

**BIBLIOTECA DIGITAL DE TESES E DISSERTAÇÕES
UNESP**

RESSALVA

Alertamos para ausência de capa, folha de rosto, ficha catalográfica e sumário, não incluídos pelo autor no arquivo original.

LISTA DE FIGURAS

- Quadro 1 - Classificação bioquímica das principais espécies de *Campylobacter*..... 23
- Quadro 2 - Nomenclatura das bactérias do gênero *Campylobacter* segundo autores..... 24
- Gráfico 1 - Perfis de susceptibilidade às concentrações das drogas testadas no grupo de animais com diarreia.....31
- Gráfico 2 - Perfis de susceptibilidade às concentrações das drogas testadas no grupo de animais sem diarreia..... 33

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Frequência de *Campylobacter* isolados em amostras fecais de gatos com e sem diarreia.....28
- Tabela 2 - Frequências de isolamento, segundo a espécie de *Campylobacter*, em gatos com e sem diarreia.....29
- Tabela 3 - Perfil de sensibilidade das linhagens de *Campylobacter*, isoladas no grupo dos animais com diarreia30
- Tabela 3a - Perfil de sensibilidade das linhagens de *Campylobacter*, isoladas no grupo dos animais com diarreia30
- Tabela 4 - Percentagens das linhagens de *Campylobacter*, isoladas de gatos sem diarreia.....32
- Tabela 4a - Percentagens das linhagens de *Campylobacter*, isoladas de gatos sem diarreia.....32
- Tabela 5 - Total de isolamentos de *Campylobacter*, a partir de gatos com e sem diarreia, segundo autor e ano.....36

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CE = cefalotina

NA = ácido nalidíxico

NARTC = Nalidixic acid-resistente thermophilic *Campylobacter*

Rpm = rotações por minuto

TTC = 2'3'5' cloreto de trifeniltetrazólio

UFC = unidades formadoras de colônia

MIC = concentração inibitória mínima

MSB = meio seletivo Butzler

TF= técnica de filtração

RESUMO

Este estudo visou identificar bioquimicamente quais espécies de *Campylobacter* que acometiam 100 gatos com e 100 gatos sem diarreia, verificando suas frequências de isolamento e estabelecendo padrões de concentrações inibitórias mínimas (MIC) frente à 7 antimicrobianos. O agente foi isolado através de semeadura por filtração (TF) e semeadura direta em meio de BUTZLER (MB), ambos incubados por 72 horas em microaerofilia, sendo o TF a 37 °C e o MB a 43 °C. Para o MIC, foi utilizado o método de diluições em meios sólidos.

A frequência de isolamento, foi estabelecida pelos limites de 95% de confiança para a proporção de ocorrência complementada com o teste teste de Goodman para contrastes entre e dentro de populações binomiais. Todas as comparações foram realizadas no nível de 5 % de significância.

Foram isoladas 7 estirpes de *Campylobacter* no grupo dos animais com diarreia e 5 estirpes no grupo sem diarreia, verificando que não há diferenças significativas entre as frequências de isolamento nos dois grupos de animais estudados ($p>0,05$).

Através da classificação por comportamento bioquímico, foram isoladas no grupo dos animais com diarreia 4 estirpes de *C. jejuni*, 2 de *C. upsaliensis*, 1 de *C. coli* e dos gatos sem diarreia, 2 estirpes de *C. jejuni*, 2 de *C. lari*, 1 de *C. upsaliensis*.

O resultado do MIC permite recomendar os seguintes fármacos para utilização na terapêutica da Campilobacteriose entérica: eritromicina, enrofloxacina e gentamicina.

Palavras-chave: *Campylobacter*, Diarreia, Gatos, Sensibilidade, Zoonoses, Antimicrobianos.

ABSTRACT

This study aimed at identifying biochemically which species of *Campylobacter* attacked 100 cats with and 100 cats without diarrhea, verifying its frequencies of isolation and establishing standards of minimum inhibitory concentrations (MIC) in face of 7 antimicrobials that make possible the therapeutical use. The agent was isolated through sowing for filtration (TF) and direct sowing in BUTZLER (MB) mean, both incubated for 72 hours in microaerophilia, being TF at 37° C and MB at 43° C. For the lineages sensitivity, the method of dilutions in solid means was used.

The isolation frequency was established by assurance limits of 95% for the occurrence ratio and the association with both groups was evaluated by means of Goodman test for contrasts between and inside binomial populations. All the statistical discussions will be carried out at 5% of significance level.

Seven strains of *Campylobacter* were isolated from with diarrhea animals group and five strains without diarrhea animals group, no statistical difference was observed between the frequencies of isolation in the two groups of studied animals ($p > 0,05$).

By biochemical tests the *Campylobacter* isolates were identified from group with diarrhea, being 4 strains as *C. jejuni*, 2 as *C. upsaliensis*, 1 as *C. coli* and from cats without diarrhea, *Campylobacter* was isolated from 2 strains identified as *C. jejuni*, 2 as *C. lari*, 1 as *C. upsaliensis*.

The result of the MIC allows to recommend the following antimicrobial drugs for the therapeutical use of enteric *Campylobacter*iose: erithromycin, enrofloxacin and gentamicin.

Key words: *Campylobacter*, Diarrhea, Cats, Sensitivity, Zoonoses, Antimicrobial.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as bactérias da família *Campylobacteriaceae* vem sendo estudadas com o propósito de elucidar quais espécies do gênero *Campylobacter* são causadores de doenças para os animais de companhia e seres humanos.

A maioria das infecções por *Campylobacter* possui caráter zoonótico e os mecanismos de transmissão ocorrem através do contato direto com animais domésticos ou através do consumo de subprodutos comestíveis de origem animal contaminados pelo microrganismo.

As bactérias do gênero *Campylobacter* tem sido apontadas como causadora de gastroenterite nos gatos e seres humanos, acarretando sintomas clínicos como febre, dor abdominal, diarreia e vômito ocasional.

Durante a década passada, o microrganismo *Campylobacter jejuni* tornou-se reconhecido como causador de gastroenterite bacteriana aguda em muitos países desenvolvidos. O organismo é comumente encontrado como participante da flora intestinal dos animais de sangue quente, dentre eles, o gato.

Os gatos podem atuar como portadores de *Campylobacter*, independente da presença ou não de diarreia, podendo ocorrer tanto em gatos jovens como em adultos, mas com maior incidência em gatos jovens, que podem excretar o microrganismo para o meio ambiente, constituindo desta forma, uma importante fonte de infecção para o homem.

Os gatos que são criados em abrigos públicos, onde a densidade populacional é alta, as condições higiênico-sanitárias do ambiente precárias e exposição dos mesmos a alimentos e água contaminados, apresentam altas taxas de isolamento de *Campylobacter*.

Nos países desenvolvidos, o *Campylobacter jejuni* é uma das principais causas de diarreia, sendo muito mais baixa a frequência de portadores assintomáticos. Em nosso meio e em países com condições sócio econômicas semelhantes, a bactéria é encontrada entre 10% - 35%

das crianças, apresentando sinais clínicos da enfermidade ou não. As altas taxas de indivíduos assintomáticos parecem estar relacionadas com a presença de anticorpos séricos que surgem em consequência de infecções repetidas devido viverem em condições higiênicas insatisfatórias, mantendo estreito contato com animais de companhia ou pela ingestão de água e alimentos contaminados.

A campilobacteriose na espécie humana pode acometer qualquer indivíduo mas, ocorre com maior frequência, em crianças com até 5 anos de idade, pessoas idosas e indivíduos imunocomprometidos; representando desta forma, uma importante causa de morbidade e mortalidade.

Em crianças, o contato com cães e gatos de estimação com quadro de diarreia constitui um importante risco adicional.

A conscientização da população e das autoridades sobre o perigo que o *Campylobacter spp* representa para a Saúde Pública, são essenciais para que as pessoas comecem a tomar medidas preventivas contra este patógeno.

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

O primeiro relato de que se tem notícia sobre o gênero *Vibrio* ocorreu em 1773, quando MULLER, citado por LEDERLE (1963), observou em água potável microrganismos com movimentos típicos de vibrião. Em 1884, KOCH, citado por LEDERLE (1963), descreve, no Egito, que o vibrião isolado por ele de pacientes humanos era o agente da cólera asiática.

Em meados de 1963, houve a mudança taxonômica do gênero *Vibrio*, em virtude das diferentes características de molaridade na relação citosina-guanina, o que justificou a criação de um grupo à parte, denominado *Campylobacter* (SEBALD & VERON, 1963).

O gênero *Campylobacter* (do grego: *Kampylos*, encurvado; *bacter*, bactéria) (FERNANDES, 1999), é formado por bacilos gram-negativos, delgados, curvos, contendo um único flagelo em uma das extremidades, espiralados ou em forma de S. Quando observados ao microscópio de campo escuro, eles apresentam movimentos característicos de "cambalhota". Estas bactérias geralmente crescem em temperaturas de 37°C a 45°C (QUINN et al. 1994).

Por serem bactérias microaerófilas, necessitam de concentrações de oxigênio entre 3 e 15 % para crescerem nos meios de cultivo. Seu tamanho varia entre 0,5 µm a 5µm de comprimento por 0,2 µm a 0,5µm de largura, podendo ser filtradas em membrana de acetato de celulose com diâmetro de 0,65 µm, o que permite semear amostras suspeitas livres de contaminantes bacterianos (KRIEG & HOLT, 1984).

O *Campylobacter jejuni* não possui fímbrias, porém tem-se demonstrado que o flagelo e a estrutura de membrana lipopolissacarídea (LPS) atuam como adesinas, o que permite a adesão da bactéria à célula epitelial e a mucosa. A forma curvo-espiralada e o movimento típico de "saca-rolha" do *Campylobacter*, como também a atração quimiotática que o muco exerce sobre a bactéria, facilitam o contato desta com o epitélio do intestino (FERNANDEZ, 1999).

Campylobacter jejuni está distribuído mundialmente, encontrando-se na maioria das aves e mamíferos, incluindo animais utilizados na produção de alimentos, tais como aves, bovinos, ovinos e suínos. Também os cães e gatos, podem transmitir a doença aos humanos. Mais de 13 espécies de *Campylobacter* tem sido descritas na literatura, mas apenas algumas são consideradas patogênicas para os animais de estimação, dentre eles, o gato (BLASER, 1997).

A infecção por *Campylobacter jejuni* pode ocorrer em qualquer época do ano, sendo que o pico maior ocorre nos meses de verão e outono (BLASER, 1997) e com maior incidência em animais jovens (BURNENS et al., 1992).

O *Campylobacter* spp é encontrado na membrana mucosa do trato reprodutivo, no trato intestinal e na cavidade oral dos animais e seres humanos (CARTER et al., 1995).

As espécies de *Campylobacter* estão presentes em ambientes com excesso de umidade, em coleções de água, no trato gastrointestinal de animais domésticos e selvagens e em alimentos de origem animal. A principal espécie de interesse causadora de enterite em gatos é o *Campylobacter jejuni*, embora ele não se multiplique no meio ambiente, pode sobreviver por longos períodos em água e resistir a baixas temperaturas (J. SMALL ANIM. PRACT., 1998). O microrganismo *Campylobacter* spp pode sobreviver por semanas nas fezes, urina, leite e água a 4°C, mas são viáveis por poucos dias a 25°C (BLASER, 1980). A temperatura ótima de crescimento do microrganismo é em torno de 42°C, o que explica a prevalência de *Campylobacter* spp nas aves domésticas e selvagens (FOX, 1991).

