

## Detecção de fatores de virulência em estirpes de *Campylobacter* spp. isoladas de carcaças de suínos abatidos em frigoríficos

[Virulence factors in strains of *Campylobacter* spp. isolated from the carcasses of swine slaughtered in abattoirs]

G.O. Silva<sup>1</sup>, A.F. Carvalho<sup>2</sup>, S. Miyashiro<sup>2</sup>, A.F.C. Nassar<sup>2</sup>, R.M. Piatti<sup>2</sup>, E. Scarcelli<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Aluna de Pós-Graduação - Instituto Biológico – São Paulo, SP

<sup>2</sup>Instituto Biológico – São Paulo, SP

### RESUMO

Isolaram-se estirpes de *Campylobacter* spp. em amostras de carcaças (n=65), fezes (n=65) e linfonodos mesentéricos (n=65) de suínos abatidos em frigoríficos do estado de São Paulo e detectaram, pela técnica da Multiplex-PCR, a presença do complexo de genes *cdt*, responsáveis pela expressão do fator de virulência da toxina CDT. Do total de 195 amostras de origem suína, *Campylobacter* spp. foi isolado de 31 (15,9%), sendo 29 (93,6%) de amostras de suabe retal, 1/65 (3,2%) de suabe de carcaça e um (3,2%) de linfonodo. Vinte e oito estirpes de *C. coli* foram positivas para a detecção dos genes *cdt*, e três estirpes de *C. jejuni* foram negativas para a detecção desses genes. Foi detectada, pela primeira vez no estado de São Paulo, a presença dos genes *cdt* em 100% das estirpes de *Campylobacter coli* provenientes de suínos abatidos em frigoríficos.

Palavras-chave: suíno, *Campylobacter coli*, abatedouro, toxina citoletal distensiva, CDT

### ABSTRACT

The purposes of this study were to isolate and identify *Campylobacter* spp. strains from the carcasses (n=65), feces (n=65) and mesenteric lymph nodes (n=65) of swine slaughtered in abattoirs in the State of Sao Paulo and to detect the presence of the *cdt* gene complex – responsible for the expression of the virulence factor cytolethal distensive toxin – in these *Campylobacter* spp. strains through Multiplex-PCR. From 195 samples analyzed, *Campylobacter* spp. was isolated in 31 (15.9%): 29 (93,6%) samples of rectal swab, 1 (3.2%) carcass swab and 1 (3.2%) lymph node sample. The 28 strains of isolated *C. coli* were positive for CDT toxin genes and the three strains of isolated *C. jejuni* were negative for these genes. It was also the first time that the *cdt* gene cluster was detected in strains isolated from swine in the state of São Paulo. These findings indicate swine as a potential spreading source of virulent strains of *Campylobacter coli*, either for slaughterhouse staff or consumers of carcasses and sub products.

Key words: Swine, *Campylobacter coli*, abattoir, cytolethal distensive toxin, CDT

### INTRODUÇÃO

Os setores do agronegócio paulista que apresentaram o maior crescimento nas exportações em 2008, comparado ao ano de 2007, foram os de suínos e aves (49,7%, para US\$ 570 milhões), segundo estudo do Instituto de Economia Agrícola (IEA-APTA), vinculado à Secretaria de Agricultura e Abastecimento

(Agência..., 2009). Na Europa, a produção de carne destaca-se como uma das maiores atividades, sendo a carne suína (48,7%) o principal tipo comercializado, seguida pela carne de frango (23,6%) e pela bovina (23,3%). A produção de carne de ovinos, caprinos, equinos e coelhos corresponde somente a um pequeno percentual do total produzido (Mataragas *et al.*, 2008).

---

Recebido em 15 de abril de 2011

Aceito em 24 de maio de 2012

\*Autor para correspondência (*corresponding autor*)

E-mail: pinheiro@biologico.sp.gov.br

*Campylobacter* spp. coloniza o trato gastrointestinal de várias espécies domésticas e selvagens, principalmente aquelas destinadas ao consumo humano (Malakauskas et al., 2005). *Campylobacter* spp. é observado no trato intestinal de suínos, sendo a espécie *Campylobacter coli* a mais comumente isolada. Carcaças de suínos são mais frequentemente contaminadas por *Campylobacter* do que carcaças de bovinos e ovinos. Entretanto, tem sido relatadas taxas de contaminação variando de 2,9% na Polônia a 95% na Suécia (Nesbakken et al., 2003).

