

Potencial impacto na Saúde Pública por *Campylobacter* spp. Estudo de caso: curso inferior do rio São João, RJ, Brasil

Potential Public Health impact of *Campylobacter* spp. Case study: lower course of São João river, RJ, Brazil

Wagner Thadeu Cardoso Esteves¹, Aldo Pacheco Ferreira², Salvatore Siciliano³

Resumo

O estudo investigou a presença de *Campylobacter* spp. em amostras de água do baixo curso do rio São João (RJ) e na água de abastecimento da população local, poços, e fezes de voluntários. No processo de isolamento e identificação, realizou-se a análise fenotípica e genotípica, nas quais foram caracterizadas as seguintes espécies: *Campylobacter jejuni* (50%), *Campylobacter coli* (21,43%) e *Campylobacter* spp. (28,57%). O alto índice de isolamento de *Campylobacter* no rio São João indicou a contaminação por essa bactéria e sua possível manutenção natural no ambiente. A não detecção da bactéria na água distribuída pela rede pública sugeriu efetividade no processo de tratamento, já que a água é retirada da lagoa de Juturnaíba, um dos pontos que apresentou maior percentual de positividade para esse gênero dentro do estudo. Políticas públicas e ações de saneamento representarão a melhoria da qualidade de vida da população da área de estudo.

Palavras-chave: *Campylobacter*, poluição da água, saúde pública

Abstract

The study investigated the presence of *Campylobacter* spp. in water samples in the lower course of São João river (RJ, Brazil) and in the water supply for local population, wells, and volunteers' feces. Phenotypic and genotypic analysis were carried out in the process of isolation and identification, in which the following species were characterized: *Campylobacter jejuni* (50%), *Campylobacter coli* (21.43%) and *Campylobacter* spp. (28.57%). The high rate of *Campylobacter* isolation in São João river indicated the contamination by this bacteria and its possible retention in the natural environment. The failure to detect bacteria in the water public network suggested effectiveness in treatment process, since the water is removed from Juturnaíba lagoon, one of the points with higher positivity rates for this genus within the study. Public policy and sanitation activities may represent an improvement in quality of life of the study area.

Key words: *Campylobacter*, water pollution, public health

¹ Mestre em Saúde Pública e Meio Ambiente pela Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). End.: Laboratório de Zoonoses Bacterianas do Departamento de Bacteriologia da Fundação Oswaldo Cruz. Avenida Brasil, 4.365 - Manguinhos - CEP: 21040-970 - Rio de Janeiro (RJ) - Brasil - E-mail: wthadeu@ioc.fiocruz.br

² Doutor em Engenharia Biomédica pela COPPE Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); Pesquisador do Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca da Fiocruz.

³ Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia) pela UFRJ; Pesquisador do Departamento de Endemias Samuel Pessoa da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca da Fiocruz.

Introdução

As infecções causadas por *Campylobacter* spp. têm sido relatadas como uma das mais frequentes causas de gastroenterites em vários países do mundo. As espécies bacterianas termofílicas pertencentes ao gênero *Campylobacter*, principalmente *Campylobacter jejuni*, representam, nos dias de hoje, um dos mais importantes enteropatógenos para a Saúde Pública, principalmente, nos países desenvolvidos (Allos & Blaser, 1995; Rohner *et al.*, 1997). Essas espécies são amplamente isoladas de animais homeotermos, e a maioria das infecções por *Campylobacter* spp. possui caráter zoonótico; no entanto, há apenas duas décadas a campilobacteriose foi reconhecida como zoonose. Desde então, uma série de estudos vem sendo conduzida e, embora a maioria dos casos seja relacionada a sintomas limitados à diarreia, uma seqüela severa representada por polineuropatia desmielinizante inflamatória aguda, a síndrome de Guillian-Barré, pode ocorrer (Duum *et al.*, 2000).

A promoção do acesso à água de qualidade e a proteção contra os riscos decorrentes dos contaminantes de importância e repercussão na saúde pública presentes na água são de grande relevância para a humanidade (Lehtola *et al.*, 2006; Fernandes-Neto & Ferreira, 2007). Nesse aspecto, o Conselho Nacional de Saúde apresenta à sociedade brasileira os maiores desafios atuais para o Sistema Único de Saúde (SUS): estruturação do novo modelo de atenção à saúde que, a partir da grande função de Saúde Pública, subordine os conceitos e programas de assistência médica individual aos preceitos e programas dos interesses coletivos e direitos da cidadania, e realize, efetivamente, as ações de promoção e proteção da saúde (Tucci *et al.*, 2000; Conselho Nacional de Saúde, 2002; Soares & Ferreira, 2004).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 85% das doenças conhecidas são de veiculação hídrica, ou seja, estão relacionadas à água. O agravo em saúde, mais comumente associado à água contaminada por esgotos, é a gastroenterite, que pode levar principalmente as crianças à desidratação (Scarcelli *et al.*, 1998). Destaca, ainda, o fato do *C. jejuni* ser o agente mais frequentemente relatado nos casos de gastroenterite em seres humanos nos países desenvolvidos.