Notáveis características do *Campylobacter jejuni* são o período de latência de 1 a 7 dias se comparado com outras bactérias e a diarreia causada pelo mesmo, usualmente, ocorre entre 2 a 7 dias. A bactéria passa de 2 semanas a 3 meses no hospedeiro antes de ser eliminada sem qualquer tratamento com antibióticos. O mecanismo da diarreia causada pelo *Campylobacter jejuni* é ainda pouco esclarecido,

apesar de que há muitos estudos que revelam a produção de potentes toxinas pela bactéria (DAIKOKU et al., 1990).

Uma vez que a bactéria tenha penetrado no sistema digestivo do gato, o microrganismo invade a mucosa do trato intestinal, podendo causar enterocolite superficial erosiva, congestão do intestino e ulceração, resultando em hematoquesia. A diarréia aquosa que acompanha esta condição, usualmente contém muco com ou sem sangue (MC DONOUGH, et al. 1996). Tanto o *Campylobacter jejuni* como *coli*, causam infecção, porém, entre estes dois, *Campylobacter jejuni* é responsável por 90% das infecções. Além dessas espécies, tem sido descritas como novo agente causador da diarréia, o *Campylobacter upsaliensis*, causadora de infecções alimentares (SKIRROW 1980).

SANDSTER & URSING (1991), descreveram *Campylobacter upsaliensis* como sendo uma espécie atípica, fracamente catalase-positiva.

A maioria das infecções pelo *Campylobacter* spp possui caráter zoonótico e está associada com o consumo de alimentos contaminados e contato com animais que estejam eliminando o microrganismo (ALTEKRUSE et al., 1994; BUZBY et al., 1997). Alguns estudos indicam que acima de 45% dos gatos clinicamente normais, albergam o microrganismo *Campylobacter* como comensal em seu organismo e eliminam em suas fezes. Quando a campilobacteriose ocorre, o organismo pode ser eliminado durante semanas ou até meses. A prevalência é baixa em gatos adultos, mas é alta em animais com até 6 meses de idade (MC DONOUGH, et al. 1996). A alta prevalência de gatos jovens estarem mais suscetíveis a colonização intestinal pelo *Campylobacter jejuni*, pode ocorrer, devido a infecção concomitante com outros enteropatógenos (Vermes, *Giardia*, *Isospora* sp) e também através do stress, higiene precária, intervenções terapêuticas e exposição dos mesmos a alimentos crus ou mal cozidos tais como fígado, vísceras, peixe, leite, além de água contaminada e transmissão fecal-oral (FOX et al., 1983; BURNENS et al. 1992).

Segundo (BURNENS et al. 1992), um estudo feito em gatos para analisar a associação entre o estado de portador do *Campylobacter* e da doença gastrentérica nesta espécie, não mostrou significância no grupo estudado.

Gatos adultos pertencentes a domicílios urbanos, geralmente possuem uma baixa prevalência de infecção pelo microrganismo *Campylobacter*, em contraste com os que vivem em abrigos públicos, onde a freqüência de isolamento varia de 21% a 29% dos gatos diarréicos, comparado com 4% dos gatos clinicamente saudáveis. As taxas de isolamento do microrganismo nas fezes de gatos adultos com e sem diarréia, variam de 0% a 50% (FOX, 1998).

Taxas de portadores entre 6% a 45% tem sido registradas em animais de rua e de abrigos públicos. Em infecção experimental, houve doença clínica em apenas alguns animais com o microrganismo *Campylobacter jejuni* (PRESCOTT & KARMALI, 1978), freqüentemente isolado de gatos com diarréia, e estes por sua vez, são considerados fontes de infecção para os seres humanos (SKIRROW, 1994).

O isolamento do *Campylobacter* spp e sua associação com as enteropatias ocorreram a partir da década de setenta, com o desenvolvimento dos meios de cultura seletivos e das técnicas de filtração (DEKEYSER et al. 1972). Estas técnicas possibilitaram eliminar o antagonismo competitivo de microrganismos indesejáveis, que podem multiplicar-se mais rapidamente que o *Campylobacter* e, conseqüentemente, interferirem no isolamento do agente (LUECHTEFELD & WANG, 1982).

DEKEYSER et al. (1972), foram os primeiros pesquisadores que obtiveram sucesso no isolamento de *Campylobacter* empregando técnicas de filtração. BUTZLER & SKIRROW (1979), desenvolveram um meio de cultura seletivo contendo diferentes antimicrobianos e aminoácidos, os quais não só impediam o crescimento de contaminantes como, também, estimulavam a multiplicação do *Campylobacter*.

BURNENS et al. (1992), comparando o isolamento do microrganismo através do meio seletivo, filtração e cultura em ágar sangue, cultivaram amostras fecais de 203 filhotes de gatos, dos quais 35 eram assintomáticos. Através da técnica do meio seletivo, 43 linhagens de *Campylobacter jejuni* foram isoladas, 32 (74%) destas linhagens foram também isoladas pela filtração em ágar sangue. Em 112 casos de *Campylobacter upsaliensis*, foram isolados respectivamente 17 (15%), em meio seletivo, 82 (73%) em meio seletivo e filtração em ágar sangue e 13 (12%) apenas em ágar sangue.

Dois estudos realizados nos Estados Unidos, com gatos oriundos de abrigos públicos, mostraram que um apreciável número de gatos excretavam *Campylobacter jejuni* em suas fezes. No primeiro estudo, a taxa de isolamento do microrganismo nos gatos foi de 14% de 107 e no segundo estudo, apenas 4% de 112 gatos eliminavam o microrganismo *Campylobacter jejuni* em suas fezes. Similarmente, na Inglaterra, um estudo realizado em 1980, o *Campylobacter* foi encontrado em apenas 2 de 93 gatos com diarreia, no entanto, uma pequena nota publicada na Inglaterra no mesmo ano, indicou que 25 de 56 (45%) gatos clinicamente normais que coabitavam com humanos, excretavam *Campylobacter jejuni* em suas fezes. A alta taxa de isolamento foi atribuída ao uso de técnicas de enriquecimento, como meio seletivo Skirrow's (FOX et al. 1983).

SCARCELLI et al. (1998), relataram que os gatos posicionaram-se em um experimento como a terceira maior frequência de isolamentos de *Campylobacter* spp (33%). Resultado semelhante foi observado por JARAMILLO (1983), que obteve 31,7%, analisando fezes de gatos errantes aparentemente saudáveis.

GIFOORD et al. (1985), estudaram a frequência de isolamento de *Campylobacter jejuni* em amostras fecais de 430 gatos domésticos, observando que muitos eliminavam o microrganismo sem apresentar quadro de diarreia ou qualquer outro sintoma. Foi observado que o microrganismo pode ser albergado tanto em gatos jovens como em

adultos. *Campylobacter jejuni*, foi isolado de um gato com 30 dias de infecção demonstrando enterite necrotizante focal, alveolite pulmonar e hipocelularidade da medula óssea, conforme diagnóstico histológico.

DENNIS et al. (1993), realizaram um estudo em 14 gatos púberes e não púberes por um período de 5 anos, apresentando quadro de colites plasmocítica e linfocítica. Observaram em 11 gatos quadro de diarreia, que na cultura bacteriológica das fezes, apresentaram resultado positivo para *Campylobacter* spp. Observaram na endoscopia que o cólon dos gatos apresentava petéquias e hiperemia devido ao processo inflamatório. Sete gatos com registro de anormalidades na mucosa, apresentavam na mesma, em exame histológico, severa colite.

O gênero *Campylobacter* é reconhecido como uma das causas mais comuns de diarreia em humanos em todo o mundo (BUTZLER & SKIRROW, 1979).

NACHAMKIN (1997), revisando aspectos microbiológicos de *Campylobacter* isolado de seres humanos, faz as seguintes ponderações sobre os membros da família Campylobacteraceae: *Campylobacter jejuni* subespécie *jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter upsaliensis*, *Campylobacter lari*, *Campylobacter fetus* subespécie *fetus*, *Campylobacter cryaeriphila* e *Campylobacter butzeli* são reconhecidamente patogênicos para humanos. As espécies *Campylobacter jejuni* subespécie *doylei*, *Campylobacter hyointestinalis*, *Campylobacter curva*, *Campylobacter jejuni* subespécie *doylei*, *Campylobacter hyointestinalis*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter concisus*, *Campylobacter mucosalis*, *Campylobacter gracilis* e *Campylobacter sputorum* são reportados em seres humanos, porém sua patogenicidade é incerta.

As espécies *Campylobacter fetus* subespécie *venerealis*, *Campylobacter hyointestinalis* subespécie *lawsonii*, *Campylobacter hyoilei*, *Campylobacter helveticus* e *Campylobacter showae* são apatogênicos para humanos.

As enfermidades diarréicas constituem um problema de saúde pública no mundo, especialmente em países em desenvolvimento, onde o isolamento de *Campylobacter* aumenta dramaticamente, representando, desta forma, uma importante causa de morbidade e mortalidade em crianças menores de 5 anos (MURTAUGH et al., 1984 ; PÉREZ et al., 1988; GUERRANT et al., 1992). Entre as espécies importantes do ponto de vista de saúde pública, tem sido destacado *Campylobacter jejuni*. Esta espécie foi dividida taxonomicamente em duas subespécies: *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter jejuni doylei* (STEELE & OWEN, 1988; HOWEY et al., 1990).

A espécie mais frequentemente associada com a doença em humanos é *Campylobacter jejuni*, e em menor freqüência, *Campylobacter coli* (SVEDHEM & NORKRANS, 1980; STEINHAUSEROVA et al., 2000). Além dessas espécies, o *Campylobacter upsaliensis* tem sido descrito como novo agente causador de gastroenterite em cães, gatos e seres humanos. (BURNENS et al., 1992; MADEN et al., 1996). Segundo BURNENS et al. (1992) o *Campylobacter upsaliensis* foi isolado pela primeira vez em 1983 na Suécia. O isolamento de *Campylobacter upsaliensis* de seres humanos com diarréia (PATTON et al., 1989; GOOSSEN et al., 1991; LAUWERS et al., 1991) e animais domésticos (SANDSTEDT et al., 1983; FOX et al., 1989; FIGURA, 1991; LASTOVICA et al., 1991) tem sido frequentemente relatados.

Um estudo na Austrália, registrou que *Campylobacter upsaliensis* e *Campylobacter jejuni* foram encontrados em 11% e 4% dos gatos respectivamente (BAKER., et al. 1999).

MOSER et al. (2001), em um estudo realizado em 46 gatos, 22 foram considerados positivos para *Campylobacter*, dos quais atribuiu-se o isolamento do *Campylobacter upsaliensis* e *Campylobacter helveticus* em 40,9% e 45,5% respectivamente .

