova para a detecção da produção de H ₂ S.....	21
3.4.7. Verificação do crescimento em meio thio-glicolato com 3,5% de NaCl.....	21
4. RESULTADOS.....	23
4.1. Análise das amostras de água.....	24
4.2. Análise das amostras de água residual de lactões.....	24
4.3. Análise das amostras de leite cru.....	24
4.4. Análise das amostras de fezes.....	25

5. DISCUSSÃO.....	26
5.1. Água de abastecimento das propriedades leiteiras.....	26
5.2. Água de bebedouros de animais.....	26
5.3. Leite cru.....	27
5.4. Água residual de latões.....	28
5.5. Fezes.....	28
6. CONCLUSÕES.....	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31



1. INTRODUÇÃO

McFADYEN & STOCKMAN (1913), na Inglaterra, isolaram microrganismos em forma de S ou vírgula, Gram negativos e móveis, de aborto bovino. Agente bacteriano similar foi isolado de feto abortado de bovinos por SMITH (1918), nos EUA. Estes microrganismos foram caracterizados por SMITH & TAYLOR (1919) que os denominaram *Vibrio foetus*, baseados em critérios puramente morfológicos.

LEVY (1946) foi o primeiro a descrever casos de infecção humana por vibrios microaerófilos, em duas instituições penais nos EUA. Os pacientes apresentaram sintomas de gastrenterite aguda.

Em 1957, KING nos EUA isolou vibrios microaerófilos de hemoculturas de pacientes infectados, distinguindo dois grupos desses microrganismos: um possuía todas as características já descritas para o *Vibrio foetus*, o segundo era similar à exceção da temperatura de crescimento mais elevada. A esse segundo grupo a autora denominou "related vibrios", verificando ainda que todos os microrganismos desse grupo foram isolados de pacientes portadores de gastrenterites.

SEBALD & VÉRON (1963), estudando os microrganismos do gênero *Vibrio*, verificaram diferenças na porcentagem de

lobacter, no qual o *V. foetus*, estaria incluído.

Em 1972, DEKEYSER et alii desenvolveram o método seletivo baseado na filtração para o isolamento dos "related vibrios" e verificaram que estes agentes eram causadores de gastroenterite, analisando fezes de pacientes doentes.

VÉRON & CHATELAIN (1973) propuseram a seguinte nomenclatura para o grupo *Campylobacter fetus*; *C. fetus* subesp. *fetus*; *C. fetus* subesp. *venerealis*; *C. jejuni*/*C. coli*. SMIBERT (1974) descreveu 3 subespécies distintas no grupo *C. fetus*: *C. fetus* subesp. *fetus*; *C. fetus* subesp. *intestinalis* *C. fetus* subesp. *jejuni*.

Em 1977, na Inglaterra, SKIRROW desenvolveu método seletivo usando agentes antibióticos para o isolamento desse microrganismo em fezes, permitindo o plaqueamento direto das amostras.

Para o isolamento em alimentos, vários autores aconselham um pré-enriquecimento da amostra antes do plaqueamento, devido ao baixo número de microrganismos presentes (STERN, 1982; YUSUFU et alii, 1983; STERN et alii, 1984; SMITHERMAN et alii, 1984; STERN et alii, 1985; CLARK & BUESCHKENS, 1988).

Os microrganismos do gênero *Campylobacter* são bastonetes Gram negativos, pequenos e finos (0,2-0,4 u de largura por 1,5 - 3,5 u de comprimento), que se caracterizam por apresentar a forma de S ou vírgula, podendo ocorrer formas cocóides em culturas velhas (SMIBERT, 1974). Podem apresentar dois tipos de colônias ao isolamento primário: pequenas com bordas irregulares, translúcidas, planas, de cor acinzentada e aspecto granular fino ou arredondadas com cerca de 1-2 mm de diâmetro, convexas, bordas bem delimitadas, lisas, brilhantes e centro amarronzado com fraca opacidade (DOYLE, 1981). Estes microrganismos não são hemolíticos em ágar-sangue.

KARMALI et alii (1981), estudando características morfológicas de *Campylobacter* catalase positivos, verificaram que o *C. fetus* subesp. *jejuni* pode ser distinguido dos demais por produzir células menores, tomar rapidamente a forma cocóide.

de quando submetido ao ar atmosférico e produzir colônias disseminadas por toda placa, quando sob umidade.

Estes microrganismos apresentam motilidade característica em "espiral", verificada em microscópio de contraste de fase (SMIBERT, 1974; DOYLE, 1981; OOSTEROM et alii, 1983; RAYES et alii, 1983; SMITHERMAN et alii, 1984). Apresentam, geralmente, um único flagelo polar, sendo que algumas células podem apresentar dois, um em cada extremidade (SMIBERT, 1978).

A atmosfera ideal para o seu crescimento é composta por 5% de oxigênio, 10% de gás carbônico e 85% de nitrogênio (BUCK & KELLY, 1981; DOYLE & ROMAN, 1981; BUCK et alii, 1982; HANNINEN, 1982; HÉBERT et alii, 1982; LUECHTEFELD et alii, 1982; STERN, 1982).

Os microrganismos denominados *C. fetus* subesp. *jejuni* são catalase e oxidase positivos, não produzem H_2S em meio TSI, não crescem em meio com 3,5% de NaCl e são sensíveis ao ácido nalidíxico (DOYLE, 1981; STERN, 1982).

A obtenção de energia nesses microrganismos é feita a partir de aminoácidos e substâncias intermediárias do ciclo do ácido tricarboxílico, já que são incapazes de fermentar ou oxidar açúcares, não possuem lipase, não hidrolisam gelatina, uréia, caseína, DNA, RNA ou esculina (SMIBERT, 1974; DOYLE, 1981).

Recentemente, KENDALL & TANNER (1982) encontraram 14,9% de prevalência de *C. jejuni* em 4.250 pacientes com diarreia aguda, na Inglaterra. Estudos epidemiológicos demonstraram que animais domésticos e algumas espécies de aves selvagens podem constituir importantes reservatórios do *C. jejuni* (DOYLE, 1981). Deste modo, produtos de origem animal e água podem estar frequentemente contaminados, produzindo surtos de gastroenterite por esse microrganismo (BLASER et alii, 1982; YUSUFU et alii, 1983; GILL & HARRIS, 1984). Também o leite cru está associado a um grande número de casos (BRYAN, 1983).

As doenças diarreicas são a maior causa de mortalidade infantil no Brasil, e como muitos desses casos são devido ao *C. jejuni* (RICCIARDI et alii, 1979; GUERRANT et alii, 1983;

GONZALES et alii, 1984; MENDES, 1985), a infecção via leite cru ou indevidamente pasteurizado pode ser importante, não devendo ser descartada.

Portanto, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de se avaliar a contaminação do leite bovino de algumas propriedades rurais na bacia leiteira de Juiz de Fora - MG pelo *C. jejuni*, bem como identificar suas prováveis vias de contaminação.

Concomitantemente, pretendeu-se nesta investigação epidemiológica estudar alguns casos de gastroenterite infantil em pacientes hospitalizados com diarreia na Santa Casa de Misericórdia de Juiz de Fora, com o fim de se estabelecer uma possível associação com o consumo do leite contaminado.

2. LITERATURA CONSULTADA

2.1. Aspectos clínicos e epidemiológicos da campilobacteriose humana

2.1.1. Reservatórios

Muitos reservatórios animais de *C. jejuni* com risco potencial para o homem têm sido identificados. O reservatório desse microrganismo na natureza é enorme, podendo ser encontrado como comensal ou patogênico em bovinos, ovinos, suínos, aves, cães, gatos e macacos (BLASER, 1980; FRANCO, 1988). As aves migratórias são comumente portadoras desse microrganismo nas fezes, podendo desempenhar papel importante na epidemiologia da campilobacteriose humana (DOYLE, 1981). KINJO et alii (1983), trabalhando com pombos selvagens no Japão, chegaram a conclusões semelhantes.

Não é conhecida a proporção de *C. jejuni* isolados de animais que podem ser potencialmente patogênicos para o homem, no entanto foi observado que muitos microrganismos isolados em pacientes humanos com diarreia eram indistinguíveis daqueles isolados em hospedeiros assintomáticos (BLASER et alii, 1983). ANNAH-PRAH & JANC (1988) verificaram que sorogrupos de *C. jejuni* que causaram diarreia em pacientes humanos foram também isolados em carne de frangos.