No Brasil, *C. coli* e *C. jejuni* e, com menor frequência, *C. fetus* subsp. *fetus* têm sido isolados de carcaças e fezes de suínos aparentemente sadios abatidos em abatedouros, como também de animais com sintomas clínicos de distúrbios entéricos manifestados sob forma de diarreia (Scarcelli et al., 1991, 1998; Campos, 2007; Gabriel et al., 2010). No país, ainda são poucos os relatos de surtos em humanos, e a campilobacteriose intestinal permanece pouco descrita, ou seja, subnotificada (Scarcelli et al., 2005; Calil et al., 2008). Segundo dados da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), entre 1999 e 2008 foram notificados no território nacional 6062 surtos de doenças transmissíveis por alimentos (DTA), sendo o *Campylobacter* spp. classificado entre os agentes menos frequentes e responsabilizado por apenas quatro surtos (Brasil, 2008).

A campilobacteriose é uma zoonose de distribuição mundial, em que o gênero *Campylobacter* está amplamente distribuído na natureza, pois já foi isolado de diversas espécies domésticas e silvestres, assim como no homem (Altekruse, 1998; Scarcelli et al., 1998, 2005). Atribui-se a transmissão para o ser humano ao contato direto com animais portadores, ao consumo de água e alimentos de origem animal e vegetal contaminados, carnes de aves, suínos ou bovinos malprocessadas, e à ingestão de leite não pasteurizado (Kumar et al., 2001; Saito et al., 2005; Scarcelli et al., 2005; Peyrat et al., 2008).

Um dos principais fatores de virulência relacionados à patogênese do *Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. fetus*, *C. jejuni* e *C. lari*) em infecções animais e humanas é denominado toxina citoletal distensiva (CDT), codificada pelos genes adjacentes *cdt A*, *cdt B* e *cdt C*

(Martinez et al., 2006). A toxina interfere na divisão e diferenciação das células das criptas intestinais, levando ao desenvolvimento da diarreia (Park, 2002). A proteína produzida pelo gene *cdtB* (CdtB) potencializa o bloqueio do ciclo celular, e as proteínas dos genes *cdtA* e *cdtC* funcionam como subunidades diméricas, que transportam a proteína do CdtB e a interiorizam na célula hospedeira (Martinez et al., 2006; Asakura et al., 2008).

O presente trabalho teve por objetivos: isolar e identificar, por métodos fenotípicos e genotípicos, estirpes de *Campylobacter* spp. de amostras de carcaças, fezes e linfonodos mesentéricos de suínos abatidos em dois frigoríficos localizados no estado de São Paulo, bem como detectar pela primeira vez nestes suínos, pela técnica da Multiplex-PCR, estirpes de *Campylobacter* spp. portadoras do complexo de genes *cdt* responsável pela expressão do fator de virulência da toxina citoletal distensiva (CDT).

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas, entre 2008 e 2009, 195 amostras originárias de suínos abatidos em dois frigoríficos localizados no estado de São Paulo: o primeiro denominado abatedouro A, com Serviço de Inspeção Federal, e o segundo abatedouro B, com Serviço de Inspeção Estadual, ambos com capacidade de abate/dia de mais de 300 animais. Do abatedouro A, foram colhidas 45 amostras, e do abatedouro B 135 amostras.

As amostras consistiam de 65 suabes de carcaças – esfregaço das regiões dorsal e lateral do lado interno da carcaça –, 65 suabes retais e 65 linfonodos mesentéricos. Os suabes de carcaças e retais foram introduzidos em tubos contendo 3mL de meio Brain Heart Infusion (BHI – Difco), e os linfonodos em sacos plásticos estéreis (Nasco). Todas as amostras foram transportadas até o laboratório em caixas isotérmicas, com gelo reciclável, à temperatura de até 8°C. As amostras foram submetidas ao procedimento bacteriológico para isolamento e identificação bioquímica de *Campylobacter* spp., segundo Scarcelli et al. (1998) e World Organisation for Animal Health OIE (2008). A susceptibilidade aos antibióticos, ácido nalidíxico e cefalotina, seguiram a metodologia

### Detecção de fatores de virulência...

de difusão com discos, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003).