MORENC et al. (1993) examinaram amostras de fezes de 68 gatos para isolar o microrganismo *Campylobacter* através do meio

seletivo e filtração. O gênero mais comum isolado em gatos foi *Campylobacter upsaliensis* (45 de 68 amostras). Estas bactérias tem sido isoladas em crianças e adultos imunocomprometidos produzindo diarreia e bacteremia (FERNANDEZ, 1999). A espécie *Campylobacter jejuni* subespécie *jejuni* é efetivamente patogênica para seres humanos e gatos, sendo potencialmente transmitida ao homem pelos últimos, por meio da via oro-fecal. Contudo, a maior fonte de infecção para humanos não são os gatos e sim os alimentos derivados de aves (LUECHTEFELD et al., 1982) e o leite contaminado (DOYLE & ROMAN, 1982).

Acredita-se que pelo menos 5% das infecções pelo *Campylobacter* em seres humanos, sejam causadas por contato direto com animais de companhia, sendo esta via de contágio para o ser humano a segunda mais freqüente (SKIRROW,1981). Segundo (SKIRROW,1991), aproximadamente 6% das campilobacterioses entéricas tem sido transmitidas pelos animais de estimação.

Segundo SVEDHEM & NORKRANS (1980), em um estudo realizado em 5 gatos com 3 meses de idade apresentando quadro de enterite, observaram através de amostras fecais que todos eram positivos para *Campylobacter*. Verificou-se que a transmissão deste agente é possível através do contato direto destes animais com seres humanos, principalmente crianças e também, de pessoa para pessoa, incluindo transmissão perinatal.

CURRAN et. al. (1997), cientificam que a enterite por *Campylobacter* é a causa mais comum de gastroenterite em seres humanos com grande abrangência no mundo, sendo a doença infecciosa mais freqüente na Austrália, com 12.158 casos notificados em 1996. No sul da Austrália teve o maior registro de casos notificados com 179 casos por 100.000 habitantes. Esta enfermidade tem sido relatada em crianças e adultos que estejam em contato com gatos infectados com ou sem diarreia, caracterizada por variável severidade (SKIRROW, 1977; BLASER et al., 1978; BLASER et al., 1980; BRUCE et al., 1980; MANSER

et al., 1985; LANDER, 1985, PATTON et al., 1989). Segundo SKIRROW et al. (1980) essa fonte de transmissão representa cerca de 5% dos casos.

De acordo com (BURNENS et al., 1992; MADEN et al., 1996, FERNANDEZ, 1999), estas bactérias tem sido isoladas em crianças e adultos imunocomprometidos produzindo diarreia e bacteremia.

HOPKINS et al. (1984); DEMING et al. (1987); SALFIELD et al. (1987); GOOSSEN et al. (1990); KAPPERUD et al. (1992) BOURKE et al. (1998) encontraram correlação positiva entre a ocorrência de infecção por *Campylobacter* em crianças de 0 a 5 anos de idade e presença de filhotes de gatos na mesma habitação. Os autores sugerem que a falta de higiene possibilita o contato oro-fecal entre as crianças e os gatos, propiciando a infecção.

FERNANDEZ et al. (1994), examinando amostras de fezes de crianças com diarreia, encontraram taxas de isolamento de 16,3 % de *Campylobacter* sp. Neste estudo, foram isoladas as espécies *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* biotipos I e II, ressaltando que os mesmos também foram predominantes em estudos de isolamento do agente em animais.

ALLOS (1997), científica que a síndrome de Guillain-Barré é uma doença neurológica caracterizada por paralisia respiratória ascendente, podendo levar a morte. Os sintomas neurológicos são mais severos quando a síndrome é precedida pela infecção através do microrganismo *Campylobacter jejuni*. Diversos estudos têm documentado a alta prevalência de anticorpos para *Campylobacter jejuni* no soro de pacientes com esta síndrome. Infecções extra intestinais como bacteremia, meningoencefalite, artrite purulenta aguda também tem sido registrados (SKIRROW, 1994).

ALTEKRUSE et al. & HELMICK et al. (1994); BLASER (1997), revelaram que o número de infecções pelo *Campylobacter jejuni* em humanos tenha sido estimado entre 2 a 10 milhões por ano nos Estados Unidos. Infecções pelo *Campylobacter jejuni*, comumente resultam em gastroenterite autolimitante, embora em baixa incidência,

colites e septicemia são registrados, sendo raramente fatais. O número de registros de morte a cada ano causados por *Campylobacter* são estimados de 120 a 360 ocorrendo, em sua grande maioria em crianças, idosos, indivíduos debilitados ou imunodeprimidos.

FOX et al. (1983); MURTAUGH et al. (1984); BLASER (1997), encontraram evidências de que estas bactérias possam ser causadoras de infecções entéricas em seres humanos e animais, podendo, desta forma, acarretar sintomas clínicos como febre, dor de cabeça, vômito, diarreia, e raramente, artrites, septicemia e abortos. A dose infectante requerida para produzir doença em seres humanos por *Campylobacter jejuni* é de aproximadamente 500 microrganismos, sugerindo ser esta bactéria mais infectante do que a *Salmonella*, que requer aproximadamente 10.000 organismos como dose infectante.

NACHAMKIN & BLASER (1997), em estudos laboratoriais, clínicos e epidemiológicos, verificaram que o *Campylobacter jejuni* é considerado uma das mais importantes causas de infecções gastrointestinais em humanos nos Estados Unidos; superando o gênero *Salmonella* na maioria dos estudos.

ORIST & BROWNING (1982), descreveram as taxas de isolamento do microrganismo *Campylobacter* através de amostras fecais de 56 gatos com diarreia e 61 sem diarreia, verificando que no grupo dos gatos com diarreia a taxa de isolamento foi 7(12,5%) e no grupo dos gatos sem sintomatologia foi 2(3%) respectivamente. Através deste achado, observaram que todas as amostras isoladas revelaram sensibilidade total à gentamicina, eritromicina, neomicina, estreptomicina, cloranfenicol, tetraciclina e moderada sensibilidade à ampicilina (10µg), penicilina - G e resistência ao trimetropin .

Em um estudo (FOX, 1991), verificou que *Campylobacter upsaliensis*, é frequentemente sensível a cefalotina.

Os testes de sensibilidade ao ácido nalidíxico e cefalotina tem apresentado apreciável valor na identificação de espécies de *Campylobacter* termofílicas, causadoras de enterocolite (VERON &

CHATLEIN,1973). Espécies termofílicas resistentes ao ácido nalidíxico foram descritas por SKIRROW & BENJAMIN , 1980 sendo isoladas por estes autores com frequência de 25% entre gaivotas do gênero *Larus*, e, em algumas situações, a partir de seres humanos. Estas bactérias inicialmente foram inclusas em um grupo denominado NARTC. Posteriormente, BENJAMIN et al. 1983 encontraram evidências de que este grupo de bactérias constituía uma nova espécie: *Campylobacter lari*.

ABRAHAMS et al. (1990), compararam a taxa de isolamento do *Campylobacter jejuni* em humanos e em gatos e obtiveram os mesmos resultados tanto para a espécie humana como para os gatos. A sensibilidade antimicrobiana dos agentes isolados foi para a eritromicina, que é a droga de eleição para o tratamento de seres humanos e gatos.

Segundo SAENZ et al. (2000), nos pacientes cujo tratamento é preconizado, as drogas de eleição são eritromicina e fluorquinolonas.

Outros membros dos grupos de antibióticos macrolídeos podem também ser efetivos. Muitas espécies de *Campylobacter* produzem beta-lactamases, o que as tornam resistentes a ampicilina. Entretanto, as fluorquinolonas são efetivas contra muitas espécies de *Campylobacter*, sendo responsável pela prática da prescrição sem reserva das mesmas para o tratamento de infecções mais sérias, inclusive com risco de vida, causadas por bactérias gram-negativas resistentes a outros antimicrobianos de uso na rotina clínica (J. Small Anim. Pract., 1998).

FERNANDES et al. (1996), pesquisando a resistência das cepas isoladas de 177 amostras estudadas de animais domésticos, verificou que foram isoladas 57 (32,2%) cepas de *Campylobacter*, das quais 4 (7,1%) foram resistentes ao ácido nalidíxico, correspondendo 3 a *Campylobacter jejuni* (2 cepas biotipo I , 1 cepa biotipo III) e 1 a *Campylobacter coli* (biotipo II). Todas as cepas resistentes ao ácido nalidíxico apresentaram resistência cruzada a ciprofloxacina e norfloxacina , duas importantes quinolonas de uso clínico.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Pelo exposto, o presente trabalho pretende:

- Avaliar a frequência de isolamento de *Campylobacter* em gatos com e sem diarreia;
- Identificar quais espécies do gênero *Campylobacter* acometem os gatos com e sem diarreia;
- Testar o perfil de resistência antimicrobiana das estirpes de *Campylobacter* frente à cefalexina, oxitetraciclina, enrofloxacina, nitrofurantoína, eritromicina, cloranfenicol e gentamicina, estabelecendo padrões de concentrações inibitórias mínimas (MIC) que possibilitem o uso terapêutico destes antimicrobianos.

MATERIAL E MÉTODO

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Origem das amostras

Foram colhidas, através de sondas retais estéreis, amostras de fezes de 100 gatos com diarreia e 100 gatos sem sintomas da enfermidade, pertencentes à região de Botucatu e também, dos animais atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Unesp, na clínica da disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais Domésticos e nos ambulatórios da disciplina de Clínica Veterinária de Pequenos Animais.

4.2 Procedimento para isolamento e tipificação de bactérias do gênero *Campylobacter*

As 200 amostras fecais dos 100 gatos com diarreia e dos 100 gatos sem diarreia foram submetidas à coprocultura, para isolamento e identificação de *Campylobacter*.

4.2.1 Isolamento de *Campylobacter*

Para eliminar o antagonismo competitivo de microrganismos indesejáveis presentes nas fezes, e conseqüentemente, aumentar o sucesso de isolamento de *Campylobacter*, foram realizadas sementeiras utilizando-se técnicas de filtração e sementeira direta. As sementeiras por filtração foram feitas mediante a diluição de um grama de fezes, suspenso e homogeneizado em 9ML de solução fisiológica estéril, centrifugado a 2.500 rpm por cinco minutos e filtrado em membrana de acetato de celulose de diâmetro de 0,65 µm. Deste filtrado, retiraram-se três gotas, que foram sementeiras em ágar tioglicolato, enriquecido com 20% de sangue bovino. A sementeira direta foi realizada com auxílio de uma alça de platina, onde uma alíquota de fezes foi semeada por estrias em uma placa de Petri com meio seletivo de Butzler (msb).

O meio seletivo de Butzler continha os seguintes antimicrobianos: bacitracina (25000 UI), novobiocina (500 mcg), colistina (1000 UI), cefazolina (15000 mcg) e ciclohexamida (5000 mcg).

Ambos os meios foram incubados, por 72 horas, em atmosfera de microaerofilia, sendo o meio de tioglicolato a 37°C e o meio seletivo de Butzler a 43°C.

A microaerofilia foi obtida por interligações entre um dessecador a vácuo, um cilindro de gás contendo 5% de CO₂ e 95% de N₂, vacuômetro e bomba de vácuo. Após a retirada do ar ambiental do dessecador com pressão de até 0,8 atm, e a respectiva introdução da mistura, foi obtida a atmosfera desejada.