2.1.1.1. Cães

BLASER et alii (1980), trabalhando com cães nos EUA, encontraram alta prevalência de *C. jejuni* nas fezes dos filhotes (55,5%). FOX et alii (1983), nos EUA, examinaram as fezes de 78 cães sem sintomas de diarreia e 57 diarreicos, encontrando 2,6% e 14% de prevalência de *C. jejuni*, respectivamente.

2.1.1.2. Felinos

GIFFORD et alii (1985), nos EUA, estudaram a prevalência de *C. jejuni* em fezes de felinos e encontraram um animal positivo entre 15 felinos de zoológico estudados.

2.1.1.3. Aves

CHRISTOPHER et alii (1982), examinando fígados de frangos em matadouro sob inspeção federal no Texas, encontraram 85% das amostras contaminadas com *C. jejuni*. YUSUFU et alii (1983) estudaram a prevalência deste agente em duas indústrias de processamento de perus na Califórnia, e verificaram que os equipamentos podem contribuir significativamente para a contaminação das carcaças. Neste caso os autores afirmaram que a água clorada em níveis de 14-16 mg/l usada na lavagem final do produto podem livrá-lo da presença desses microrganismos. OOSTEROM et alii (1983) observaram a origem e a prevalência do *C. jejuni* no processamento de frango nos EUA, concluindo que a contaminação parece ser de origem intestinal. A prevalência no produto final foi de 50% das carcaças e 75% dos fígados. Resultados similares foram encontrados por WENPE et alii (1983) que estudaram a prevalência de *C. jejuni* em asas de frango a nível de supermercado, na Califórnia, por período de 2 meses, encontrando 64,1% de prevalência em 84 pacotes de asas frescas e 55,6% em 81 pacotes de asas congeladas.

SMITHERMAN et alii (1984) trabalhando em granjas também na Califórnia, verificaram que quando o galpão está positivo para esse microrganismo, todas as aves se tornam positivas em uma semana, evidenciando seu rápido poder de disseminação. O mesmo foi verificado por CLARK & BUECHKENS (1988). STERN et alii (1985) também encontraram alta prevalência de *C. jejuni* em frangos abatidos prontos para o consumo nos EUA. BEUCHAT (1987) encontrou quatro variedades de *C. jejuni* que sobreviveram em carne de frango estocada a -18°C por 12 meses. WILLARD et alii (1987) afirmaram que espécies aves, como frangos e perus apresentam alta taxa de isolamento do microrganismo, 91% e 100% respectivamente. HUMPHREY & LANNING (1987) verificaram a influência do PH e temperatura da água de lavagem de carcaças de frango em matadouros nos EUA e encontraram que $\text{PH} = 9,0 \pm 0,2$ e temperatura de $50^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ não influi na contaminação pelo *C. jejuni*. FRANCO (1988) concluiu que os frangos constituem a principal fonte de infecção de *C. jejuni* para o homem já que este alimento se apresenta positivo para esse microrganismo em 100% das amostra analisadas. DOGRA & AY-YAGARI (1988) encontraram 17,39% de prevalência de *C. jejuni* em patos domésticos analisando "swabs" cecais e cloacais de 23 animais.

O procedimento de abate industrial e congelamento não são capazes de destruir o *C. jejuni* em carne de frango, desse modo torna-se necessário a educação dos consumidores afim de ingerir esse alimento sempre bem cozido (ANNAN-PRAH & JANC, 1988). No período de 1977 a 1984 na Inglaterra a carne de frango mal cozida foi responsável por cerca de 80.000 casos de campilobacteriose humana (GILBERT & KINDELERER, 1988).

2.1.1.4. Bovinos

PRESCOTT & MUNROE (1982) afirmaram que o *C. jejuni* pode estar associado à diarreia de inverno em bovinos. BLASER et alii (1983) afirmaram que este microrganismo é comensal nos bovinos, sendo que a taxa de fezes positivas aumenta muito no

verão, declinando no inverno nos EUA. WARNER et alii (1986), também nos EUA, estudaram a prevalência do *C. jejuni* em fezes de bovinos leiteiros encontrando 15,5%, o que confirma a importância desses animais como reservatórios para a infecção humana. FRANCO (1988) afirmou que o padrão de distribuição de animais positivos para o *C. jejuni* em um rebanho bovino em ordem decrescente é 57% dos novilhos, 40% dos touros, 40% das novilhas e 22% das vacas.

2.1.2. Sintomas

SKIRROW (1977), na Inglaterra, baseando-se em evidências circunstanciais, estimou o período de incubação da campilobacteriose em 2 a 11 dias e verificou que em 57 pacientes portadores da doença, todos apresentavam severas dores abdominais enquanto os vômitos eram muito raros. BLASER et alii (1979a), observando 35 pacientes com grastenterite aguda pelo *C. jejuni* nos EUA encontraram como principais sintomas dores abdominais e síndrome febril. ANDERS et alii (1981), estudando casos de gastrenterite por esse microrganismo em crianças recém-nascidas observaram os mesmos sintomas em crianças e adultos, exceto que a maioria dos primeiros se apresentavam afebris. KENDALL & TANNER (1982), baseados em casos observados na Inglaterra, verificaram considerável variação no curso e na severidade da doença, sendo que nos casos mais graves ocorreram dores abdominais fortes e diarreia por períodos de até 14 dias. O mesmo foi verificado por ROBINSON (1983) nos EUA e COLES et alii (1985), na Inglaterra. FRANCO (1988) enumera como principais sintomas a diarreia, febre e dores abdominais.

ROBINSON & JONES (1981) afirmaram que a dose infectante para o homem é muito pequena, sendo que cerca de 500 microrganismos ingeridos em 180 ml de leite pasteurizado foram suficientes para desenvolver a doença em voluntário.

2.1.3. Achados de Laboratório

A Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1984) inclui o *C. jejuni* entre os microrganismos causadores de diarreia invasiva devido principalmente à presença de sangue e leucócitos polimorfonucleares nas fezes dos pacientes. Em estudos "in vitro" tem sido verificada a penetração e invasão do *C. jejuni* em células epiteliais de cultura de tecidos. Estudos têm demonstrado que o *Campylobacter* produz substâncias que são citotóxicas para as células em cultura de tecidos e causam acúmulo de flúidos, no entanto o papel destas toxinas necessita de investigação criteriosa. Sangue nas fezes tem sido um achado regular (KENDALL & TANNER, 1982; BLASER et alii, 1983; MENDES 1985). GONZALES et alii (1984), estudando casos de gastroenterite na cidade de São Paulo, concluíram que este microrganismo apresenta indistintamente atividades secretora e invasiva. McCARDELL et alii (1984) descreveram o isolamento e a caracterização parcial de uma toxina produzida pelo *C. jejuni*, imunologicamente similar à toxina colérica, que poderia ser responsável, pelo menos em parte, pela ação secretora verificada em diversos casos de diarreia devido a esse agente. MENDES et alii (1987), testaram 10 amostras de *C. jejuni* e apenas uma revelou-se capaz de produzir enterotoxina termolábil, através do teste de imunohemólise passiva e nenhuma mostrou-se capaz de produzir enterotoxina termoestável (teste de camundongo recém-nascido) ou de invadir a mucosa do olho de cobaio (teste de Séréný).

2.1.4. Distribuição por faixa etária

RICCIARDI et alii (1979), no Brasil, isolou *Campylobacter* em nove crianças portadores de gastroenterite, todas com menos de um ano de idade.

SVEDHEM & KAIJSER (1980), estudando casos de campylobacteriose na Suécia verificaram a doença em todas as faixas etárias com maior prevalência no grupo de 20-34 anos de idade. BLASER et alii (1986) afirmaram que nos países em desenvolvimento a grande maioria das infecções por *C. jejuni* ocorre nos

primeiros cinco anos de vida, especialmente nos dois primeiros anos, o que difere dos dados encontrados em países desenvolvidos onde as crianças não estão expostas a maior risco. GLASS et alii (1983), em Bangladesh, observaram que a taxa de isolamento de *C. jejuni* em crianças é mais alta, diminuindo com o aumento da idade dos pacientes, sendo comum esta distribuição por faixa etária em populações de baixa renda na África do Sul, Gâmbia, Zaire, Austrália, Indonésia e China, onde a diarreia é endêmica. MENDEZ (1985), em Belo Horizonte, MG, encontrou 11,2% de prevalência de *C. jejuni* entre crianças portadoras de diarreia aguda e 6,6% entre crianças sem sintomas de diarreia, sendo a faixa etária de 13 a 24 meses a mais afetada.