Sua presença remete à diarreia aguda com cólicas abdominais, e pessoas de todas as idades podem ser afetadas pela doença. *C. jejuni* e *Campylobacter coli* são as espécies de maior importância dessas enfermidades em humanos e estão associadas a quadros esporádicos de diarreia. A doença tem a duração de dois a cinco dias, podendo, em alguns indivíduos, apresentar sintomas até o décimo dia de infecção. Todavia, como o contato entre as pessoas e as fontes de contaminação são pouco frequentes, não há o desenvolvimento precoce da imunidade, levando os pacientes a quadros graves de gastroenterite aguda quando ocorre o primeiro contato (Butzler, 2004).

Há relatos demonstrando a presença de *Campylobacter* spp. em fezes de indivíduos com diarreia aguda ou crônica e até em indivíduos assintomáticos, observando-se que a incidência nos quadros diarreicos tem variado entre 2,3% a 17,0%, dependendo da faixa etária e das condições socioeconômicas dos pacientes (Ruiz-Esquide *et al.*, 2003; Butzler, 2004). Outras ocorrências de surtos por *Campylobacter* estão associadas ao consumo de água não tratada ou contaminada por fezes humanas ou de animais.

A água representa um poderoso meio de veiculação de espécies de *Campylobacter*, ainda que esse ambiente se apresente, via de regra, inóspito para a bactéria (Allos & Taylor, 1998; Frost, 2001). Porém, cabe ressaltar que a simples presença desse microrganismo em tal *habitat* pode ser utilizada como indicador biológico de contaminação fecal recente, já que o tempo de sobrevivência desta bactéria em tal ambiente é menor que indicadores bacterianos usuais (Jones, 2001).

Sistemática taxonômica

O gênero *Campylobacter* foi proposto em 1963 por Sebald e Véron para uma bactéria conhecida pelo nome de "*Vibrio fetus*". Em 1973, Véron e Chatelain incluíram no gênero *Campylobacter* novas espécies e, em função de suas características fenotípicas, elas foram repartidas em 3 grupos:

- os campilos catalase positivos e H₂S negativos (*Campylobacter fetus* subsp. *fetus* e *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*);
- os campilos catalase positivos e H₂S positivos (*C. coli* e *C. jejuni*);
- os campilos catalase negativos (*Campylobacter sputorum* subsp. *bubulus* e *Campylobactersputorum* subsp. *sputorum*).

O gênero *Campylobacter* constitui com os gêneros *Arco-bacter*, *Dehalospirillum* e *Sulfurospirillum*, a família da *Campylobacteraceae* colocada na classe *Epsilonproteobacteria* (filo das "*Proteobacteria*", domínio ou império das "*Bacteria*" ou das "*Eubacteria*").

Gênero *Campylobacter*: características gerais

O gênero *Campylobacter* é constituído de bastonetes Gram-negativos, encurvados, em forma de S ou de forma espiralada, não esporulado com 0,2 a 0,5 µm de diâmetro de largura e 0,5 a 5,0 µm de comprimento; podem apresentar formas cocoides nos cultivos velhos; geralmente são muito móveis (movimento de cambalhotas) graças a um flagelo localizado em uma ou nas duas extremidades da célula; quimiorganotróficos; têm metabolismo respiratório; são incapazes de utilizar açúcares (nem oxidação nem fermentação); apresentam oxidase posi-

tivos, catalase variáveis; não hidrolisam a gelatina nem a ureia (com exceção às linhagens atípicas do *Campylobacter lari* e linhagens do *Campylobacter sputorum* biovar *Paraureolyticus*)

e são desprovidos de lipase. As características principais que permitem diferenciar as espécies do gênero *Campylobacter* estão contidas no Quadro 1.

Quadro 1 - Características principais que permitem diferenciar as espécies do gênero *Campylobacter*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>C. canadensis</i>	d	+	-	-	d	d	-	+			d	
<i>C. coli</i>	+	+	-	+	-	d	-	+	+	(+)	(+)	+
<i>C. concisus</i>	-	d	-	-	-	-	-	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>C. curvus</i>	-	+	(-)	d	-	(-)	-	d	-	-	+	(+)
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	+	+	-	-	-	-	+	(+)	+	+	+	+
<i>C. fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	(+)	+	-	-	-	-	(+)	-	+	(+)	(-)	(-)
<i>C. gracilis</i>	(-)	-	-	(+)	-	-	-	(+)	-	-	+	+
<i>C. helveticus</i>	-	+	-	+	-	-	-	+	+	d	d	-
<i>C. hominis</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	d	d	+	-
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i>	+	+	-	-	-	+	(-)	+	+	(+)	+	(+)
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i>	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	(-)	-
<i>C. insulaenigrae</i>	+	+	-	-	_*	-	-	-			+	
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>doylei</i>	(+)	+	+	+	-	-	-	-	+	-	(-)	(+)
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+	(+)	(+)	+
<i>C. lanienae</i>	+	+	-	-	-	-	-	+			-	
<i>C. lari</i>	+	+	-	(-)	d	-	-	+	+	+	+	(-)
<i>C. mucosalis</i>	-	+	-	-	-	+	-	+	(+)	(+)	d	-
<i>C. rectus</i>	(-)	+	-	+	-	-	-	(-)	-	-	+	-
<i>C. showae</i>	+	d	-	d	-	d	-	d	-	-	d	-
<i>C. sputorum</i>	d	+	-	-	_**	+***	-	(+)	d	d	+	-
<i>C. upsaliensis</i>	-	+	-	+	-	-	-	(+)	+	+	+	d