4.2.2 Diagnóstico presuntivo de *Campylobacter spp*

Após incubação, as colônias suspeitas foram examinadas em microscópio de contraste de fase, com aumento de 1000X. O diagnóstico presuntivo do agente foi feito pela observação das características morfológicas semelhantes a vírgula e movimentação típica de espirilo.

4.2.3 Preparo do inóculo

Após o diagnóstico presuntivo, as colônias foram semeadas em duplicata, no meio de Tarozzi, e incubadas a 37°C por 72 horas, para preparo do inóculo. No momento do uso, o meio citado estava com densidade igual a 1, na escala de turbidimetria de Mac Farland (3 x10⁸ bactérias/ml).

4.2.4 Diagnóstico definitivo

As amostras positivas foram testadas para as seguintes provas:

a) Catalase: realizada mediante a adição de 1 ml do inóculo de *Campylobacter* a 1ml de água oxigenada a 3%. A leitura foi feita cinco minutos após, sendo positiva, quando ocorria produção de bolhas de gás (VERON & CHATELAIN, 1973).

b) Crescimento em 25 °C e 43 °C: três gotas do inóculo foram semeadas em duplicata, no meio de Tarozzi: a primeira duplicata, incubada a 37°C, e a segunda, a 43°C, por 72 horas. Consideraram-se como positivos, os tubos com meio onde ocorreu crescimento da bactéria (VERON & CHATLEIN, 1973).

c) Crescimento em glicina: três gotas do inóculo foram semeadas em meio contendo 1% de glicina, e incubadas a 37°C por 72 horas. A amostra foi considerada positiva, quando ocorreu crescimento da bactéria (VERON & CHATLEIN, 1973; SMIBERT, 1978).

d) Crescimento em NaCl a 3,5%: o teste foi realizado mediante a inoculação de três gotas do inóculo em meio de cultura contendo 3,5% de NaCl, a 37°C por 72 horas. A amostra foi considerada positiva, quando ocorreu crescimento da bactéria (SMIBERT, 1978).

e) Produção de H₂S com cisteína: três gotas do inóculo foram semeadas num tubo com meio de cultura acrescido de 0,2 % de cisteína em cuja parte superior foi fixada uma tira contendo acetato de chumbo, e incubadas a 37°C, por 72 horas, em microaerofilia. O teste foi considerado positivo, quando o papel apresentou coloração enegrecida (VERON & CHATLEIN, 1973).

f) Produção de H₂S sem cisteína: foi desenvolvido o mesmo método anteriormente citado, mas utilizando-se o meio de Tarozzi (VERON & CHATLEIN, 1973).

g) Hidrólise do hipurato de sódio: uma alçada do inóculo foi semeada em um microtubo contendo solução aquosa com 1% de hipurato de sódio e incubada em banho-maria, a 37°C, por duas horas. Foi então adicionada 3,5% de ninhidrina em acetona e n-butanol (1:1), sendo novamente incubada por mais 15 minutos. A reação foi positiva, quando ocorreu a formação de cor púrpura.

h) Tolerância ao cloreto de trifeniltetrazóico (TTC): uma alçada da colônia foi semeada em ágar sangue, contendo 1% de TTC, e incubada a 37°C por 72 horas em microaerofilia. A amostra foi considerada positiva, quando o crescimento bacteriano ocorreu ao longo da estria (VERON & CHATLEIN, 1973).

i) Resistência ao ácido nalidíxico (NA): com zaragatoa estéril, o inóculo foi semeado em meio de tioglicolato, enriquecido com sangue bovino, acrescido de um disco de NA, na concentração de 30 mcg de potência, e incubado a 37°C por 72 horas em microaerofilia. O resultado foi considerado positivo, quando ocorreu um halo de inibição inferior ao diâmetro de 6 mm (VERON & CHATLEIN, 1973).

j) Resistência a cefalotina (CE): com zaragatoa estéril o inóculo foi semeado em meio tioglicolato, enriquecido com sangue bovino, acrescido de um disco de CE de 30 mcg de potência, e incubada a 37°C por 72 horas em microaerofilia. O resultado foi considerado positivo, quando ocorreu um halo de inibição inferior ao diâmetro de 18 mm (BENJAMIN et al., 1983).

Os parâmetros bioquímicos para identificação das espécies *Campylobacter* (BARROW & FELTHAM, 1993; HOLT et al., 1994, QUIN et al., 1994) estão sumarizados no quadro 1.

Quadro 1 – Classificação bioquímica das principais espécies de *Campylobacter*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Crescimento a 25°C	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
Crescimento a 43°C	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	V	-	+	-	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	-	F/-	+	-	+	+	-	+	-	+
Hidrólise de hipurato	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Produção de H ₂ S com cisteína	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	+	-	-	+	D	+	+
Produção de H ₂ S sem cisteína	-	-	+	-	+	-	-	-	V	-	+	-	-	+	D	+	+
Crescimento em meio com 1% de glicina	+	-	+	+	+	+	+	V	+	+	+	-	+	+	-	+	+
Crescimento em 3,5% de NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	V	+
Tolerância ao TTC	-	-	-	V	+	+	V	-	-	+	-	V	+	D	D	D	D
Sensibilidade a CE	S	S	S	R	V	R	S	S	S	V	R	V	S	S	S	S	S
Sensibilidade a Na	R	R	R	R	S	S	S	S	V	S	R	V	S	V	R	V	R

V = variável

F = fraca reação

R = resistente

S = sensível

1-*Campylobacter fetus* subespécie *fetus*6-*Campylobacter jejuni* subespécie *jejuni*11-*Campylobacter consisus*16-*Campylobacter sputorum* biovar *bubulus*2-*Campylobacter fetus* subespécie *venerealis*7-*Campylobacter jejuni* subespécie *doylei*12-*Campylobacter cryaerophila*17-*Campylobacter sputorum* biovar *fecalis*3-*Campylobacter hyointestinalis*8-*Campylobacter upsaliensis*13-*Campylobacter fennelliae*4-*Campylobacter laridis*9-*Campylobacter sputorum* biovar *sputorum*14-*Campylobacter mucosalis*

As diferentes correntes que aludem à nomenclatura das bactérias do gênero *Campylobacter*, utilizadas em Medicina Veterinária, estão listadas no quadro 2.

Quadro 2 - Nomenclatura das bactérias do gênero *Campylobacter*, segundo autores

BARROW & FELTHOM, 1993	HOLT et al., 1994	QUIN et al., 1994
<i>C. jejuni</i> sub. <i>Jejuni</i>	<i>C. jejuni</i> sub. <i>Jejuni</i>	<i>C. jejuni</i>
<i>C. jejuni</i> sub. <i>Doylei</i>	<i>C. jejuni</i> sub. <i>Doylei</i>	<i>C. jejuni</i>
<i>C. upsaliensis</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>C. upsaliensis</i>
<i>C. lari</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. laridis</i>
<i>C. fetus</i> sub. <i>Fetus</i>	<i>C. fetus</i> sub. <i>Fetus</i>	<i>C. fetus</i> sub. <i>Fetus</i>
<i>C. fetus</i> sub. <i>Venerealis</i>	<i>C. fetus</i> sub. <i>Venerealis</i>	<i>C. fetus</i> sub. <i>Venerealis</i>
<i>C. coli</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. coli</i>
<i>C. sputorum</i> sub. <i>sputorum</i>	<i>C. sputorum</i> biov. <i>Sputorum</i>	<i>C. sputorum</i> biov. <i>sputorum</i>
Não relatado	<i>C. sputorum</i> biov. <i>Bubulus</i>	<i>C. sputorum</i> biov. <i>bubulus</i>
Não relatado	<i>C. sputorum</i> biov. <i>Fecalis</i>	<i>C. sputorum</i> biov. <i>fecalis</i>
<i>C. cianedi</i>	<i>C. cianedi</i>	Não relatado
<i>C. concisus</i>	<i>C. consisus</i>	Não relatado
<i>Arcobacter. Cryaerophila</i>	<i>C. cryaerophila</i>	<i>C. cryaerophila</i>
<i>Helycobacter. Fennelliae</i>	<i>C. fennelliae</i>	Não relatado
Não relatado	<i>C. mucosalis</i>	<i>C. mucosalis</i>
Não relatado	<i>C. nitrofigillis</i>	Não relatado

Para o presente trabalho utilizou-se a nomenclatura definida por QUINN et al., 1994 (quadro 2). Estes autores não utilizaram, em suas chaves classificatórias, o teste de tolerância ao TTC. No entanto, esta prova é importante na diferenciação das espécies termofílicas de *Campylobacter* (SKIRROW & BENJAMIN, 1980), tendo, por isso, sido adotada nesta pesquisa.

4.3 Determinação do perfil de sensibilidade a antimicrobianos

Para estudar a sensibilidade das estirpes isoladas aos antimicrobianos escolhidos, utilizou-se o método de diluições em meios sólidos, recomendada pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1998), a fim de determinar a Concentração Inibitória Mínima de cada fármaco. Foram obtidas as formulações comerciais dos seguintes antimicrobianos: cefalexina, eritromicina, gentamicina, enrofloxacin, cloranfenicol, nitrofurantoína e oxitetraciclina. A partir destas formulações, foram preparadas, em solução fisiológica estéril, soluções mães contendo 1000 µg/ML. A partir destas soluções, diversas alíquotas foram retiradas e fundidas a ágar tioglicolato, enriquecido com 20% de sangue bovino. A seguir, foi solidificado em placas de Petri descartáveis, perfazendo um volume total de 20 ml por placa. As alíquotas das soluções de antibiótico foram fracionadas, nos meios de cultura, de modo a corresponder às seguintes diluições por placa: 0,06 µg/ML, 0,125 µg/ML, 0,25 µg/ML, 0,5 µg/ML, 1 µg/ML, 2 µg/ML, 4 µg/ML, 8 µg/ML, 16 µg/ML, 32 µg/ML, 64 µg/ML e 128 µg/ML.

As colônias bacterianas obtidas foram suspensas em solução fisiológica, na escala, 0,5 de turbidimetria de Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml), e foram inoculadas nos meios de cultura preparados. Como controle, utilizou-se *Escherichia coli*, ATCC 25922, inoculada em cada uma das placas. As placas foram mantidas a 35°C em microaerofilia, sendo realizada leitura depois de 72 horas. Apenas as estirpes termofílicas de *Campylobacter* foram submetidas aos testes de suscetibilidade antimicrobiana.

4.4 Análise Estatística

Para a determinação da frequência de isolamento de *Campylobacter* foram considerados 100 animais de cada um dos grupos com e sem diarreia, cujas estimativas populacionais a partir da procura do Hospital Veterinário foram estabelecidas pelos limites de 95% de confiança para a proporção de ocorrência complementada com o teste de Goodman para contrastes entre e dentro de populações binomiais (GOODMAN, 1964; 1965). Da mesma forma a sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos utilizados foram avaliadas pelo teste de Goodman. A significância do resultado do teste de Goodman foi indicada por letras minúsculas, para contraste entre linhas, fixada a coluna, e por letras maiúsculas, para contraste dentro das linhas. Quando duas proporções apresentam uma mesma letra (minúscula em comparação de linhas maiúsculas para colunas), o resultado do teste para comparação não foi significativo ($p > 0,05$).