2.2. *Campylobacter jejuni* como contaminante em água e leite cru

2.2.1. Fontes de contaminação para o leite cru

A pesquisa de *C. jejuni*, em alimentos de origem animal e água tem sido feita tanto com o fim de identificar a fonte de infecção em diversos surtos, como para definir o risco potencial representado por esses produtos, quando consumidos pelo homem.

Vários autores têm assinalado que o *C. jejuni* pode estar presente nas fezes dos bovinos como comensal ou patógeno (PRESCOTT & MUNROE, 1982; BLASER et alii, 1983; WARNER et alii, 1986; FRANCO, 1988) e também causar a mamite (PRESCOTT & MUNROE, 1982; HUTCHINSON et alii, 1985). Estas são as duas vias de contaminação mais prováveis para o leite cru, embora a maioria dos autores confirme somente a primeira hipótese (BLASER et alii, 1979b; ROBINSON & JONES, 1981; DOYLE & ROMAN, 1982; WARNER et alii, 1986).

A contaminação indireta do leite via água de estábulo, foi sugerida por BRYAN (1983), embora sem que tenha obtido dados que pudessem comprovar a sua hipótese.

2.2.2. Fontes de contaminação para água

BOLTON et alii (1982) usaram com sucesso o método do número mais provável para provar a contaminação da água pelo *C. jejuni*. Estes encontraram amostras de águas naturais frequentemente contaminadas e enumeraram fontes possíveis para sua contaminação: fezes de animais, principalmente aves, e também fezes humanas. VOGT et alii (1982) nos EUA estudaram um surto de gastroenterite devido ao consumo de água contaminada pelo *C. jejuni*, onde não foi possível identificar a fonte de contaminação. O mesmo foi verificado por TAYLOR et alii (1983), também nos EUA, que estudaram um surto de campilobacteriose em frequentadores de um parque florestal que consumiram águas superficiais não tratadas. KINJO et alii (1983) estudaram a contaminação das fezes de pombos selvagens pelo *C. jejuni*, encontrando 27,6% de prevalência, o que contribui para a contaminação ambiental por esse microrganismo.

2.3. Dados epidemiológicos da campilobacteriose humana

2.3.1. Adquirida via leite cru

BLASER et alii (1976b) nos EUA descreveram um pequeno surto de campilobacteriose, onde três membros de uma família tiveram fezes positivas para o *C. jejuni* e altos títulos de anticorpos no soro contra esse microrganismo. Todos os pacientes haviam consumido leite cru proveniente de vacas cujas fezes também foram positivas para esse agente. ROBINSON et alii (1979) descreveram dois surtos de enterite ocorridos no norte da Inglaterra, onde grande parte dos pacientes eram portadores de *Campylobacter* termófilos em suas fezes. Todos os pacientes envolvidos consumiram leite cru proveniente de rebanho local, cuja análise microbiológica das fezes foram positivas para esse microrganismo. TAYLOR et alii (1979) nos EUA,

relataram casos associados ao consumo de leite cru, onde o microrganismo foi isolado de hemoculturas de três pacientes. PORTER & REID (1980), na Inglaterra, isolaram *C. jejuni* nas fezes de 148 pacientes com sintomas de diarreia e 57 sem sintomas, em um surto de enterite associado ao consumo de leite cru. O período de incubação variou entre 2 e 11 dias (média 5 dias), não houveram casos secundários e a taxa de ataque foi cerca de 50%, sendo que na maioria dos pacientes os sintomas desapareceram em uma semana. Os autores verificaram ser de origem fecal a contaminação do leite, já que "swabs" retais das vacas se apresentaram positivos. ROBINSON & JONES (1981) descreveram 13 surtos de infecção pelo *C. jejuni* associados ao consumo de leite cru que envolveram cerca de 4.500 pessoas no período de 1978-80, na Inglaterra. Esses autores verificaram picos da doença durante o verão e que as variedades de *C. jejuni* isoladas tinham as características daquelas isoladas em aves e bovinos. JONES et alii (1981) descreveram um grande surto de enterite devido ao *C. jejuni* associado ao consumo de leite cru em uma escola da Inglaterra que durou cerca de 3 semanas e afetou 1.500 crianças. Esse microrganismo não foi isolado em 10 amostras tomadas do filtro de leite, 30 amostras individuais de vacas e 57 de latões. CHRISTOPHER et alii (1982) nos EUA, também não conseguiram isolar o *C. jejuni* em 100 amostras de leite cru tipo A proveniente de tanques e 100 amostras individuais de vacas leiteiras. DOYLE & ROMAN (1982) isolaram o *C. jejuni* em uma amostra de leite cru tipo A (0,9%) de 108 amostras tomadas de tanques de estocagem, sendo que das vacas leiteiras foi isolado de 50 (64%) entre 78 "swabs" retais. SKIRROW (1982) afirmou que a enterite pelo *C. jejuni* foi a diarreia bacteriana aguda mais frequentemente reportada na Inglaterra em 1981, e sua principal via de transmissão foi o leite cru ou indevidamente pasteurizado, afetando 3.500 pessoas. Descreveu ainda, um pequeno surto dessa doença devido à ingestão de leite cru, proveniente de vacas infectadas, onde esse agente foi isolado das fezes de três pacientes

e de "swabs" retais das vacas leiteiras. WATERMAN (1982) estudou a termosensibilidade do *C. jejuni* no leite, verificando que este microrganismo não sobrevive à pasteurização; observou ainda que a duração e o padrão dos surtos sugerem uma alta, porém breve contaminação do leite, o que pode explicar a constante falha no seu isolamento no leite cru. BLASER et alii (1983) reportaram que nos EUA ocorreram nove surtos de campilobacteriose devido ao consumo de leite cru, de 1977-82, envolvendo cerca de 500 pessoas e que, raramente, foi possível o isolamento do *C. jejuni* das amostras de leite apesar desse microrganismo permanecer viável por três semanas a 4°C em inoculação experimental. BRYAN (1983) observou que o número de surtos de diarreia devido ao *C. jejuni* se deve à variedade de vertebrados de sangue quente infectados com esse microrganismo e assinalou que o rápido congelamento do leite pode prevenir o crescimento desse agente, assim como o cozimento e a pasteurização dos alimentos de origem animal. POTTER et alii (1983) nos EUA descreveram um surto de campilobacteriose associado ao consumo de leite cru onde 50 indivíduos foram afetados. As vacas leiteiras do estábulo suspeito apresentaram fezes positivas para o *C. jejuni*, porém não foi conseguido o isolamento desse agente nas amostras de leite cru analisadas. WRIGHT et alii (1983), na Inglaterra, reportaram dois surtos de diarreia devido ao *C. jejuni* em área rural, envolvendo 72 pessoas em um período de dois meses, onde esse microrganismo foi isolado das fezes de 12 pacientes e estudo epidemiológico mostrou associação com o consumo de leite cru proveniente de um estábulo em particular. Esse agente não foi isolado em amostras individuais de vacas ou de filtro de leite. Não foram identificados mais casos após a pasteurização do leite. HUTCHINSON et alii (1985), na Inglaterra, descreveram um surto de diarreia associados ao consumo de leite cru, aparentemente contaminado por duas vacas portadoras de mamite pelo *C. jejuni*. Amostras de leite de 40 vacas foram positivas para esse microrganismo e duas delas apresentaram altos títulos de anticorpos no soro, detectados pela técnica de ELISA. Esse agente foi isolado tam-

bém em amostras de fezes das vacas do rebanho. WARNER et alii (1986) estudaram o papel do leite cru como veículo da infecção humana pelo *C. jejuni*, verificando dados epidemiológicos de 168 casos ocorridos nos EUA. Os autores concluíram que essa via de infecção foi responsável por cerca de 23% dos casos de campilobacteriose, e que o agente dificilmente foi isolado nas amostras de leite, devido à diluição e competição com a flora normal desse alimento.