Fonte: Allos & Taylor, 1998.

Legenda: 1. Catalase; 2. Oxidase; 3. Hidrol do hipurato; 4. Indoxil acetato esterase; 5. Uréase; 6. H₂S (TSI); 7. Crescimento a 25°C; 8. Crescimento a 42°C; 9. Crescimento na presença de 1,5% de bile; 10. Crescimento na presença de 2% de bile; 11) Crescimento na presença de 1% de glicina; 12. Crescimento na presença de 0,1 % de permanganato de potássio.

Levando em conta os trabalhos anteriores e considerando a avaliação sanitária como parâmetro de qualidade de uma bacia hidrográfica, neste trabalho foi pesquisado *Campylobacter* spp. como possível indicador de degradação hídrica do rio São João, em amostras de água do rio, na água de abastecimento e em amostras obtidas de indivíduos voluntários, com ou sem quadro de diarreia, que procuraram atendimento nos serviços de saúde da localidade ou frequentadores de estabelecimentos, como associações de moradores e entidades privadas de serviço a população.

■ Métodos

Caracterização do sítio de estudo: bacia do rio São João

O rio São João inicia sua jornada a 800 m de altitude, no município de Cachoeiras de Macacu, num ramo da Serra do Mar conhecida por Serra do Sambê. Apresenta as coordenadas de 22° 20' e 22° 50' de latitude sul e 42° 00' e 42° 40' de longitude oeste, compreendendo uma superfície de 2.160 km². Seu curso é de 120 km, indo desaguar no oceano em Barra de São João, Cabo Frio (RJ). O rio São João apresenta-se do seguinte modo:

- alto São João: das nascentes, no trecho de montanha, até ingressar na planície, com 5 km;
- médio São João: ingressa na planície até a represa de Juturnaíba, com 50 km;
- represa de Juturnaíba: onde cerca de 13 km de leito estão submersos;
- baixo São João: da barragem até a foz, com 65 km (Figura 1).

Amostras

Foram analisadas amostras de fezes, água do rio São João e água de abastecimento público, obtidas no período de agosto de 2007 a junho de 2008.

Coleta e análise de amostras humanas

Para a coleta de amostras de fezes foram feitos contatos prévios com dois Postos de Saúde, duas unidades do Programa de Saúde da Família (PSF), uma associação de serviços à comunidade e duas creches. Todas essas instituições se localizam na região do entorno da foz do rio São João, no período do presente estudo. Dispositivos do tipo *swab* com meio de transporte Cary-Blair (conservante) foram usados para a obtenção das amostras fecais. Entre a coleta e o processamento do material, o tempo transcorrido não ultrapassou um período total de uma semana, evitando-se, assim, a perda de viabilidade dos micro-organismos presentes na amostra.

A semeadura foi realizada em placa de Petri com o mesmo meio de cultura usado para o isolamento em amostras de água. O único diferencial entre as duas técnicas de processamento das amostras foi o inóculo do material, que, nesse caso, foi realizado com o próprio *swab*, apoiado em uma das extremidades da placa, seguindo-se, então, a semeadura em "T", feita com alça bacteriológica.

Coleta e análise de amostras ambientais

Para a análise de amostras de água, originárias do rio e da água de abastecimento, foram coletadas 200 mL em frascos estéreis, acondicionados sob refrigeração em caixa térmica,