Todas as comparações foram realizadas no nível de 5 % de significância.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Comparação da frequência de isolamento de *Campylobacter* entre o grupo de animais com diarreia e sem diarreia

Tabela 1. Frequência de *Campylobacter* isolados em amostras fecais de gatos com e sem diarreia.

Gatos	Ocorrência		Total
	Positivos %	Negativos %	
Com diarreia	0,07 a A	0,93 a B	100
Sem diarreia	0,05 a A	0,95 a B	100

O resultado da análise estatística realizado através do teste de Goodman, mostrou que não há diferenças significativas entre as frequências de isolamento de *Campylobacter* nos dois grupos de animais estudados ($p > 0,05$). Entretanto, verifica-se que na população estudada, existe predominância da não ocorrência de *Campylobacter*.

5.2 Espécies de *Campylobacter*, isoladas a partir dos grupos de gatos com e sem diarreia

As frequências de isolamento das diferentes espécies de *Campylobacter*, obtidas nos grupos estudados, estão sumarizadas na tabela 2.

Tabela 2. Freqüências de isolamento, segundo a espécie de *Campylobacter*, em gatos com e sem diarreia.

Espécies	ni-gatos com diarreia	ni-gatos sem diarreia	fi-gatos com diarreia	fi-gatos sem diarreia
<i>C. jejuni</i>	4	2	0,04	0,02
<i>C. lari</i>	–	2	-	0,02
<i>C. upsaliensis</i>	2	1	0,02	0,01
<i>C. coli</i>	1	–	0,01	-
Negativos	93	95	0,93	0,95
Total	100	100	1,00	1,00

ni- número de isolamentos

fi- freqüência de isolamentos

Foram isoladas, no total 7(7%) estirpes de *Campylobacter* no grupo dos animais com diarreia e 5 (5%) dos animais sem diarreia. A classificação por comportamento bioquímico facultou a identificação de todas as linhagens isoladas. As espécies de *Campylobacter* obtidas foram: *Campylobacter jejuni* - 4 (4%) e 2(2%), *Campylobacter lari* - 0 (0%) e 2 (2%), *Campylobacter upsaliensis* - 2 (2%) e 1(1%), *Campylobacter coli* - 1(1%) e 0 (0%).

Das 12 estirpes de *Campylobacter* isoladas, o agente foi identificado em 2 (16,7%) amostras isoladas somente em meio seletivo de Butzler; em 2 (16,7%) o microrganismo foi isolado a partir da técnica de filtração e, em 8 (66,6%) pelos dois procedimentos.

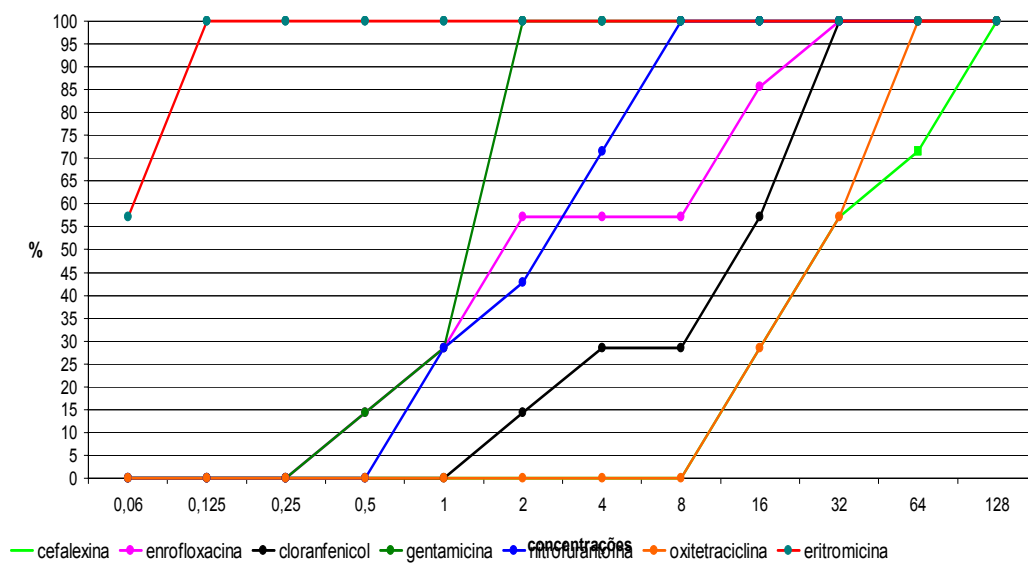


Gráfico 1. Perfis de suscetibilidade às concentrações das drogas testadas no grupo de animais com diarreia.

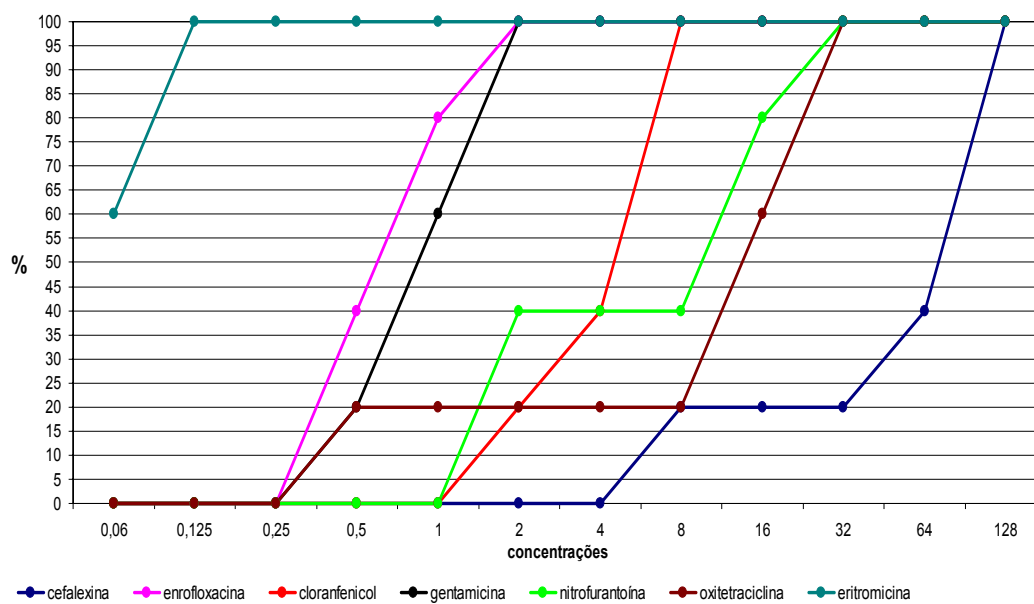


Gráfico 2. Perfis de suscetibilidade às concentrações das drogas testadas no grupo de animais sem diarreia.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

6.1 Comparação entre as frequências de isolamento de *Campylobacter*, em gatos com e sem diarreia

Os achados no presente estudo, são concordantes com os de BAKER et al., 1999; HILL et al., 2000; ORIST et al., 1982, que não encontraram diferenças significativas entre gatos com diarreia e gatos sem diarreia.

Estes dados são discordantes dos encontrados por BURNENS et al., (1992), que isolaram *Campylobacter* spp em 23 (11,6%) de 197 gatos com diarreia e 32 (91%) de 35 gatos sem diarreia encontrando diferenças estatísticas significantes na excreção de *Campylobacter*, quando compararam gatos sem diarreia e com diarreia.

A tabela 5 mostra dados referentes às proporções de isolamento de *Campylobacter*, a partir de gatos com e sem diarreia, e números amostrais empregados, segundo autor e ano.

Tabela 5. Total de isolamentos de *Campylobacter*, a partir de gatos com e sem diarreia, segundo autor e ano.

Referência	Gatos com diarreia	Isolamentos positivos	Gatos sem diarreia	Isolamentos positivos
ORIST et al., 1982	56	7(12.5%)	61	2(3%)
FOX et al., 1983	107	15(14%)	66	5(7,6%)
BURNENS et al., 1992	197	23(11,6%)	35	32(91%)
BAKER et al., 1999	12	3 (25%)	153	25(16,3%)
HILL et al., 2000	70	1(1.4%)	52	1(1.9%)
MOSER et al., 2001	13	7(58%)	9	4(44,4%)

O presente trabalho não encontrou diferenças estatísticas entre os dois grupos estudados, porém a heterogeneidade de resultados observados nos diferentes experimentos, conduzidos pelos autores listados na tabela acima, impõe a interpretação judiciosa destes dados.

A variabilidade em decorrência dos diferentes nichos em que os experimentos são conduzidos, é um fator capaz de influenciar nas proporções de isolamentos em gatos com e sem diarreia. Esta variabilidade, segundo a localização geográfica, é provavelmente decorrente de diferentes fatores, já estudados por outros autores, tais como: mecanismos de manutenção do agente no ambiente em mananciais aquáticos (KOENRAAD et al., 1997; BUSWELL et al., 1998); hábitos alimentares inerentes a cada região (ALTEKRUSE, 1998); fatores ligados a sazonalidade (EVANS, 1993); fatores de virulência das estirpes envolvidas, frente a resistência individual dos animais estudados (MACARTNEY et al., 1998) ; metodologia empregada para diagnóstico (MODOLO,2000); e condições higiênico-sanitárias em que vivem os gatos (FERNANDEZ& MARTIN, 1991).

Os totais de isolamentos para *Campylobacter* nos gatos com e sem diarreia, encontrados no presente trabalho, se inseriram nas faixas mencionadas por outros autores, citados no presente estudo.

O encontro de 7(7%), nos 100 gatos com diarreia, obtidos no presente estudo, é relativamente diferente dos dados encontrados por ORIST et al., 1982, (12,5% n=56); FOX et al., 1983, (14% n= 107); BURNENS et al., 1992, (11,6% n=197); BAKER et al., 1999, (25% n=12); MOSER et al., 2001, (58% n= 13); o que reforça a idéia de variabilidade nas proporções de *Campylobacter*, isoladas de gatos com diarreia, em decorrência das variações anteriormente citadas.

A eventualidade de 5% de isolamentos positivos nos 100 gatos sem diarreia, pesquisados no presente estudo, sugere que *Campylobacter* pode ser carregado por animais portadores sãos, à semelhança do que ocorre em humanos (GLASS et al., 1983). Estes achados, no presente estudo, são concordantes com os de FOX et al., 1983 (45% n= 56); GIFOORD et al. (1985), que isolaram o microrganismo *Campylobacter* em gatos sem apresentar quadro de diarreia ou quaisquer outros sintomas.

As técnicas de isolamento, empregadas no presente estudo, foram suficientemente sensíveis para a detecção dos agentes em questão, à semelhança do que foi encontrado por MONFORT et al., 1989. A semeadura em meio seletivo de Butzler deve ser complementada com as técnicas de filtração para otimizar o isolamento de cepas sensíveis aos antibióticos. Este procedimento é compartilhado por NACHAMKIN, 1997, que em revisão aos conceitos de isolamento de *Campylobacter*, pondera que a utilização de múltiplas técnicas e meios de cultura podem otimizar o isolamento deste gênero de microrganismos.