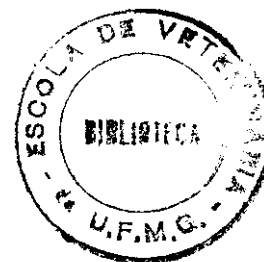
2.3.2. Adquirida via água

BLASER et alii (1982) estudaram surtos de campilobacteriose ocorridos nos EUA de 1978-80 e verificaram que ocorreram três surtos devido ao consumo de água contaminada. VOGT et alii (1982) descreveram um surto de enterite devido ao *C. jejuni* nos EUA, onde cerca de 3.000 pessoas foram afetadas pela doença. A investigação epidemiológica apontou todo o sistema de distribuição de água da cidade como fonte de infecção e o agente foi isolado em 15 dos 42 "swabs" retais de pacientes com sintomas de diarreia, sendo que não foi detectado em swabs de pacientes assintomáticos. SKIRROW (1982) afirmou que águas naturais não cloradas são fontes potenciais de infecção, tanto para o homem como para os animais. TAYLOR et alii (1983) estudaram as fezes de pacientes com diarreia que frequentaram uma reserva florestal nos EUA de 1980-81 e encontraram 23% de prevalência de *C. jejuni*; esse microrganismo ocorreu com mais frequência em adultos jovens e houve uma significativa associação com o consumo de águas superficiais não tratadas. O *C. jejuni* foi ainda isolado em 14 (2%) de 586 amostras de água e de 3 (3%) de 87 amostras de fezes de animais que habitavam a área.

2.4. *Campylobacter jejuni* como agente das gastroenterites infantis

BUTZLER et alii (1973) analisaram fezes de 800 crianças portadoras de diarreia na Bélgica e encontraram 5,1% de prevalência de *C. jejuni*. PAI et alii (1979), no Canadá, encontraram 4,3% de prevalência de *C. jejuni* entre crianças portadoras de diarreia, sendo que entre as assintomáticas nenhuma se apresentou positiva. RICCIARDI et alii (1979), no Brasil, estudaram 62 casos de crianças portadoras de diarreia crônica e 124 de diarreia aguda encontrando 9,7% e 2,4% de prevalência respectivamente. Verificaram que todos os pacientes positivos tinham menos de um ano de idade. ANDERS et alii (1981) nos EUA, descreveram oito casos de gastroenterite devido ao *C. jejuni* em crianças recém-nascidas, onde a transmissão ocorreu provavelmente na hora do parto, já que cinco mães eram portadoras do microrganismo nas fezes ou no canal vaginal. GLASS et alii (1983) fizeram um estudo dos aspectos clínicos e epidemiológicos da infecção pelo *C. jejuni* em Bangladesh. Verificaram alta prevalência desse microrganismo tanto nos pacientes com sintomas de diarreia como nos assintomáticos. Verificaram ainda que enquanto nos países desenvolvidos os pacientes têm disenteria, em Bangladesh o que mais ocorreu foi diarreia aquosa. GUERRANT et alii (1983) em um estudo prospectivo de 30 meses sobre doenças diarreicas no nordeste do Brasil encontraram 7,5% de prevalência de *C. jejuni* entre pacientes de 0-5 anos de idade, portadores de diarreia, observando ainda que os fatores de risco além da faixa etária estavam representados principalmente pela desnutrição e falta de estrutura sanitária básica. GURWITH et alii (1983) em um estudo longitudinal em crianças de comunidades do Canadá verificaram que *C. jejuni* foi isolado em cerca de 5-10% dos casos de diarreia. GONZALES et alii (1984), em São Paulo, estudaram a frequência de isolamento de *C. jejuni* nas fezes de crianças com idade entre 13 dias e 12 anos, sendo crianças normais e com diarreia crônica e aguda, encontrando 5,3%, 9,3% e 6,1% respectivamente. COLES et alii (1985), fizeram um estudo de 30 meses em uma comunidade, na Inglaterra, e verificaram que apesar da população ter idade predominante entre 20 - 39 anos, as

crianças de 0-4 anos de idade tiveram a prevalência até 3 vezes maior que a esperada para a população total. MENDES et alii (1987) em um estudo de dois anos e meio na cidade de Belo Horizonte, trabalharam com 98 crianças com até 2 anos de idade provenientes de famílias de baixa renda e portadoras de diarreia aguda encontrando 11,2% de prevalência de *C. jejuni*.



3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Propriedades rurais estudadas

Foram feitas 83 visitas a 62 propriedades rurais de acordo com a conveniência do serviço de assistência técnica aos 420 produtores do CEPE/ILCT-EPAMIG (Centro de pesquisa e Ensino/Instituto de Laticínios Cândido Tostes - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG), abrangendo todas as linhas de leite, na bacia leiteira de Juiz de Fora - MG, no período de agosto a dezembro de 1985. Para cada propriedade leiteira, foram colhidas amostras de água residual de latões e amostras de leite cru no mesmo dia. As amostras de leite cru foram colhidas a nível de plataforma de recepção, assim como a água residual de latões. Foram anotados ainda dados relativos à higiene e produção de leite nos estábulos estudados. Alguns dados de interesse foram anotados em questionários.

3.2. Amostras utilizadas

3.2.1. Leite cru, água e água residual de latões

As amostras de leite cru foram colhidas diretamente dos latões em frascos de vidro estéreis, com volume de 99-100 ml. As amostras de água residual foram obtidas por lavagem dos latões com solução salina fisiológica estéril em volume de

99-100 ml. As amostras de água de abastecimento e de bebedouro dos animais foram obtidas nas propriedades rurais, nos reservatórios originais, no mesmo volume das demais amostras. Todo o material foi levado após a colheita, diretamente ao laboratório de análises microbiológicas do CEPE/ILCT-EPAMIG, à temperatura ambiente, decorrido o prazo máximo de 4 horas.

3.2.2. Fezes

Foram colhidas amostras de fezes de 50 crianças com idades entre zero e 13 anos, internados no Departamento de Pediatria da Santa Casa de Misericórdia de Juiz de Fora, todas portadoras de diarreia, no período de agosto a dezembro de 1985. Essas amostras foram colhidas através de "swabs" retais e as análises microbiológicas foram feitas decorrido o prazo máximo de quatro horas. Todas as amostras apresentaram como característica principal cor amarelada ou esverdeada e consistência líquida. Outras informações não puderam ser avaliadas por falta de acesso direto aos pacientes estudados.

3.3. Exames microbiológicos

3.3.1. Leite cru, água e água residual de latões

No laboratório, cada amostra foi homogeneizada no próprio frasco da colheita e 1 ml foi semeado em 10 ml de meio semi-sólido seletivo esterelizado em tubo de ensaio, conforme BLASER et alii (1979a). As amostras foram devidamente etiquetadas e incubadas a 42-43°C por 24 horas em estufa com atmosfera de 10% de gás carbônico, 5% de oxigênio e 85% de nitrogênio, aproximadamente. Após este período as amostras foram semeadas em ágar-sangue seletivo, conforme preconizaram PATTON et alii (1981), distribuído em placas de Petri. A semeadura foi feita com auxílio da alça de platina, em capela de fluxo laminar, e as amostras foram devidamente identificadas e incubadas nas mesmas condições de temperatura e atmosfera já descritas para o

pré-enriquecimento por período de 72 horas, com leituras intermediárias em 24 e 48 horas.

3.3.2. Fezes

As amostras de fezes foram semeadas diretamente em ágar-sangue seletivo, com o próprio "swab" em capela de fluxo laminar, e após a identificação, incubadas nas condições já descritas por período de 72 horas, com leituras intermediárias de 24 e 48 horas.

3.4. Provas confirmativas

Após o período de 72 horas, com todas as placas que apresentaram crescimento característico das colônias, ou seja, pequenas com bordas irregulares, translúcidas, planas, de cor acinzentada e aspecto granular fino ou arredondadas com 1-2 mm de diâmetro, convexas, bordas bem delimitadas, lisas, brilhantes e centro amarronzado com fraca opacidade, foram submetidas a uma série de análises confirmativas, de acordo com as recomendações do laboratório de diagnóstico preventivo do CE-PE/ILCT-EPAMIG.

3.4.1. Teste de KOH a 3%

Este teste foi feito com a finalidade de identificar colônias Gram positivas e Gram negativas, de acordo com técnica descrita por FLUHARTY & PACKARD (1967). As Colônias foram transferidas para lâminas de vidro com o auxílio da alça de platina e cobertas com 11 gotas do reagente. Aquelas colônias que apresentaram a formação de gel após a mistura foram separadas (Gram negativas) para análises subsequentes, enquanto as que não formaram gel foram eliminadas (Gram positivas).