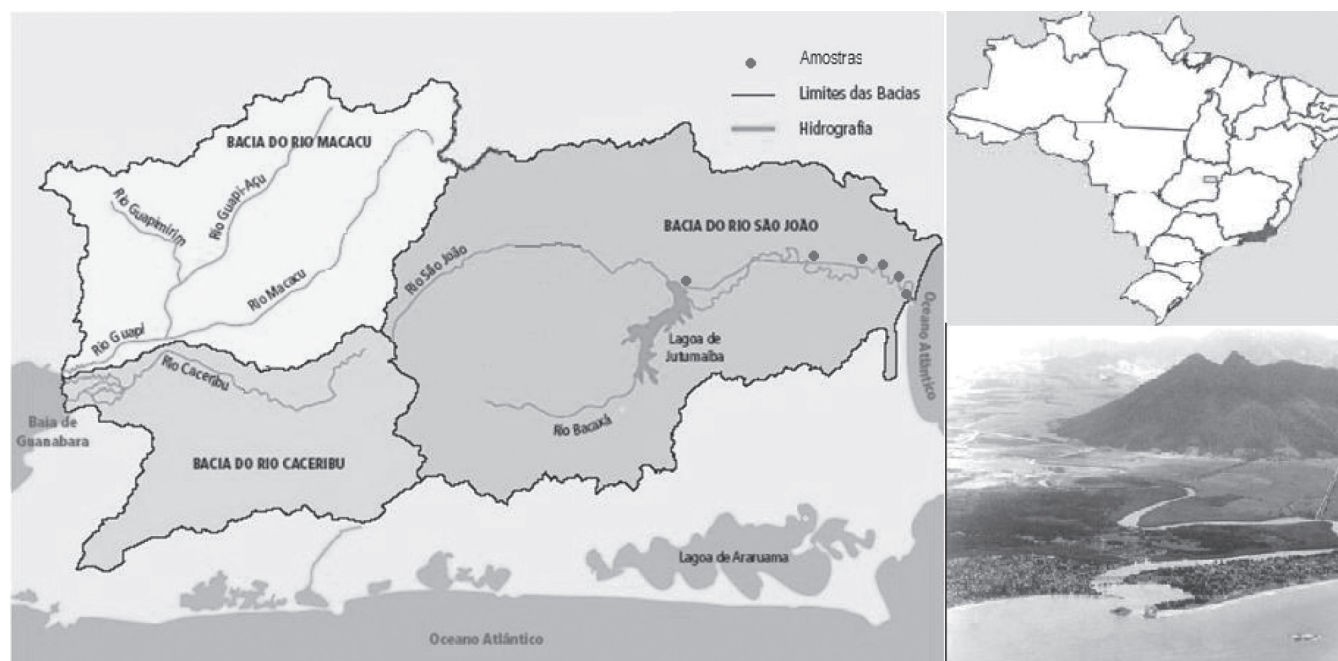


Figura 1 - Bacia do rio São João e Morro São João, Rio de Janeiro.

até o momento do processamento, que não excedeu seis horas entre a coleta e o processamento.

No laboratório, o material foi centrifugado em tubos de centrifuga estéreis do tipo FALCON[®] a 3000 rpm por 30 minutos a 4°. O *pellet* foi semeado em placas de Petri contendo meio enriquecido e seletivo de Agar Columbia com 5% de sangue desfibrinado de carneiro ou 0,4% de carvão ativo, acrescido de 5% de uma solução redutora de oxigênio (FBP) e 0,5% de uma solução de antibióticos. Após a semeadura, as placas de Petri foram colocadas em jarra metálica hermética com atmosfera de microaerofilia (Probac do Brasil) e incubadas a 37°C por 72 a 96 horas. A leitura do crescimento foi realizada após o período de incubação, quando colônias sem cor, transparentes e com brilho, lembrando gotas d'água foram selecionadas como sendo suspeitas de *Campylobacter* spp. (Andrade *et al.*, 2007).

A partir das colônias suspeitas, a identificação em caráter presuntiva foi realizada por microscopia em lâminas com esfregaço das colônias fixadas e utilizando-se o método de Gram. A observação foi realizada em microscópio de luz (campo claro), para a observação das características celulares típicas do gênero bacteriano. A identificação presuntiva das amostras é obtida pela observação de bacilos (bastonetes) curvos ou em forma de "S", Gram-negativos ou pela presença de células cocoides, características de amostras em estágio degenerativo (Montolio *et al.*, 2005).

As amostras de colônias típicas, que se desenvolveram nos meios seletivos e que se enquadraram como suspeitas de *Campylobacter* spp., foram, então, submetidas a provas bioquímicas clássicas para a confirmação de gênero bacteriano e identificação ao nível de espécie (Filgueiras & Hofer, 1989).

Análises de biologia molecular

Utilizaram-se análises de biologia molecular para a confirmação dos resultados obtidos na metodologia clássica ou nos casos de eliminação de dúvidas de identificação, nos quais cepas controle de *C. jejuni* e *C. coli* foram incluídas em todos os testes como controles positivos. Em todas as amostras com isolamento

de *Campylobacter*, obteve-se quantidade suficiente de material a partir da massa de crescimento bacteriano após semeadura em Agar Columbia, para aplicar a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), Multiplex (Vilardo *et al.*, 2006).