WEBER et al., 1983, relatam que a utilização de mais de uma técnica de semeadura pode auxiliar no isolamento de *Campylobacter*, a partir de amostras fecais de gatos.

6.2 Principais espécies de *Campylobacter* isoladas nos gatos com e sem diarreia e significado em saúde pública

Foram encontradas, no presente estudo, as seguintes freqüências de isolamentos para diferentes espécies de *Campylobacter*, a partir de gatos com diarreia (n=100) e sem diarreia (n=100), respectivamente: *Campylobacter jejuni* - 4% e 2%, *Campylobacter lari*- 0% e 2%, *Campylobacter upsaliensis*- 2% e 1% *Campylobacter coli* 1% e 0%. De acordo com os resultados encontrados, *Campylobacter jejuni* foi o agente mais freqüente entre as espécies isoladas no grupo de animais com diarreia; no grupo sem diarreia, a porcentagem de (2%) foi a mesma para *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter lari*. A distribuição das freqüências encontradas está de acordo com os dados relatados na literatura científica, que apontam para *Campylobacter jejuni* como uma das espécies mais freqüentes em gatos. Ela foi isolada em exclusividade por FOX et al., 1983, que reportam 14% isolamentos de *Campylobacter jejuni* de 107 gatos. Podem ser citados também o trabalho de BURNENS et al. (1992), que estudou amostras fecais de 203 filhotes de gatos, isolando 43 linhagens de *Campylobacter jejuni*.

Os resultados encontrados foram contraditórios com alguns dados de pesquisas científicas que têm reportado o isolamento de *Campylobacter upsaliensis* como mais freqüente que *Campylobacter jejuni* (MEHLE et al., 1989; FIGURA et al., 1991; BURNENS et al., 1992). Esta é a espécie de *Campylobacter* atualmente emergente no contexto mundial (BOURKE et al., 1998), pois é considerada patogênica para seres humanos(GOOSSENS et al., 1995).

As espécies *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter upsaliensis* e *Campylobacter lari*, que ocorreram nos gatos estudados, são considerados patogênicos para o homem (NACHAMKIN, 1997).

O encontro de *Campylobacter jejuni*, nos animais do presente estudo (4% e 2%), demonstra que os gatos podem atuar como portadores do agente para o homem, sendo responsáveis por parte dos casos humanos em nosso meio.

Apesar de ser considerada uma das espécies causadoras de gastroenterite em seres humanos (NACHAMKIN, 1997), o significado do isolamento de *Campylobacter lari* nos gatos não foi encontrado na literatura científica pesquisada, bem como o papel destes animais na transmissão zoonótica desta espécie. A prevalência total entre os gatos do presente estudo foi (2%). Este fato se repete, nos diversos dados, colhidos na literatura científica, que relatam a baixa frequência de isolamento deste agente, a partir de gatos.

Campylobacter coli é tido como uma espécie termofílica menos freqüente que *Campylobacter jejuni* em gatos, sendo isolado no presente estudo em apenas (1%) dos animais, portanto, é particularmente importante em suínos (SKIRROW, 1994). Porém por ser patogênico para seres humanos (NACHAMKIN, 1997), o seu encontro é relevante, no sentido de que o gato pode ser considerado fonte de infecção para seres humanos, apesar da baixa proporção de isolamento no grupo de animais estudados.

Vale ressaltar que vários casos de transmissão por gatos são descritos em crianças (BRUCE et al., 1980; SAFIELD & PUGH, 1987), fato que está também em consonância com os achados epidemiológicos para este agente nos países em desenvolvimento, que revelam proporções de isolamento significativamente maior em crianças (RAJAN & MATHAN, 1982).

No entanto, estudos têm demonstrado que seres humanos, em contato com animais com diarreia, apresentam maior risco de contraírem campilobacteriose do que pessoas não contactantes (SAFIELD & PUGH, 1987, FOX et al., 1983). Sendo assim, independente da presença ou não de diarreia, os gatos podem ser transmissores em potencial do microrganismo. Também BURNENS et al., 1992; MADEN et al., 1996), detectaram em gatos, estirpes de *Campylobacter* antigenicamente semelhantes a estirpes oriundas de seres humanos.

É recomendável, portanto, independentemente da etiologia da diarreia, que sejam priorizadas medidas que minimizem a possibilidade

de transmissão zoonótica de *Campylobacter* dos gatos enfermos para os seres humanos.

6.3 Sensibilidade a antimicrobianos

No que tange à sensibilidade das cepas de *Campylobacter* a antimicrobianos, observam-se resultados variados para os diferentes fármacos, à semelhança do que MODOLO et al., 1991 averiguaram. Esta variabilidade foi apontada por ABRAHANS et al., 1990, como importante marcador epidemiológico, podendo ser utilizada em investigações deste tipo.

As estirpes isoladas de gatos com diarreia e sem diarreia, foram marcadamente resistentes à cefalexina, com apenas 28,57% e 20% de sensibilidade à concentração 16 µm/ML nos respectivos grupos, encontrando nos mesmos, 100% de sensibilidade na concentração 128 µm/ML.

O cloranfenicol apresentou relativa variação entre os grupos de gatos estudados, nos animais diarreicos obteve-se sensibilidade a partir da concentração 2µm/ML (14,29%), variando até a concentração 16µm/ML (57,14%), apresentando 100% de sensibilidade na concentração 32µm/ML. No grupo dos animais sem diarreia, 20% das linhagens obtiveram sensibilidade na concentração 2µm/ML, variando até a concentração 8 µm/ml, onde 100%, de linhagens de *Campylobacter* foram sensíveis.

A nitrofurantoína apresentou variações dos padrões de resistência. No grupo dos animais com diarreia, obteve-se 28,57% de sensibilidade à concentração 1µm/ML, variando até 4µm/ML com 71,43%. No grupo dos animais sem diarreia, obteve-se 40% de sensibilidade na concentração 2 µm/ML e na concentração 16 µm/ML, apresentou 80% de sensibilidade. De acordo com MODOLO et al., (1991), em um estudo com 102 amostras, as estirpes isoladas foram sensíveis à gentamicina, à nitrofurantoína e à neomicina e resistentes à oxacilina e à penicilina.

A oxitetraciclina apresentou variações dos padrões de resistência. No grupo dos animais com diarreia, obteve-se 28,57% de sensibilidade à concentração 16 µm/ML, chegando com 57,14% de sensibilidade na concentração 32µm/ML. No grupo dos animais sem diarreia, obteve-se 20% de sensibilidade na concentração 0,5 µm/ML, e 60% à 16 µm/ML.

MONNET. 2000, estudaram as tendências da resistência em isolamentos de *Campylobacter*. Em 1999, 1% dos isolamentos de *Campylobacter jejuni*, obtidos a partir de galinhas, 13% de amostras de carne de galinha e 10% de amostras fecais humanas, foram resistentes à tetraciclina.

A gentamicina apresentou variações nas concentrações inibitórias, semelhantes para os dois grupos de animais, sendo todas as estirpes isoladas consideradas sensíveis nas concentrações de 0,5 µm/ML à 2µm/ML. Esta droga foi qualificada como a terceira mais eficaz para as estirpes isoladas no presente trabalho.

A enrofloxacinina apresentou variações entre os grupos dos animais com diarreia e sem diarreia (0,5-16µm/ML e 0,5-1µm/ML, respectivamente). Ela foi relativamente potente frente as estirpes de *Campylobacter* isoladas, em decorrência das baixas concentrações, onde (80%) das estirpes foram isoladas na concentração de 1µm/ML, conferindo desta forma, ser um potente antimicrobiano.

A eritromicina foi o antibiótico mais eficaz contra *Campylobacter*, sendo encontrada total suscetibilidade das estirpes isoladas nos dois grupos de animais estudados, frente a concentrações diminutas (0,06 – 0,125 µm/ML). Estes achados são corroborados por diversos pesquisadores que relatam a excelência deste antimicrobiano, contra *Campylobacter* (FOX et al., 1984; REINA et al., 1994; SKIRROW, 1994). Segundo MONNET. 2000, a resistência à eritromicina entre isolamentos de *Campylobacter coli* em porcos caiu quase 50%, de 1998 para 1999, provavelmente devido à remoção da tilosina, antibiótico utilizado como promotor de crescimento na produção de porcos .

ORIST, et al. (1982), estudaram 117 amostras de *Campylobacter jejuni*, isoladas de gatos, onde detectaram total sensibilidade à gentamicina, eritromicina, neomicina, cloranfenicol, tetraciclina, sensibilidade intermediária a ampicilina, penicilina e resistência ao trimetropin. Esta sensibilidade foi similar a obtida em estudos com seres humanos (BUTZLER et al. 1974).

Dada a heterogeneidade de resultados, observados nas referências pesquisadas, em comparação aos dados do presente estudo, é recomendável, sempre que oportuna, a realização de testes de susceptibilidade antimicrobiana para *Campylobacter*, objetivando fins terapêuticos.

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados desta pesquisa chegou-se às seguintes conclusões:

a) A diarreia não amplifica a excreção fecal de *Campylobacter* em gatos ($p>0,05$). Numericamente, a porcentagem de isolamentos em gatos com diarreia, foi observada como a mais freqüente, tais como o ocorrido em outros relatos.

b) No presente estudo, foi verificado que a espécie *Campylobacter jejuni*, foi a mais freqüente nos gatos com e sem diarreia. Encontrou-se a mesma proporção de isolamentos tanto para *Campylobacter jejuni* quanto para *Campylobacter lari*, sendo essa também, considerada uma das espécies causadoras de gastroenterite em seres humanos.

c) A análise do perfil de sensibilidade dos enteropatógenos estudados permite recomendar os seguintes fármacos para combatê-los contra as estirpes de *Campylobacter* isoladas de gatos – eritromicina, enrofloxacina e gentamicina.

***REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ABRAHANS, C.A., AGBODALE, D., NAKANO, T. et al. Prevalence and antibiogram of *Campylobacter jejuni* in domestic animals in rural Ghana. **Arch. Environ. Health**, v.45, p.59-62, 1990.

ALLOS, B. M. Association between *Campylobacter* infection and Guillain-Barré Syndrome. **J. Infect. Dis.**, v.176, p. 125-8, 1997.

ALTEKRUSE, S.F. *Campylobacter jejuni* in foods. **JAVMA**, v. 213, p. 1734-5, 1998.

ALTEKRUSE, S.F., et al. Food and animal sources of human *Campylobacter jejuni* infection. **JAVMA**, v.204, p. 57-61, 1994.

BAKER J., BARTON MD., LANSER J., *Campylobacter* species in cats and dogs in South Australia. **Aust. Vet. J.** v.77, n. 10, p. 662-6, 1999.

BARROW, G. L., FELTHAN, R.K.A.(Teds). **Cowan and Steel's manual for identification of medical bacteria**. Cambridge: University Press, 1993. 331p.

BLASER, M. J. Epidemiologic clinical features of *Campylobacter jejuni* infections. **J. Infect. Dis.**, v.176, p.103-5, 1997.

* UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. **Normas para *publicações da UNESP**. São Paulo: Editora UNESP, 1994. v.2: Referências Bibliográficas.

BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

- BLASER, M. J., POWERS, B.W., CRAVENS, J. et al. *Campylobacter enteritis* associated with canine infection. **Lancet**, p.979-81, 1978.
- BLASER, M. J., LA FORCE, F. M., NANCY, A. et al. Reservoirs for human *Campylobacteriosis*. **J. Infect. Dis.**, v. 141, p. 665-9, 1980.
- BENJAMIN, J., LEAPER, S., OWEN, R. J. et al. Description of *laridis*, a new species comprising the nalidixic acid resistant thermophilic *Campylobacter* (NARTC) group. **Curr. Microbiol.**, v.8, p.231-8, 1983.
- BOURKE, B., CHAN, V. L., SHERMAN, P. *Campylobacter upsaliensis*: waiting in the wings. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.11, p.440-9, 1998.
- BURNENS, A. P., WICK, B. A., NICOLET, J. Comparison of *Campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals. **J. Vet. Med.**, v. 39, p.175-90, 1992.
- BUTZLER, J. P., DEKEYSER, P., LA FONTAINE, T. **Antimicrobiol. Agents Chemother.**, v. 5, p. 86, 1974.
- BUTZLER, J. P., SKIRROW, M. B. *Campylobacter enteritis*. **Clin. Gastroenterol.**, v.8, p. 737-65, 1979.
- BUZBY, J.C., ALLOS, B.M., ROBERTS, T. The economic burden of *Campylobacter* associated Guillain-Barré syndrome. **J. Infect. Dis.**, v.176, p.192-7, 1997.

- BUSWELL, C.M.,HERLIHY, Y.M., LAWRENCE, L.M. et al. Extended survival and persistence of *Campylobacter spp.* In water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and RNA staining. **Appl. Envirom. Microbiol.**, v. 64, p. 733-41, 1998.
- BRUCE, D., ZOCHOWSKI, W. FLEMING, G.A. *Campylobacter* infections in cats and dogs. **Vet. Rec.**, v.107, p.200-1, 1980.
- CARTER, G.R., CHENGAPPA, M.M. *Campylobacter* and Helicobacter. In: CARTER G. R., CHENGAPPA MM, ROBERTS AW, et al. (Eds). **Essentials of veterinary microbiology**. 5 ed. Philadelphia: Williams and Wilkins, 1995. p. 184-8.
- CURRAN M., HARVEY, B., CREARAR, S., et al. Australia's notifiable disease status. **Comm. Dis. Intel** v. 21, p. 281-307, 1997.
- DAIKOKU, T., KAWAGUCHI, M., SUZUKI, S. Partial purification and characterization of the enterotoxin produced by *Campylobacter jejuni*. **Am. Soc. Microbiol.**, v.58, p.2414-9, 1990.
- DEKEYSER, P., GOSSUIN-DETRAIN, M., BUTZLER, J.P. et al. Acute enteritis due to related vibrio: first positive stool cultures. **J. Infect. Dis.**, v.125, p.390-2, 1972.
- DEMING, M. S., TAUXE, R. V., BLAKE, P. et al. *Campylobacter* enteritis at a university: transmission from eating chicken and from cats. **Am. J. Epidemiol.**, v.126 p.526-34, 1987.

- DENNIS, J.S., KRUGER, J.M., MULLANEY, T.P. Lymphocytic/plasmacytic colitis in cats: 14 cases (1985-1990). **JAVMA**, v.202, p.313-7, 1993.
- DOYLE, M.P., ROMAN, D. J. Prevalence and survival of *Campylobacter jejuni* in unpasteurized milk. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 44, p. 1154-8, 1982.
- EVANS, S. J. The seasonality of canine births and human *Campylobacteriosis*: A hypothesis. **Epidemiol. Infect.**, v. 110, p. 267-72, 1993.
- FERNADEZ, H. Família Campylobacteriaceae. In: TRABULSI, L.R., ALTERTHUM, F., GOMPERTZ, O.F. et al. **Microbiologia**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 1999. v.34, p. 255-62.
- FERNANDEZ, H., MARTIN, R. *Campylobacter* intestinal carriage among stray and pet animals. **Rev. Saúde Pública**, v. 25, p. 473-5, 1991.
- FERNADEZ, H., MARTIN, R. *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* resistentes a fluoroquinolonas em animais domésticos. **Arch. Méd. Vet.**, v. 28, n. 1, p. 151- 4, 1996.
- FERNANDEZ, H., KAILER, K., SALAZAR, R. et al. Prevalence of thermotolerant species of *Campylobacter* and their byotips in children and domestic birds and dogs in southern Chile. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 36, p.433-6, 1994.
- FIGURA, N. *Campylobacter spp.* isolated from dog faeces. **Lancet**, v.38, p.1403, 1991.

- FOX, J.G. *Campylobacter* Infections and Salmonellosis. **Semin. Vet. Med. Surg.**, v.06, p.212-8, 1991.
- FOX, J.G. Enteric bacterial infection: *Campylobacter* infection. In: GREENG, E.G. **Infectious diseases of the dog and cat**. 2.ed. Filadelfia : W. B. Saunder Company, 1998. Cap. 39, p. 226-35.
- FOX, J.G., MOORE, R., ACKERMAN, J. Canine and feline *Campylobacteriosis*: Epizootiology and clinical and public health features. **JAVMA**, v.183, p.1420-33, 1983.
- FOX, J.G., MAXWELL, K.O., ACKERMAN, J.I. *Campylobacter jejuni* associated diarrhea in commercially reared beagles. **Lab. Anim. Sci.** v. 34, p. 151-5, 1984.
- FOX, J.G., MAXELL, K. O., TAYLOR, N.S. et al. *Campylobacter upsaliensis* isolated from cats as identified by DNA relatedness and biochemical features. **J. Clin. Microbiol.**, v.27, p.2376-8, 1989.
- GLASS, R.I., STOLL, B., HUG, M. et al. Epidemiological and clinical features of endemic *Campylobacter jejuni* infection in Bangladesh. **J. Infect. Dis.**, v. 148, p. 292-6, 1983.
- GIFFORD, D. H., SHANE, S. M., SMITH, R. E. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in felidae in Baton Rouge, Louisiana. **Int. J. Zoonoses**, v.12, p.67-73, 1985.
- GOODMAN, L.A. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. **Ann. Math. Stat.**, v.35, p. 716-25, 1964.

- GOODMAN, L.A. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportions. **Technometrics**, v.7, p. 247-54, 1965.
- GOOSSEN, H., VLAES, L., DE BOECK, M. et al. Is *Campylobacter upsaliensis* an unrecognised cause of human diarrhoea. **Lancet**, v.335, p.584-6, 1990.
- GOOSSEN, H., VLAES, L., BUTZLER, J. *Campylobacter upsaliensis* enteritis associated with canine infections. **Lancet**, v.337, p.1486-7, 1991.
- GOOSSENS, H., GIESENDORF, B.A., VANDAMME, P. et al. Investigation of an outbreak of *Campylobacter upsaliensis* in day care centers in Brussels: analysis of relationships among isolates by phenotypic and genotypic typing methods. **J. Infect. Dis.**, v. 172, p. 1298-305, 1995.
- GUERRANT, R. L., SCHORLING, J. B., MC AULIFFE, J. F. et al. Diarrhea as a cause and effect of malnutrition: diarrhea prevents catchup growth and malnutrition increases diarrhea frequency and duration. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.42, p.28-35, 1992.
- HELMICK, C. G., GRIFFIN, P. M., ADDISS, D. S. et al. **Digestive diseases in the United States: epidemiology and impact.** Washington: US Department of Health and Human Services, 1994. p.85-123.
- HILL STEVEN L., CHENEY J. M., ALLEN, G. F., et al. Prevalence of enteric zoonotic organisms in cats. **JAMA**, v. 216, n. 5, p. 687-92, 2000.

- HOLT, J. G., KRIEG, N. R., SNEATH, P.H.A. et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Philadelphia: Willians &Wilkins, 1994. 799p.
- HOWEY, R.T., LOCK, C.M., MOORE, L.V.H. Subspecies names automatically created by rule 46. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 40, p. 317-19, 1990.
- HOPKINS, R. S., OLMSTED, R., ISTRE, G. R. Endemic *Campylobacter jejuni* infection in Colorado: identifica risk factors. **Am. J. Public Realib.**, v.74, p.249-50, 1984.
- J. SMALL ANIM. PRACT.** *Campylobacter Infection.*, v. 39, p.99-100, 1998.
- KAPPERUD, G., SKJERVE, N. H. BEAN., OSTROFF, S. M. et al. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infectious: results (a case-control study in southeastern Norway. **J. Clin. Microbiol.**, v.30, p.3117-21, 1992.
- KRIEG, N. R., HOLT, J.G. **Bergey's manual systematic bacteriology**. 9.ed. Baltimore: Willians and Wilkins, 1984. p.1268.
- KOENRAAD, P.M.F.J, ROMBOUITS, F.M., NOTERMANS,S.H.W. Epidemiological aspects of thermophilic *Campylobacter* in water related environments: A reviw. **Water Environ. Res.**, v.69, n.1, p. 52-63, 1997.

- JARAMILLO, H.F. **Espécies termofílicas de *Campylobacter*: aspectos bacteriológicos, epidemiológicos e patogênicos.** São Paulo, 1983. 144p. Tese (Doutorado)- Escola Paulista de Medicina.
- LANDER, K. P. *Campylobacter*. In: CONFERENCE HELD IN BRUSSELS, 1985, SURREY. **Proceedings of a conference held in Brussels 17 and 18 January 1985.** Surrey: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1985. 145 p.
- LASTOVICA, A. J., ROUX, E., JOOSTE, M. *Campylobacter upsaliensis* isolated from vervet monkeys. **Microb. Ecol. Health Dis.**, v.4, p.87, 1991.
- LAUWERS, S., HOFMAN, B., SEGHERS, M. et al. An outbreak of *Campylobacter upsaliensis* in a day care centre. **Microb. Ecol. Health Dis.**, v.4, p.90, 1991.
- LEDERLE, G. **Über das Vorkommers von vibrionen in duodenum des kables** 1963. (Dissertação) – fak. Tierarzte Muncchen.
- LUECHTEFELD, N. W., CAMBRE, R. C., WANG, W. L. Animal reservoirs of *Campylobacter jejuni*. In: NEWELL, D.G. (Ed). **Epidemiology, pathogenesis and biochemistry.** Boston: MTP Press, 1982.
- MACARTNEY, L., AL- MASHART, R., TAYLOR, D.J.MCCANDLISH, A. P. Experimental infection of dogs with *Campylobacter jejuni*. **Vet. Rec.**, v. 12, p. 245-9, 1998.