3.4.2. Prova da produção de catalase

Esta prova foi realizada de acordo com as recomendações de McFADDIN (1977). Pequena porção da colônia foi transferida para lâmina de vidro onde se adicionou 1-11 gotas de solução de peróxido de hidrogênio a 3%, verificando-se a formação de efervescência característica dos microrganismos produtores de catalase. Colônias catalase negativa não apresentaram efervescência e foram eliminadas.

3.4.3. Prova da produção de oxidase

Foi utilizada técnica em papel de filtro, sugestão de McFADDIN (1977). Pequena porção da colônia foi transferida para o papel de filtro no qual se adicionou uma gota do reagente de Kovacs, verificando-se a rápida formação da cor púrpura, característica dos microrganismos oxidase positivos. as colônias que apresentaram ausência de coloração foram descartadas, por serem oxidase negativas. O reagente de Kovacs passava por teste de controle de qualidade com culturas sabidamente positivas e negativas.

3.4.4. Prova de motilidade

Esta prova foi feita em microscópio de contraste de fase, utilizando-se a técnica da gota suspensa, para verificação da motilidade característica em "espiral" observada no *C. jejuni*, conforme o descrito por DOYLE (1981).

3.4.5. Prova da fermentação de açúcares e produção de H₂S em meio T.S.I.*

Colônias suspeitas foram semeadas em 5ml de meio TSI (Triple Sugar Iron Agar) esterilizado em tubo de ensaio, usando-se a técnica descrita por McFADDIN (1977). Foram incubadas por 18-24 horas em estufa a 42-43°C e atmosfera com 10% de gás carbônico,

*Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA.

5% de oxigênio e 85% de nitrogênio, aproximadamente. O *C. jejuni* caracteriza-se por não agir sobre os açúcares e não produzir H_2S nesse meio de cultura, não produzindo portanto, qualquer alteração.

3.4.6. Prova para a detecção da produção de H_2S

Para esta prova, procedeu-se conforme o recomendado por STERN (1982). Pequena porção da colônia suspeita foi semeada com o auxílio da alça de platina em ágar Brucella (OXOID), com 0,02% de cloridrato de cisteína em tubo de ensaio com tira de papel de filtro embebida em solução saturada de acetato de chumbo. O período de incubação foi de 24 horas nas mesmas condições já descritas. Após esse período verificou-se a formação de cor negra no papel de filtro, característica dos microrganismos que produzem H_2S por ação enzimática, como o *C. jejuni*.

3.4.7. Verificação do crescimento em meio thioglicolato com 3,5% de NaCl

Parte da colônia suspeita foi transferida para o tubo de ensaio contendo 5 ml de meio thioglicolato com 3,5% de NaCl com o auxílio da alça de platina e incubada por 24 horas, nas condições descritas. A leitura foi baseada na ausência de crescimento do *C. jejuni* nesta concentração de sal, traduzido pela ausência de turvação, conforme recomendação de DOYLE (1981).

3.4.8. Teste de sensibilidade ao ácido nalidíxico

Parte das colônias suspeitas foram cultivadas em 5 ml de meio thioglicolato em tubos de ensaio por 24 horas em estufa, nas condições já descritas. A partir dessas culturas, procedeu-se o antibiograma, em placas de ágar Müller-Hinton (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA), usando-se discos de 20 mg de ácido nalidíxico, conforme técnica descrita por

BAUER et alii (1966). A leitura foi feita com 24 horas de incubação nas condições ótimas de crescimento do *C. jejuni*.

Todos os resultados foram registrados em formulários individuais por amostra, em termos de presença/ausência de *C. jejuni*.

As amostras de cultura pura (padrão) para fins de comparação foram cedidas pelo Instituto Adolfo Lutz - SP, onde foram isoladas de fezes de paciente portador de gastroenterite.



4.RESULTADOS

Nas propriedades rurais estudadas, as fontes de água foram principalmente mina (67,74%), seguida de ribeirão (20,97%), açude (6,45%) e cisterna (4,84%), conforme mostra a tabela I. Os reservatórios de água de abastecimento eram abertos em 69,33% das propriedades (43), enquanto o restante era fechado. Em nenhuma propriedade a água recebia qualquer tipo de tratamento. Apenas quatro estabelecimentos tinham ordenhadeira mecânica (6,45%), produzindo leite tipo "B", 15 faziam rotineiramente a higienização do úbere antes da ordenha (24,19%) e 13 refriavam o leite após a ordenha (20,96%). A produção média por vaca nas propriedades rurais estudadas foi de 5,5 l/dia.

TABELA I - Fontes de água em 62 propriedades rurais da bacia leiteira de Juiz de Fora - MG, 1985

Tipo	Nº	%
Mina	42	67,74
Ribeirão	13	20,97
Açude	04	6,45
Cisterna	03	4,84
TOTAL	62	

4.1. Análise das amostras de água

Entre 83 amostras tomadas de água de bebedouro de animais 2 (2,40%) foram positivas para o *C. jejuni*. De 83 amostras de água de abastecimento dos locais de ordenha nas propriedades rurais, nenhuma se apresentou positiva, conforme mostra a tabela II.

TABELA II - Isolamento *C. jejuni* em amostras de água de propriedades rurais da bacia leiteira de Juiz de Fora - MG, 1985

Tipo de amostra	Negativo	Positivo	%	Total
Água de bebedouro de animais	81	02	2,4	83
Água de abastecimento	83	00	-	83

4.2. Análise das amostras de água residual de latões

Não foi isolado o *C. jejuni* em nenhuma das 169 amostras de água residual de latões pesquisados, conforme mostra a tabela III.

TABELA III - Isolamento de *C. jejuni* em amostras colhidas a nível de plataforma de recepção de leite do CE-PE/ILCT- EPAMIG em Juiz de Fora- MG, agosto a dezembro de 1985

Tipo de amostras	Negativo	Positivo	%	Total
Leite cru	191	01	0,52	192
Água residual de latão	169	-	-	169

4.3. Análise das amostras de leite cru

Somente uma amostra de leite cru se apresentou positiva para o *C. jejuni*, conforme descrito na tabela III re-

presentando 0,52% do total analisado. Esta amostra foi proveniente de uma das propriedades rurais onde o estudo da água de bebedouro de animais também estava positiva. Nesta propriedade as condições de higiene eram bastante precárias e os cuidados de higiene e limpeza do úbere antes da ordenha não eram observados.

4.4 Análise das amostras de fezes

Fezes de 50 pacientes portadores de diarreia foram analisadas para a presença de *C. jejuni*, sendo que duas se apresentaram positivas (4%), conforme mostra a tabela IV. Os dois pacientes positivos estavam entre os 43 de idades inferiores a 01 ano, que representavam 86% do total das amostras analisadas.

TABELA IV- Isolamento de *C. jejuni* em pacientes portadores de diarreia com idade de até 13 anos internados no Departamento de Pediatria da Santa Casa de Misericórdia de Juiz de Fora, MG, agosto a dezembro de 1985

Idade (anos)	<u>Pesquisa de <i>C. jejuni</i></u>		Total
	Positiva	Negativa	
Até 01	02	41	43
>01-13	-	07	07
TOTAL	02	48	50



5. DISCUSSÃO

5.1. Água de abastecimento das propriedades leiteiras

De 83 amostras tomadas de água de abastecimento das propriedades leiteiras, nenhuma se apresentou positiva para o *C. jejuni*, no entanto, vários autores têm assinalado a presença desse microrganismo em águas não tratadas: BOLTON et alii, 1982; VOGT et alii, 1982; TAYLOR et alii, 1983; KINJO et alii, 1983. A causa do resultado negativo pode ser atribuída à natureza das fontes de água (na maioria das vezes subterrânea). BRYAN (1983) sugeriu a contaminação do leite por esse agente via água de abastecimento, hipótese que não pode ser confirmada no presente trabalho.

5.2. Água de bebedouros de animais

As amostras tomadas de água de bebedouros de animais se apresentaram positivas em 2,40% do total analisado, o que era esperado devido ao estreito contacto com as fezes dos bovinos frequentemente contaminados pelo *C. jejuni* (PRESCOTT & MUNROE, 1982; BLASER et alii, 1983; WARNER et alii, 1986; FRANCO, 1988). Essas amostras positivas foram originárias de duas propriedades onde as condições higiênicas eram bastante

precárias. No presente estudo houve concordância entre a água de bebedouro dos animais e leite cru positivos em uma mesma propriedade. Como as condições higiênicas da ordenha atuam de forma decisiva na carga bacteriana do leite cru (WARNER et alii, 1986), parece mais provável a contaminação direta com fezes, embora a água de bebedouro possa atuar casualmente como via indireta.