A extração e a purificação do DNA total foram realizadas por métodos clássicos e por kits comerciais seguindo seus protocolos próprios; posteriormente foram executadas as técnicas de PCR e eletroforese em gel de agarose. Algumas colônias provenientes do crescimento já descrito, em placas de meio de Ágar Columbia, foram ressuspensas em 100 µL de tampão estéril TE (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 8,0), a fim de obter 2 x 10⁹ células por mL (Englen & Kelley, 2000).

Para a extração do DNA bacteriano, foram aplicados dois diferentes métodos com o intuito de avaliar qual deles era o mais eficiente: extração pela guanidina e utilizando o kit de extração GenomicPrep[™] Cells and Tissue DNA Isolation (Roche Diagnostics Corp.).

PCR

O DNA extraído foi submetido ao PCR por meio de amplificação em um termociclador automático (PTC 150, MJ Research, Incorporation). Os iniciadores (*primers*) utilizados foram definidos com base em sequências conhecidas e utilizadas para os microrganismos de interesse (Tabela 1).

Após a reação de PCR, 10 microlitros de todos os produtos amplificados e 7 microlitros de um marcador de peso molecular de 100 pb (*invitrogen*) foram analisados por meio de eletroforese em gel de agarose a 1,0%. Após a etapa de corrida (TBE 0,5x), o gel foi corado com solução de brometo de etídio (Sigma, St. Louis, IL, EUA) na concentração de 0,5 mg/mL, descorado em água e observado em sistema de transiluminação (Sambrook *et al.*, 2001). A fotografia digital do gel e das bandas de DNA separadas eletroforicamente foi realizada em aparelho tipo Gel Doc UVP GDS 7.500 (Gel Documentation System, Califórnia, EUA).

Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob o número 190/2008 da Escola Nacional de Saúde Pública. Todos os

Tabela 1 - *Primers* usados para reação em cadeia da polimerase neste estudo

Nomenclatura dos Primers	Sequência dos oligonucleotídeos	Gene
pg3	(5'- GAACTTGAACCGATTTG - 3')	<i>flaA</i>
pg50	(5'- ATGGGATTTTCGTATTAAC - 3')	<i>flaA</i>
C1	(5'- CAAATAAAGTTAGAGGTAGAATGT-3')	Não-determinado
C4	(5'-GGATAAGCACTAGCTAGCTGAT - 3')	Não-determinado
C412F	(5'-GGATGACACTTTTCGGAGC-3')	16S rRNA
C1288R	(5'-CATTGTAGCACGTGTGTC-3')	16S rRNA
F2B	(5'-TGGAGGGTAATTTAGATATG-3')	<i>cadF</i>
R1B	(5'-CTAATACCTAAAGTTGAAAC-3')	<i>cadF</i>

Tabela 2 - Características do material de origem fecal humano analisado

Número total de amostras	Grupo etário		Sexo		Diarreia		Resultado	
	< de 18 anos	≥ de 18 anos	M	F	Sim	Não	Positivo	Negativo
55	26	29	26	29	14	41	2	53

M: masculino; F: feminino.

sujeitos receberam informações sobre a pesquisa, tendo assinado o formulário do consentimento informado antes de participar e tiveram assegurados o anonimato e a confidencialidade.

Resultados

A pesquisa totalizou 110 amostras, englobando material de origem fecal e água.

Amostras de material de origem fecal

De um total de 55 amostras de material de origem fecal, foram positivas *Campylobacter* 2 amostras, confirmadas pela metodologia clássica e pelas provas moleculares, ambas de indivíduos do sexo feminino, sem diarreia, maiores de 18 ano, que frequentavam a mesma associação de moradores do local. Foram encontradas duas diferentes espécies de *C. coli* e *C. jejuni*. A Tabela 2 apresenta as características do grupo de humanos trabalhado.

Amostras de água

De um total de 55 amostras de água – 51 amostras do rio São João, 2 amostras de poço artesiano domiciliar, 1 amostra de reservatório de água de chuva (Prefeitura de Barra de São João) e 1 amostra de caixa d'água (Prefeitura de Barra de São João –, foram positivas para *Campylobacter* 22 amostras, das quais, 21 eram do rio São João e uma amostra de poço, comprovadas pelas provas morfotintoriais e bioquímicas.

Entre os isolados gerais de todas as fontes pesquisadas, obtiveram-se 24 amostras positivas, das quais 12 foram agrupadas na espécie *C. jejuni*, 4 amostras na espécie *C. coli* e 8 amostras agrupadas no gênero *Campylobacter* spp.

Após a caracterização bioquímica clássica, as amostras foram submetidas às extrações químicas por meio da guanidina e da precipitação dos sais (kit GFX – GE *health care*), evidenciando os dois métodos boa eficácia na qualidade do DNA extraído.

Para a pesquisa molecular associada ao gênero, utilizaram-se *primers* que amplificam um fragmento de 816-pb somente encontrado nas espécies de *Campylobacter* urease positivos termotolerantes (UPTC) e *Ureolyticus*: C412F, 5'-GGATGACACTTTTCGGAGC-3' e C1288R, 5'-CATTGTAGCACGTGTGTC-3' (Figura 2). As amostras 1, 10, 11, 12 e 14 evidenciaram a variável testada.