- MC DONOUGH, P. L., SIMPSON, K.W. Diagnosis emerging bacterial infections: *salmonellosis*, *campylobacteriosis*, clostridrial toxicosis, and helicobacteriosis. **Semin. Vet. Med. Surg. Small Anim.**, v.11, p. 187-97, 1996.
- MADEN, R. H., MORAN, L., SCATES, P. Sub-typing of animal and human *Campylobacter spp.* Using RAPD. **Lett. Appl. Microbiol.**, v.23, p.167-70, 1996.
- MANSER, P. A., DALZIEL, R. W. A survey of *Campylobacter* in animals. **J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.**, v. 95, p.15-21, 1985.
- MEHLE, J., KREN, M., MALI, M., et al. Studies on *Campylobacter* infection in dogs in Slovenia. **Veterinarstvo**, v.26, p. 187-93, 1989.
- MONNET, D.L. Antibiotic use and bacterial resistance. **Amn. Fr. Anesth. Reanim.**, v.19, p. 409-17, 2000.
- MONFORT, J.D., STILLS JR, H.F., BECH-NIELSEN, L. Comparison of broth enrichment and direct plating for the isolation of *Campylobacter jejuni* from dogs. **J. Clin. Microbiol.** v. 26, p.2246-7, 1989.
- MORENC, G. S., GRIFFITHS, P. L., CONNERTON, I. F. et al. Ocorrence of *Campylobacters* in small domestic and laboratory animals. **J. Appl. Bacteriol.**, v.75, p.49-54, 1993.
- MODOLO, J. R. The comparison of the Butzler medium, filtration technique and their association with isolation of *Campylobacter spp.* **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 33, p. 223-4, 2000.

- MODOLO, J. R., GOTTSCHALK, A. F., MORENO, G. et al. *Campylobacter* em case com e sem diarréia: incidência e susceptibilidade a 21 antimicrobianos. **Rev. Microbiol.**, v.22, p. 288-92, 1991.
- MOSER I., RIEKSNEUWOHNER, B. LENTZSCH, P. et al. Genomic Heterogeneity and O- Antigenic Diversity of *Campylobacter upsaliensis* and *Campylobacter helveticus* Strains Isolated from Dogs and Cats in Germany. **J. Clin. Microbiol.**, p. 2548-7, 2001.
- MURTAUGH, R.J., LAWRENCE, A. E. Feline *Campylobacter jejuni*-associated enteritis. **Feline Pract.**, v.14, p.38-42, 1984.
- NACHAMKIN, I. Microbiologic approaches for studying *Campylobacter* species in patients with Guillain-Barré syndrome. **J. Infect. Dis.**, v.176, p.106-14, 1997.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 3. ed. Wayne: NCCLS, (Document M7- A2) 1998.
- ORIST, S. MC., BROWNING, J.W. Carriage of *Campylobacter jejuni* in Healthy and Diarrhoeic Dogs and Cats. **Aust. Vet. J.**, v.58, p. 33-4, 1982.
- PATTON, C. M., SHAFFER, N., EDMONDS, P. et al. Human disease associated with *Campylobacter upsaliensis* (catalase-negative or weakly positive *Campylobacter* species) in the United States. **J. Clin. Microbiol.**, v. 27, p.66-73, 1989.

- PÉREZ-SCHAEL, I., DEHOLLAIN, P., PÉREZ, M. et al. Impacto de las enfermedades diarreicas en el estado nutricional del niño. **An. Ven Nutr.**, v.1, p.119-28, 1988.
- PRESCOTT, J. F., KARMALI, M. A. **Can. Med. Ass. J.** v. 119, p.1001, 1978.
- QUINN, P. J., CARTER, M. E., MARKEY, B. K. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Wolfe, 1994. 648 p.
- RAJAN, D. P., MATHAN, V. I. Prevalence of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in healthy populations in southern India. **J. Clin. Microbiol.**, v. 15, p. 749-51, 1982.
- REINA, J., ROS, M.J., SERRA, A. Susceptibilities to 10 antimicrobial agents of 1,220 *Campylobacter* strains isolated from 1987 to 1993 from feces of pediatric patients. **Anti. Agen. Chem.**, v.38, p. 2917-20, 1994.
- SALFIELD, N. J., PUGH, E. J. *Campylobacter enteritis* in young children living in households with puppies. **Br. Med. J.**, v.294, p.21-2, 1987.
- SANDSTEDT, K., URSING, J. Description of *Campylobacter upsaliensis* sp. Nov. previously known as the CNW group. **Systematic and Applied Microbiology**, v.14, p.39-45, 1991.
- SAENZ, Y., ZARAZAGA, M., LANTERO, M. et al. Antibiotic Resistance in *Campylobacter* Strains Isolated from Animals, Foods, and Humans in Spain in 1997-1998. **Antimicrob. Agentes Chemother.**, v. 44, n. 2, p. 267-71, 2000.

- SEBALD, M., VERON, M. Teneurs en bases de DNA et classifications des vibrions. **Ann. Inst. Pasteur**, v. 105, p. 897-910, 1963.
- STEINHAUSEROVA, I., FOJTIKOVA, K., KLIMES, J. The incidence and PCR detection of *Campylobacter upsaliensis* in dogs and cats. **Soc. Appl. Microbiol.**, v.31, p.209-12, 2000.
- SCARCELLI, E., GENOVEZ, M. E., CARDOSO, M.V. et al. Avaliação do Potencial de Disseminação de *Campylobacter spp* por Diferentes Espécies Animais. **Arq. Inst. Biol.**, v. 65, p. 55-61, 1998.
- SKIRROW, M. B. *Campylobacter enteritis*. A new disease. **Br. Med. J.**, v.2, p. 9-11, 1977.
- SKIRROW, M.B. National Institutes of Health Symposium on *Campylobacter* Infection. **Am. Soc. Microbiol**, v.11, 1991.
- SKIRROW, M. B. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and Related Bacteria . **J. Comp. Pathol.**, v.11, p. 113-49, 1994.
- SKIRROW, M. B., BENJAMIN, J. 1001 *Campylobacters*: cultural characteristics of intestinal *Campylobacters* from man and animals. **J. Clin. Pathol.**, v.85, p.427-442, 1980.
- SKIRROW, M. B., TURNBULL, G. L., WALKER, R.E. et al. *Campylobacter jejuni* enteritis transmitted from cat to man. **Lancet.**, p. 115, 1981.
- SMIBERT, R. M. The genus *Campylobacter*. **Ann. Rev. Microbiol.**, v.32, p. 673-709, 1978.

STEELE, T.W., OWEN, R.J. *Campylobacter jejuni* subsp. *doylei* subsp. nov., a subspecies of nitrate-negative *Campylobacters* isolated from human clinical specimens. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 38, p. 316-18, 1988.

SVEDHEM, A., NORKRANS, G. *Campylobacter jejuni* enteritis transmitted from cat to man. **Lancet**, v.29, p.713-4, 1980.

WEBER, A., LEMBKE, C., SAHAFFER, R. et al. Comparison of two selective media for isolation of *Campylobacter jejuni* from faecal samples of animals. **Zentralbl Veterinarmed**, v. 30, p. 175-9, 1983.

VERON, M., CHATELAIN, R. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* Sebald and Veron and designation of the neotype strain for the type species. *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor), Sebald and Veron. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v.23, p.112-34, 1973.

ANEXO

ANEXO

Meio seletivo de Butzler

Meio base (fórmula por 1000ML):

Água desmineralizada.....	800 ML
Tioglicolato de sódio (Difco®).....	23,8 g
Ágar bacteriológico (Merck®).....	12,5 g
sangue bovino HEPARINIZADO.....	200 ML

Mistura antimicrobiana / fórmula por 5 g (BNCCC-CECON®)

Bacitracina.....	25000UI
Colistina.....	10000UI
Novobiocina.....	5000 mcg
Cefazolina.....	15000mcg
Ciclohexamida.....	5000 mcg

O meio base foi autoclavado a 121°C por 15 minutos, resfriado a 55°C, e acrescido do sangue bovino e da mistura antimicrobiana. Após homogeneização, o meio fundido foi distribuído à razão de 20 ML por placa de Petri.

Ágar tioglicolato enriquecido com sangue

Meio base (fórmula por 1000 ML):

Água desmineralizada	800 ML
Tioglicolato de sódio (Difco®).....	23,8 g
Ágar bacteriológico (Merck®).....	12,5 g
Sangue bovino heparinizado.....	200 ML

O meio base foi autoclavado a 121°C por 15 minutos, resfriado a 55°C, e acrescido do sangue bovino. Após homogeneização, o meio fundido foi distribuído à razão de 20 ML por placa de Petri.

Meio de Tarozzi

Meio base (fórmula por 100 ML):

Água desmineralizada.....	100 ML
NaCl (Merck®).....	5 g
Peptona (Merck®).....	10 g
Extrato de carne (Merck®).....	10 g
Ágar bacteriológico (Merck®).....	0,8 g

Após aquecimento do meio base em banho-maria, o ph foi ajustado para 7,2-7,4 com solução de NaOH 1N. A seguir, o meio foi distribuído em tubos de ensaio 16 x 180mm contendo uma fração de fígado bovino. Posteriormente, o meio foi autoclavado a 121°C, por 15 minutos.

Meio contendo NaCL a 1%

Meio base (fórmula por 1000 ML de meio):

Água desmineralizada.....	1000 ML
Tioglicolato de sódio (Difco®).....	29,8 g
NaCL (Merck®).....	10 g

Após aquecimento do meio base em banho-maria, o ph foi ajustado para 7,2-7,4 com solução de NaOH 1N. A seguir, o meio foi distribuído em tubos de ensaio de 16x180 mm e, posteriormente, autoclavado a 121°C, por 15 minutos.

Meio com cisteína para detecção da produção de H₂S

Meio base (fórmula por 250 ML de meio):

Água desmineralizada.....	250 ML
NaCl (Merck®).....	1,25 g
Peptona (Merck®).....	5 g
Tioglicolato de sódio (Difco®).....	29,8 g
Cisteína.....	0,05 g

Após aquecimento do meio em banho-maria, o pH foi ajustado para 7,2 - 7,4 com solução de NaOH 1n. A seguir, o meio foi distribuído em tubos de ensaio de 16x180 mm e, posteriormente, autoclavado a 121°C, por 15 minutos.

Meio contendo glicina a 1%

Meio base (fórmula por 1000 ML de meio):

Água desmineralizada.....	1000 ML
Tioglicolato de sódio (Difco®).....	29,8 g
Glicina.....	10 g

Após aquecimento do meio base em banho-maria, o pH foi ajustado para 7,2-7,4 com solução de NaOH 1N. A seguir, o meio foi distribuído em tubos de ensaio de 16x180 mm e, posteriormente, autoclavado a 121°C, por 15 minutos.

Meio 2'3'5 cloreto de trifeniltetrazólio (TTC)

Meio base (fórmula por 250 ML de meio):

Água desmineralizada.....	250 ML
Ágar sangue (Óxoid®).....	10 g
TTC.....	2,5 g
Sangue bovino heparinizado.....	17,5 ML

O meio base foi autoclavado a 121°C por 15 minutos, resfriado a 55°C, e acrescido do sangue bovino. Após homogeneização, o meio fundido foi distribuído à razão de 20 ML por placa de Petri.

Solução de Ninhidrina

Fórmula por 10 ML de solução:

N-butanol (Merck®).....	5 ML
Acetona (Merck®).....	5 ML
Ninhidrina (Merck®).....	0,35 g

A solução foi preparada somente no momento do uso.

Solução de hipurato de sódio

Fórmula por 100 ML de solução:

Água desmineralizada.....	100 ML
Hipurato de sódio.....	1 g

A solução preparada foi distribuída em alíquota de 0,4 ML em microtubos de 1,5 ML e armazenada a -20°C até o momento do uso.