5.3. Leite cru

No presente trabalho apenas uma amostra de leite cru mostrou-se positiva para o *C. jejuni*, representando 0,52% do total analisado. Esta amostra originou-se da propriedade cuja água de bebedouro foi também positiva, e as condições de higiene do rebanho leiteiro e de ordenha eram bastante precárias.

Embora o leite cru seja considerado um dos principais veículos da campilobacteriose humana (PORTER & REID, 1980; ROBINSON & JONES, 1981; WARNES et alii, 1986; FRANCO, 1988), o isolamento desse patógeno nesse alimento é difícil. Esta observação foi comprovada no presente trabalho estando de acordo com achados de vários autores (TAYLOR & REID, 1980; ROBINSON & JONES, 1981; WATERMAN, 1982; CHRISTOPHER et alii, 1982; DOYLE & ROMAN, 1982; WRIGHT et alii, 1983).

Outros fatores que podem ter contribuído para a baixa frequência de isolamento de *C. jejuni* são a alta diluição do leite de mistura, baixo número de amostras analisadas e periodicidade da contaminação do leite cru.

A contaminação do leite devido a mamite pelo *C. jejuni* não tem sido verificada rotineiramente. HUTCHINSON et alii (1985) descreveram um surto de campilobacteriose, na Inglaterra, onde o agente foi isolado em amostras de leite colhidas assepticamente de vacas leiteiras com altos títulos de anticorpos no soro.

A contaminação do leite parece ser no entanto, na maioria das vezes, de origem fecal e esporádica, já que os bo-

vinos são portadores frequentes de *C. jejuni* nas fezes (SMIBERT, 1974). A análise de fezes de vacas leiteiras não foi objeto desta pesquisa, porém foi conduzida em outros trabalhos com resultados positivos para esse microrganismo (BLASER et alii, 1979; ROBINSON et alii, 1979; POTTER et alii, 1983). No presente trabalho a hipótese da contaminação do leite pode ser facilmente aceita, devido a associação leite contaminado/baixo padrão de higiene no estábulo.

5.4. Água residual de latões

No presente trabalho não foi isolado o *C. jejuni* em nenhuma das 169 amostras de água residual de latões de leite. Este fato deve ter ocorrido pelos mesmos motivos observados para o não isolamento do leite cru, acrescido do fato que a água residual dos latões em análise apresentaram um alto teor de cloro e detergente usados na sua sanitização.

5.5. Fezes

As doenças diarreicas têm sido uma das principais causas de mortalidade infantil na América Latina e no Brasil (GUERRANT et alii, 1983). Na cidade de Juiz de Fora, as doenças diarreicas assumem grande importância como causas de morbidade e mortalidade infantil, principalmente no verão.

A prevalência de *C. jejuni* entre os 50 pacientes com sintomas de gastroenterite, estudados no presente trabalho foi de 4,0% e não diferiu muito dos achados de BUTZLER et alii (1973), na Bélgica, que encontrou 4,3%. Nestes países, no entanto, a ocorrência desse agente não é um achado comum entre as crianças sadias.

Deve-se destacar nesta investigação que todos os pacientes estudados foram originários de famílias de baixa renda. RICCIARDI et alii (1979) no Rio de Janeiro encontraram 4,8% de prevalência de *C. jejuni* entre os pacientes estudados, todos com menos de um ano de vida, o que se aproxima mui-

to dos nossos achados na cidade de Juiz de Fora.

GLASS et alii (1983) e GONZALES et alii (1984), estudando alguns aspectos das doenças diarréicas em Bangladesh e no Brasil, respectivamente, verificaram alto índice de portadores sadios de *C. jejuni*. MENDES et alii (1987) em Belo Horizonte também encontraram altos índices de portadores sadios entre crianças de provenientes de famílias de baixa renda. No presente trabalho não foram estudados pacientes sadios.

O papel dos animais domésticos na transmissão do *C. jejuni*, permanece pouco clara. Muitos fatores tais como a desnutrição, falta de estrutura sanitária básica e infecções concomitantes dificultam a avaliação dos problemas gerados por esse microrganismo como agente das gastroenterites e o papel representado pelos animais domésticos como reservatórios (GUERRANT et alii, 1983). Não foi possível estabelecer qualquer associação entre pacientes portadores de diarréia pelo *C. jejuni* e o consumo de leite.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos pelo presente trabalho não nos permite estabelecer uma associação conclusiva entre o leite bovino e a transmissão do *C. jejuni* ao homem, porém, podemos enumerar as afirmativas a seguir:

1. A contaminação do leite cru pelo *Campilobacter jejuni* a nível de fonte produtora foi esporádica, tendo sido registrada a prevalência de 0,52%;

2. a água de bebedouro de animais pode ser uma fonte indireta de contaminação do leite cru pelo *C. jejuni*, tendo sido registrada a prevalência de 2,40%;

3. a água residual de latões não constituiu meio propício ao desenvolvimento do *C. jejuni*, não concorrendo para a contaminação do leite cru;

4. a água de abastecimento das propriedades rurais da bacia leiteira de Juiz de Fora não se apresentou contaminada pelo *C. jejuni*, mesmo sem qualquer tipo de tratamento, não concorrendo para a contaminação do leite cru;

5. o leite cru não foi confirmado, neste trabalho, como sendo fator de risco para a diarreia pelo *C. jejuni* em crianças, na região de Juiz de Fora, no período estudado.



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERS, B.J.; LAUER, B.A.; PAISLEY, J.W.: **Campylobacter** gastroenteritis in neonates. *Am. J. Dis. Child.*, Chicago, 135:900-2, 1981.
2. ANNAH-PRAH, A & JANC, M. Chicken-to-human infection with **Campylobacter jejuni** and **Campylobacter coli**: serotype correlation. *J. Food Prot.*, Ames, 51(7):567-4, 1988.
3. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standartized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, Philadelphia, 45(4): 493-6, 1966.
4. BEUCHAT, L.R. Efficacy of some methods and media for detecting and enumerating **Campylobacter jejuni** in frozen chicken meat. *J. Appl. Bacteriol.*, Georgia, 62(3):217-21, 1987.
5. BLASER, M.J. **Campylobacter fetus** subesp. **jejuni**: the need for surveillance. *J. Infect. Dis.*, Chicago, 141(5):670-1, 1980.

6. BLASER, M.J.; BEROWITZ, I.D.; LAFORCE, M.F.; CRAVENS, J.; RELLER, B.; WANG, W.L.; **Campylobacter** enteritis: clinical and epidemiologic features. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, **91**: 179-85, 1979a.
7. BLASER, M.J.; CRAVENS, J.; POWERS, B.W.; LAFORCE, M.F.; WANG, W.L.L. **Campylobacter** enteritis associated with unpasteurized milk. *Am. J. Med.*, New York, **67**:715-8, 1979b.
8. BLASER, M.J.; LAFORCE, M.F.; WILSON, N.A.; WANG, W.L.L. Reservoirs for human campylobacteriosis. *J. Infect. Dis.*, Chicago, **141**(5):665-9, 1980.
9. BLASER, M.J.; PENNER, J.L.; WELLS, J.G. Diversity of serotypes in outbreaks of enteritis due to **Campylobacter jejuni**. *J. Infect. Dis.*, Chicago, **146**(6):826, 1982.
10. BLASER, M.J.; TAYLOR, D.N.; FELDMAN, R.A. Epidemiology of **Campylobacter jejuni** infections. *Epidemiol. Rev.*, Baltimore, **5**:157-75, 1983.
11. BOLTON, F.J.; HINCHLIFFE, P.M.; COATES, D.; ROBERTSON, L. A most probable number method for estimating small numbers of **Campylobacter** in water. *J. Hyg.*, London, **89**: 185-90, 1982.
12. BRYAN, F.L. Epidemiology of milk-borne diseases. *J. Food Prot.*, Ames, **46**(7):637-49, 1983.
13. BUCK, G.E. & KELLY, M.T. Effect of moisture content of the medium on colony morphology of **Campylobacter fetus** subsp. **jejuni**. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, **14**(5):586-96, 1981.