As Figuras 3A e B apresentam o resultado em gel de agarose a 1% feito com os produtos do multiplex PCR com os *primers* associados as espécies *C. coli* e *C. jejuni*. Pg3 (5'- GAACTTGAACCGATTG - 3'), pg50 (5'-ATGGGATTCGTATTAAC-3'), C1 (5'-CAAATAAAGTTAGAGGTAGAATG T-3'), C4 (5'-GGATAAGCACTAGCTAGCTGAT- 3'). Na Figura 3A, as amostras 4, 5, 6, 7, 8, 10 e 15 são identificadas como *C. jejuni*. Na Figura 3B, a amostra 12 é identificada como *C. coli* e as amostras 13 e 14 identificadas como *C. jejuni*.

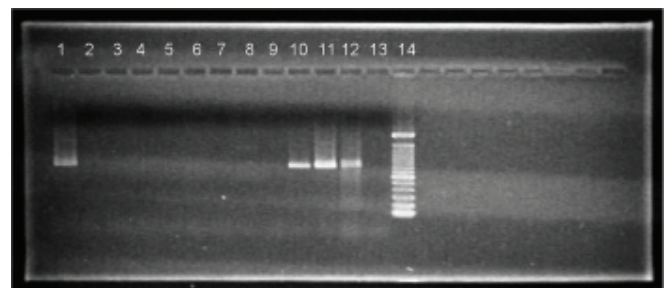


Figura 2 - Gel da reação em cadeia da polimerase realizado com os *primers* de gênero

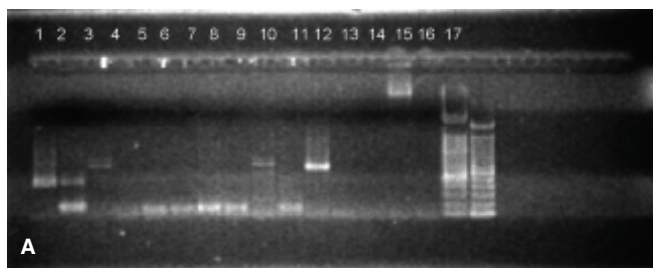


Figura 3 – (A). Géis de agarose apresentando o resultado da reação em cadeia da polimerase com os *primers* associados à diferenciação das espécies; (B) géis de agarose apresentando o resultado da reação em cadeia da polimerase com os *primers* associados à diferenciação das espécies

■ Discussão

Em relação às amostras d'água, das 51 amostras coletadas no rio São João, 21 foram positivas para *Campylobacter*, perfazendo um alto percentual (41,17%). Esses dados se contrapõem a Carlier (1994), que afirma não ser fácil o isolamento de *Campylobacter* do ambiente devido às suas exigências metabólicas, mas corrobora outros autores que já realizaram esse tipo de isolamento (Filgueiras & Hofer, 1989; Filgueiras, 1992).

Quanto aos resultados de biologia molecular, a avaliação morfofotointorrial e as análises bioquímicas propiciaram a identificação clássica de 28 isolados de *Campylobacter* spp. do total de 110 amostras coletadas.

Testes rápidos para *Campylobacter* spp. podem contribuir na identificação, porém não substituem as técnicas de cultivo microbiológico, pois o isolamento dos organismos ainda é necessário para a sorotipagem e a determinação de perfis de resistência para estudos epidemiológicos. Contudo, na rotina, para diagnósticos de base, as técnicas moleculares devem ser consideradas, pois permitem a análise de um grande número de amostras em um período de tempo relativamente curto.

O gênero *Campylobacter*, apesar de já ter sido descrito há mais de quatro décadas e contar com inúmeros trabalhos publicados relatando sua importância como patógeno humano e animal, ainda não teve o destaque necessário em nosso meio (Jones, 2001; Butzler, 2004). Esse panorama provavelmente decorre do discreto número de grupos de pesquisa envolvidos sua pesquisa nos laboratórios de análises clínicas, além da não obrigatoriedade de notificação dos casos diagnosticados de campilobacterose às instituições estatais de saúde. Entretanto, convém destacar que a ocorrência e a relevância de *Campylobacter* no território brasileiro não é fato recente, já tendo sido demonstrado em publicações anteriores (Lee *et al.*, 1984; Filgueiras & Hofer, 1989; Filgueiras, 1992; Cunha *et al.*, 2005).

A ausência de sintomas diarreicos nos habitantes locais pode estar ligada a contato precoce e frequente com o microrganismo, o que pode gerar imunidade adquirida ainda na infância, possibilitando quadros leves ou assintomáticos na idade adulta (Tosin & Machado, 1995). A questão fundamental em termos de saúde pública está associada à melhoria das condições sanitárias dessa população, prevenindo-se esse tipo de condição, que favorece o contato e a consequente infecção por agentes bacterianos patogênicos (Alary & Nadeau, 1990; Bordalo *et al.*, 2002).