14. BUCK, G.E.; FOJTASEK, C.; CALVERT, K.; KELLY, M.T.
Evaluation of Campy Pak II gas generator system for isolation of *Campylobacter fetus* subesp. *jejuni*. J. Clin. Microbiol., Washington, 15(1):41-2, 1982.
15. BUTZLER, J.P.; DEKEYSER, P.; DETRAIN, M.; DEHAEN, F.
Related vibrio in stools. J. Pediatr., St. Louis, 85:493-5, 1973.
16. CHRISTOPHER, F.M.; SMITH, G.C.; VANDERZANT, C.
Examination of poultry giblets raw milk and meat for *Campylobacter fetus* subesp. *jejuni*. J. Food. Prot., Ames, 45(3):260-2, 1982.
17. CLARK, G.A. & BUESCHKENS, D.H. Horizontal spread of human and poultry-derived strains of *Campylobacter jejuni* among broiler chicks held in incubators and shipping boxes. J. Food Prot., Ames, 51(6):438-41, 1988.
18. COLES, B.M.; TANNER, K.; McMYNE, P.; MATHESON, T.; BLACK, W. A. *Campylobacter* enteritis in British Columbia - A 30 month study. Can J. Public Health, Ottawa, 76(5):343-6, 1985.
19. DEKEYSER, P.; GOSSUIN-DETRAIN, M.; BUTZLER, J.P. Acute enteritis due to related vibrio: first positive stool. J. Infect. Dis., Chicago, 125(4):390-2, 1972.
20. DOGRA, M.S.C. & AYYAGARI, A. Isolation of *Campylobacter jejuni* from quails: an initial report. Br. Vet. J., London, 144(4)411-2, 1988.
21. DOYLE, M.P. *Campylobacter fetus* subesp. *jejuni*: an old pathogen of new concern. J. Food Prot., Ames, 44(6):480-8, 1981.

22. DOYLE, M.P. & ROMAN, D.J. Growth and survival of *Campylobacter jejuni* in unpasteurized milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, Washington, **44**(5):1154-8, 1982.
24. FLUHARTY, D.M. & PACKARD, W.L. Differentiation of Gram-positive and Gram-negative bacteria without staining. *Am. J. Vet. Clin. Pathol.*, Washington, **1**:31-5, 1967.
25. FOX, J.G.; MOORE, R.; ACKERMAN, J.I. *Campylobacter jejuni* associated diarrhea in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, **183**(12):1430-3, 1983.
26. FRANCO, D.A. *Campylobacter* species: Considerations for controlling a food-borne pathogen. *J. Food Prot.*, Ames, **51**(2):145-53, 1988.
27. GIFFORD, D.H.; SHANE, S.M.; SMITH, R.E. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in felidae in Baton Rouge, Louisiana. *Int. J. Zoonoses*, Taipei, **12**:67-73, 1985.
28. GILBERT, R.J. & KINDERLERER, J. Food-borne infections and intoxications - recent problems and new organisms. *Br. Food J.*, Bradford, **90**(2):71-3, 1988.
29. GILL, C.O. & HARRIS, L.M. Hamburger and broiler chickens as potential sources of human *Campylobacter* enteritis. *J. Food Prot.*, Ames, **47**(2):96-9, 1984.
30. GLASS, R.I.; STOLL, B.J.; HUQ, M.I.; STRUELENS, M.J.; BLASER, M.; KIBRIYA, A.K.M.G. Epidemiologic and clinical features of endemic *Campylobacter jejuni* infection in Bangladesh. *J. Infect. Dis.*, Chicago, **148**(2):292-6, 1983.
31. GONZALES, Z.; FAGUNDES NETO, V.; FERNANDEZ, J.H.; WEHBA, J.; TRABULSI, L.R. Isolamento de *Campylobacter fetus*

ssp *jejuni* em crianças normais e com diarreia. *J. Pediatr.*, São Paulo, 57(2):127-9, 1984.

32. GUERRANT, R.L.; KIRCHHOFF, L.V.; SHIELDS, D.S.; NATIONS, M.K.; LESLIE, J.; SOUSA, M.A.; ARAUJO, J.G.; CORRIA, L.L.; SAUER, K.T.; McCLELLAND, K.E.; TROWBRIDGE, F.L.; HUGHES, J.M. Prospective study of diarrheal illnesses in Northeastern Brazil: Patterns of disease, nutritional impact, etiologies and risk factors. *J. Infect. Dis.*, Chicago, 148(6):986-97, 1983.
33. GURWITH, M.; WENMAN, W.; GURWITH, D.; BRUTON, J.; FELTHAM, S.; GREENBERG, H. Diarrhea among infants and young children in Canada: a longitudinal study in three northern communities. *J. Infect. Dis.*, Chicago, 147(4):685-92, 1983.
34. HANNINEN, M.L. Comparison of four enrichment media in the recovery of *Campylobacter jejuni*. *Acta Vet. Scand.*, Copenhagen, 23:425-37, 1982.
35. HEBERT, G.A.; HOLLIS, D.G.; WEAVER, R.E.; LAMBERT, M.A.; BLASER, M.J.; MOSS, C.W. 30 years of *Campylobacters*: biochemical characteristics and biotyping proposal for *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, 15(6):1065-73, 1982.
36. HUMPHREY, T.J. & LANNING, D.G. *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broiler and chicken carcass and scald tank water: then influence of water PH. *J. Appl. Bacteriol*, 63(1):21-5, 1987.
37. HUTCHINSON, D.N.; BOLTON, F.J.; HINCHLIFFE, P.M.; DAWKINS, H.C. Evidence of udder excretion of *Campylobacter jejuni* as cause of milk-borne *Campylobacter* outbreak. *J. Hyg.*, London, 94:205-15, 1985.

38. JONES, P.H.; WILLIS, A.T.; ROBINSON, D.A.; SKIRROW, M.B.; JOSEPHS, D.S. **Campylobacter** enteritis associated with the consumption of free school milk. *J. Hyg.*, London, 87:155-62, 1981.
39. KARMALI, M.A.; ALLEN, A.K.; FLEMING, P.C. Differentiation of catalase-positive **Campylobacters** with special reference to morphology. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, Washington, 31(1):64-71, 1981.
40. KENDALL, E.C.J. & TANNER, E.I. **Campylobacter** enteritis in general practice. *J. Hyg.*, London, 88:155-63, 1982.
41. KING, E.O. Human infections with **Vibrio fetus** and a closely related vibrio. *J. Infect. Dis.*, Chicago, 101:119-28, 1957.
42. KINJO, T.; MORISHIGE, M.; MINAMOTO, N.; FUKUSHI, H.; Prevalence of **Campylobacter jejuni** in feral pigeons. *Japan J. Vet. Sci.*, Tokyo, 46(6):833-5, 1983.
43. LEVY, A.J. A gastero-enteritis outbreak probaly due to a bovine strain of **Vibrio**. *Yale J. Biol. Med.*, New Haven, 18:248-58, 1946.
44. LUECHTEFELD, N.W.; RELLER, L.B.; BLASER, M.J.; WANG, W.L. L. Comparison of atmospheres of incubation for primary isolation of **Campylobacter fetus** subesp. **jejuni** from animal specimens: 5% oxygen versus candle jar. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, 15(1):53-7, 1982.
45. McCARDELL, B.A.; MADDEN, J.M.; LEE, E.C.; **Campylobacter jejuni** and **Campylobacter coli** production of Cytotoxic toxin immunologically similar to cholera toxin. *J. Food Prot.*, Ames, 47(12):943-9, 1984.

46. McFADDIN ,J.F. Catalase test. In: _____ **Biochemical tests for indetification of medical bacteria.** 2.ed. Baltimore, Willians & Wilkins, 1977. Cap. 5. P. 29-35.
47. McFADDIN ,J.F. Hychogen sulfide test. In: **Biochemical tests for indetification of medical bacteria.** 2.ed. Baltimore, Willians & Wilkins, 1977. Cap. 13. P. 89-99.
48. McFADDIN ,J.F. Oxidase test. In: _____ **Biochemical tests for indetification of medical bacteria.** 2.ed. Baltimore, Willians & Wilkins, 1977. Cap. 23. P. 154-62.
49. McFADYEN, j. & STOCKMAN, S. Report of the Departamnetal Comittee appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to enquire into epizootic abortion. His Majesteys Lationery Office, London, 1913. apub DOYLE, M.P. **Campylobacter fetus jejuni**: an old pathogen of new concern. J. Food Prot., Ames, 44(8):596-601, 1981.
50. MENDES, E.N. Frequência de Campylobacter jejuni em crianças com e sem diarréia em Belo Horizonte. Belo Horizonte, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, 1985. 109 p. (Tese de Mestrado).
51. MENDES, E.N.; QUEIROZ, D.M.M.; CISALPINO, E.O.; PERES, J.N.; PENNA, F.J.; FIGUEIREDO FILHO, P.P. Ocorrência de **Campylobacter jejuni** em crianças com e sem diarréia em Belo Horizonte. Rev. Microbiol., 18(1):25-30, 1987.
52. OOSTEROM, J.; NOTERMANS, S.; KARMAN, H.; ENGELS, G.B. Origin and prevalence of **Campylobacter jejuni** in poultry processing. J. Food Prot., Ames, 46(4):339-44, 1983.

53. PAI, C.H.; SORGER, S.; LACKMAN, L.; SINAI, R.E.; MARKS, M.I. *Campylobacter* gastroenteritis in children. *J. Pediatr.*, St. Louis, **94**(4):589-91, 1979.
54. PATTON, C.M.; MITCHELL, S.W.; POTTER, M.E.; KAUFMANN, A.F. Comparison of selective media for primary isolation of *Campylobacter fetus jejuni*. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, **13**(2):326-30, 1981.
55. PORTER, I.A. & REID, T.M.S. A milk-borne outbreak of *Campylobacter* infection. *J. Hyg.*, London, **84**:415-9, 1980.
56. POTER, M.E.; BLASER, M.J.; KEITHSIKES, R.; KAUFMANN, A.F.; WELLS, J.G. Human *Campylobacter* infection associated with certified raw milk. *Am. J. Epidemiol.*, Baltimore, **117**(4):475-83, 1983.
57. PRESCOTT, J.F. & MUNROE, D.L. *Campylobacter jejuni* enteritis in man and domestic animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, **181**(12):1524-30, 1982.
58. RAYES, M.H.; GENIGEORGIS, C.A.; FARVER, B.T. Prevalence of *Campylobacter jejuni* on turkey wings at the supermarket level. *J. Food Prot.*, Ames, **46**(4):292-4, 1983.
59. RICCIARDI, I.D.; FERREIRA, M.C.S.; OTTO, S.S.; OLIVEIRA, N.; SABRÁ, A.; FONTES, C.F. Thermophilic *Campylobacter* associated diarrhea in Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.*, Rio de Janeiro, **12**(2-3):189-91, 1979.
60. ROBINSON, D.A.; EDGAR, W.J.; GIBSON, G.L.; MATCHETT, A.A.; ROBERTSON, L. *Campylobacter* enteritis associated with consumption of unpasteurized milk. *Br. Med. J.*, London, **1**:1171-3, 1979.

61. ROBINSON, D.A. & JONES, D.M. Milk-borne *Campylobacter* infection. *Br. Med. J.*, London, 282:1374-6, 1981.
62. ROBINSON, R.A. *Campylobacteriosis* in humans: an emerging zoonosis. *Minn. Vet.*, Minnesota, 23(1):6, 1983.
63. SEBALD, M. & VÉRON, M. Teneur en bases de L'ADN et classification des vibrions. *Ann. Inst. Pauster*, Paris, 105:897-910, 1963 apud DOYLE, M.P. *Campylobacter fetus* subesp. *jejuni*: an old pathogen of new concern. *J. Food Prot.*, Ames, 44(8):596-601, 1981.
64. SKIRROW, M.B. *Campylobacter* enteritis: a new disease. *Br. Med. J.*, London, 2:9-11, 1977.
65. SKIRROW, M.B. *Campylobacter* enteritis: the first five years. *J. Hyg.*, London, 89:175-84, 1982.
66. SMIBERT, R.M. The genus *Campylobacter*. *Ann. Rev. Microbiol.*, Palo Alto, 32:673-709, 1978.
67. SMIBERT, R.M. Genus II. *Campylobacter* Sebald and Véron 1963, 907. In: BUCHANAN, R.E. & GIBBONS, N.E. ed. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8 ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1974, cap. 5, p.207-12.
68. SMITH, T. Spirilla associated with disease of the fetal membranes in cattle (infectious abortion). *J. Exp. Med.*, New York, 28(6):701-19, 1918.
69. SMITH, H.J. & TAYLOR, M.S. Some morfological (*Vibrio fetus* N. sp) associated with disease of fetal membranes in cattle. *J. Exp. Med.*, New York, 30(4):299-312, 1919.

70. SMITHERMAN, R.E.; GENIGEORGIS, C.A.; FARVER, T.B.
Preliminary observations on the occurrence of
Campylobacter jejuni at four California chicken ranches.
J. Food Prot., Ames, 47(4):293-8, 1984.
71. STERN, N.J. Methods for recovery of *Campylobacter jejuni*
from foods. J. Food Prot., Ames, 45(14):1332-7, 1982.
72. STERN, N.J.; GREEN, S.S.; THAKER, N.; KROUT, D.J.; CHIU,
J. Recovery of *Campylobacter jejuni* from fresh and
frozen meat and poultry collected at slaughter. J. Food
Prot., Ames, 47(5):372-4, 1984.
73. STERN, N.J.; HERNANDEZ, M.P.; BLANKENSHIP, L.; DEIBEL,
K.E.; DOORES, S.; DOYLE, M.P.; PIERSON, M.D.; SOFOS,
J.N.; SUEUM, W.H.; WESTHOFF, D.C. Prevalence and
distribution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter*
coli in retail meats. J. Food Prot., Ames, 48(7):595-9,
1985.
74. SVEDHEM, A. & KAIJSER, B. *Campylobacter fetus* subspecies
jejuni: a common cause of diarrhea in Sweden. J. Infect.
Dis., Chicago, 142(3):353-9, 1980.
75. TAYLOR, D.N.; McDERMOTT, K.T.; LITTLE, J.R.; WELLS, J.G.;
BLASER, M.J. *Campylobacter* enteritis from untreated
water in the rocky mountains. Ann. Intern. Med.,
Philadelphia, 99:38-40, 1983
76. TAYLOR, P.R.; WEINSTEIN, W.M.; BRYNER, J.H.; *Campylobacter*
fetus infection in human subjects: association with raw
milk. Am. J. Med., New York, 66:779-83, 1979.
77. VÉRON, M. & CHATELAIN, R. Taxinomic study of the genus
Campylobacter and designation of the neotype strain for
the type species, *Campylobacter fetus* (SMITH & TAYLOR)

- SEBALD and VÉRON. *Inst J. Syst. Bacteriol.*, Bethesda, 23(2):122-34, 1973.
78. VOGT, R.L.; SOURS, H.E.; BARRET, T.; FELDMAN, R.A.; DICKINSON, R.J.; WITHEREL, L. *Campylobacter* enteritis associated with contaminated water. *Ann. Intern. Med.*, Philadelphia, 96(3):292-6, 1982.
79. WARNER, D.P.; BRYNER, J.H.; BERAN, G.W. Epidemiologic study of campylobacteriosis in Iowa cattle and possible role of unpasteurized milk as a vehicle of infection. *Am. j. Vet. Res.*, Schaumburg, 47(2):254-8, 1986.
80. WATERMAN, S.C.; The heat-sensitivity of *Campylobacter jejuni* in milk. *J. Hyg.*, London, 88:529-33, 1982.
81. WEMPE, J.M.; GENIGEORGIS, C.A.; FARVER, T.B.; YUSUFU, H.I. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chickens processing plants. *Appl. Environ. Microbiol.* Washington, 45(2):355-9, 1983.
82. WILLARD, M.D.; SUGARMAN, B.; WALKER, R.D. Gastrointestinal zoonoses. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 17(1):145-79, 1987.
83. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of the WHO consultation on veterinary public health aspects of prevention and control of *Campylobacter* infections. Moscow, 1984, 17p.
84. WRIGHT, E.P.; TILLET, H.E.; HAGUE, J.T.; CLEGG, F.G.; DARNELL, R.; CULSHAW, J.A.; SORREL, J.A. Milk-borne *Campylobacter* enteritis in a rural area. *J. Hyg.*, London, 91(2):227-33, 1983.

85. YUSUFU, H.I.; GENIGEORGIS, C.; FARVER, T.B.; WEMPE, J.M.
Prevalence of *Campylobacter jejuni* at different sampling
sites in two California turkey processing plants. J.
Food Prot., Ames, 46(10):868-72, 1983.