Quanto às amostras fecais, a partir de conversas com moradores da região do entorno dos pontos de coleta, foi evidenciada a ocorrência de alguns episódios diarreicos na localidade. Todavia, não foram isoladas cepas de *Campylobacter* de indivíduos diarreicos. Provavelmente, os indivíduos com sintomatologia diarreica, ou estavam acometidos por outros microrganismos enteropatógenos ou esse agravo estava associado a distúrbios alimentares.

Um fato observado durante o processamento das amostras de origem ambiental foi que os microrganismos presentes nas amostras demoraram um tempo muito maior para se desenvolver nos meios de cultura clássicos do que as bactérias provenientes das amostras de animais e humanos. Nesses isolamentos, foi necessário aguardar até 96 horas para obtenção de crescimento em placa enquanto que, em amostras de fezes, houve crescimento em 48 horas.

Dentre as dificuldades que envolvem a pesquisa de *Campylobacter* podem-se destacar as próprias características biológicas desse microrganismo, que o torna particularmente distinto da maioria dos enteropatógenos bacterianos, requerendo condições únicas para seu isolamento e identificação. Por essa razão, admite-se que a pequena casuística de *Campylobacter* em enterites no território nacional esteja relacionada não só à carência de investigação, mas também ao seu cultivo inadequado.

A campilobacteriose, apesar de pouco estudada, pode representar um problema de Saúde Pública em nosso país, tendo em vista as precárias condições sanitárias de boa parte da população. Entretanto, sua aquisição, manutenção e transmissão no Brasil só poderão ser estimadas e valorizadas a partir de investigações criteriosas, incluindo não só as pesquisas zoonóticas em humanos e animais, mas também relacionadas ao ambiente. O sítio de estudo, localizado na Região dos Lagos, serve como modelo de regiões que apresentam importantes atividades turísticas e econômicas, possuindo grande afluxo populacional, que promove desequilíbrios e impactos ao ecossistema.

Considerando toda a complexidade da necessidade do estudo desse gênero, a patogênese causada pela bactéria e o ciclo de transmissão desse patógeno, admite-se a importância de se estudarem os fatores relacionados à virulência desse microrganismo em diferentes origens de isolamento e de se tentar traçar um paralelo nos dados obtidos.

■ Conclusões

No Brasil, desde seu reconhecimento como agente etiológico, até há pouco tempo, considerava-se o isolamento de *Campylobacter* de ambiente ou de processos diarreicos um acontecimento excepcional. Essa ideia, difundida por vários pesquisadores, fez com que esse gênero bacteriano fosse considerado de raro isolamento em nosso país. Avaliando trabalhos publicados em outros países e os resultados do presente estudo, verifica-se que seu isolamento não é um fato incomum, principalmente no que diz respeito à alta frequência de seu isolamento em amostras ambientais e à sua presença em portadores animais e humanos assintomáticos hígidos.

As questões ambientais atualmente estão na pauta dos debates mundiais, porém, na prática, pouco está sendo fei-

to para proteger o elemento essencial para vida humana, a água. A degradação dos recursos hídricos é crescente, pois acompanha as atividades humanas de urbanização, desmatamento, agricultura e industrialização, que provocam todo tipo de contaminação. São necessárias posturas mais firmes em termos de legislação contra o desperdício de água e contra a degradação de nossos mananciais de abas-

tecimento, para que o consumo no futuro seja garantido (Brasil, 2004).

A existência de novas metodologias laboratoriais permitiu pesquisar e quantificar níveis baixos de microrganismos, assim como identificar, de forma inequívoca, espécies e sorotipos. Desse modo, tornou-se, assim, possível melhorar o conhecimento dos patógenos e conseguir diferenciá-los.

Referências

- ALARY, M.; NADEAU, D. An outbreak of *Campylobacter* enteritis associated with a community water supply. *Canadian Journal of Public Health*, v. 81, n. 4, p. 268-271, 1990.
- ALLOS, B. M.; BLASER, M. J. *Campylobacter jejuni* and the expanding spectrum of related infections. *Clinical Infectious Disease*, v. 20, p. 1092-1101, 1995.
- ALLOS, B. M.; TAYLOR, D. N. *Campylobacter* infections. In: EVANS, A. S.; BRACHMAN, P. S. *Bacterial Infection of Humans: Epidemiology and Control*. 3. ed. New York: Plenum Medical Book Company, 1998. chap. 8; p. 169-190.
- ANDRADE, M. C. R. *et al.* Circulation of *Campylobacter* spp. in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) held in captivity: a longitudinal study. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 102, n. 1, p. 53-57, 2007.
- BORDALO, A. A.; ONRASSAMI, R.; DECHSAKULWATANA, C. Survival of faecal indicator bacteria in tropical estuarine waters (Bangpakong River, Thailand). *Journal of Applied Microbiology*, v. 93, p. 864-871, 2002.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso*. 4. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde.
- BUTZLER, J. P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 10, n. 10, p. 868-876, 2004.
- CARLIER, V. Les campylobacterioses. *Bulletin de la Societe Veterinaire Pratique de France*, v. 78, n. 6-7, p. 333-337, 1994.
- CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE (CNS). *Desenvolvimento do Sistema Único de Saúde no Brasil: Avanços, desafios e reafirmação de princípios e diretrizes*. *Saúde em Debate*, v. 26, n. 62, p. 295-310, 2002.
- CUNHA, A. C. *et al.* Monitoring of superficial waters in estuary rivers in Amapá State under fecal pollution. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*, v. 1, n. 1, p. 191-199, 2005.
- DUIM, B. *et al.* Amplified fragment length polymorphism analysis of *Campylobacter jejuni* strains isolated from chickens and patients with gastroenteritis or Guillian-Barré or Miller Fisher syndrome. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, p. 3917-3923, 2000.
- ENGLER, M. D.; KELLEY, L. C. A rapid DNA isolation procedure for the identification of *Campylobacter jejuni* by the polymerase chain reaction. *Letters of Applied Microbiology*, n. 31, p. 421-426, 2000.
- FERNANDES-NETO, M. L.; FERREIRA, A. P. Perspectivas da sustentabilidade ambiental diante da contaminação química da água: Desafios normativos. *Interfaces*, v. 2, p. 1-15, 2007.
- FILGUEIRAS, A. L. L. *Pesquisa de Campylobacter termofílicos em estações de tratamento de esgotos, na cidade do Rio de Janeiro, RJ*. Dissertação de mestrado. 1992. 80p. Universidade Federal de Minas Gerais – Instituto de Ciências Biológicas, 1992.
- FILGUEIRAS, A. L. L.; HOFER, E. Ocorrência de *Campylobacter* termofílico em diferentes pontos de uma estação de tratamento de esgotos na cidade do Rio de Janeiro, RJ. *Revista de Microbiologia*, v. 20, p. 303-308, 1989.
- FROST, J. A. Current epidemiological issue in human campylobacteriosis. *Journal. Applied Microbiology*, v. 90, p. 85S-95S, 2001.
- GEO BRASIL. *Perspectivas do Meio Ambiente no Brasil*. Brasília: Edições IBAMA, 2002.
- JONES, K. *Campylobacters* in water, sewage and the environment. *Journal of Applied Microbiology*, v. 90, p. 68S-79S, 2001.
- LEE, L. P. S. D. *et al.* Análise dos indicadores bacterianos de poluição dos rios Anil e Bacanga na Ilha de São Luís, Estado do Maranhão, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 18, n. 4, p. 278-287, 1984.
- LEHTOLA, M. J. *et al.* Survival of *Campylobacter jejuni* in potable water biofilms: a comparative study with different detection methods. *Water Science Technology*, v. 54, n. 3, p. 57 - 61, 2006.
- MONTOLIO, T. S.; JORDÁN VIDAL, M. M.; SANFELIU, A. B. *Contaminación y medio ambiente*. Santiago (Chile) - Castellón (España): Universitat Jaume I, 2005.
- ROHNER P, *et al.* Etiological agents of infectious diarrhea: implications for requests for microbial culture. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 35, p. 1427-1432, 1997.
- RUIZ-ESQUIDE, F.; LAFOURCADE, M.; FERNÁNDEZ, H. Neonatal *Campylobacter coli* enteritis and bacteraemia. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, p. 341-343, 2003.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.
- SCARCELLI, E. *et al.* Avaliação do potencial de disseminação de *Campylobacter* spp. por diferentes espécies animais. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 65, n. 1, p. 55-61, 1998.
- SOARES, B. E. C.; FERREIRA, A. P. Desenvolvimento sustentável e biodiversidade: Gestão racional e ecológica dos recursos ambientais. *Revista Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, v. 33, p. 72-75, 2004.
- TOSIN, I.; MACHADO, R. A. Ocorrência de *Campylobacter* spp. entre manipuladores de alimentos em cozinhas hospitalares de localidade urbana da região Sul do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 29, n. 6, p. 472-477, 1995.
- TUCCI, C. E. M.; HESPANHOL, I.; CORDEIRO-NETTO, O. M. Cenários da gestão da água no Brasil: uma contribuição para “Visão Mundial da Água”. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v. 5, p. 31-43, 2000.
- VILARDO, M. C. B. *et al.* Application of biochemical and polymerase chain reaction assays for identification of *Campylobacter* isolates from non-human primates. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 101, n. 5, p. 499-501, 2006.

Recebido em: 03/11/2009

Reapresentado em: 04/01/2010

Aprovado em: 15/02/2011