Das estirpes de *Campylobacter* spp. extraiu-se o DNA por meio do *kit* comercial Ilustra Bacterial Genomic PREP Mini Spin (GE Healthcare), segundo especificações do fabricante. Visando confirmar pela PCR a triagem inicial realizada pelas provas bioquímicas, foi pesquisada a presença do gene *hip* relacionada ao *C. jejuni*, codificante da enzima hipuricase, que corresponde a um fragmento de 735 pb, cujos oligonucleotídeos iniciadores empregados foram: HIP400F 5'-GAA GAG GGT TTG GGT GGT G-3' e HIP1134R 5'-AGC TAG CTT CGC ATA ATA ACT TG-3' (Invitrogen). Para as amostras de *C. coli*, foi pesquisado o gene da aspartoquinase, que corresponde a um fragmento de 500 pb, cujos oligonucleotídeos iniciadores empregados foram: CC18F 5'-GGT ATG ATT TCT ACA AAG CGA G-3' e CC519R 5'-ATA AAA GAC TAT CGT CGC GTG-3' (Invitrogen)

(Linton *et al.*, 1997). Como controles positivos foram utilizadas estirpes padrão de *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 e *Campylobacter coli* CDC A3315.

A análise dos produtos amplificados foi realizada por eletroforese em gel de agarose (Invitrogen) a 2,0%. Os géis foram corados por brometo de etídeo (0,5µg/mL) (Invitrogen) e posteriormente fotografados sob luz ultravioleta (300-320nm) pelo sistema de fotodocumentação, Câmera Kodak Digital DC/120 Zoom, e analisados com o *software* 1D Image Analysis (Kodak Digital Science).

O DNA das estirpes de *C. jejuni* e *C. coli* extraído anteriormente foi submetido à técnica da Multiplex-PCR com *primers* (Invitrogen) e metodologia descritos por Asakura *et al.* (2008) para detecção dos genes *cdtA*, *cdtB* e *cdtC* (Tab. 1).

Tabela 1. Sequência nucleotídica dos *primers* para *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, descritos por Asakura *et al.* (2008).

| Primer      | Sequência                   |                  | Pares de bases |
|-------------|-----------------------------|------------------|----------------|
| <b>cdtA</b> |                             |                  |                |
| CjspAU2     | 5'-AGGACTTGAACCTACTTTTC-3'  | <i>C. jejuni</i> | 631            |
| CjspAR2     | 5'-AGGTGGAGTAGTTAAAAACC-3'  |                  |                |
| CcspAU1     | 5'-ATTGCCAAGGCTAAAATCTC-3'  | <i>C. coli</i>   | 329            |
| CcspAR1     | 5'-GATAAAGTCTCCAAAACCTGC-3' |                  |                |
| <b>cdtB</b> |                             |                  |                |
| CjSPBU5     | 5'-ATCTTTTAACCTTGCTTTTGC-3' | <i>C. jejuni</i> | 714            |
| CjSPBR6     | 5'-GCAAGCATTAAAATCGCAGC-3'  |                  |                |
| CcSPBU5     | 5'-TTTAATGTATTATTTGCCGC-3'  | <i>C. coli</i>   | 413            |
| CcSPBR5     | 5'-TCATTGCCTATGCGTATG-3'    |                  |                |
| <b>cdtC</b> |                             |                  |                |
| CjspCU1     | 5'-TTTAGCCTTTGCAACTCCTA-3'  | <i>C. jejuni</i> | 524            |
| CjspCR2     | 5'-AAGGGGTAGCAGCTGTAA-3'    |                  |                |
| CcspCU1     | 5'-TAGGGATATGCACGCAAAG-3'   | <i>C. coli</i>   | 313            |
| CcspCR1     | 5'-GCTTAATACAGTTACGATAG-3'  |                  |                |

A análise do produto amplificado para os Multiplex de *C. jejuni* e *C. coli* seguiu os mesmos procedimentos empregados para os genes *hip* e da aspartoquinase.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

*Campylobacter* spp. foi isolado de 31 (15,9%) amostras, sendo 29 (93,6%) de amostras de suabe retal, um (3,2%) de suabe de carcaça e um (3,2%) de linfonodo. (Tab. 2). Das amostras de

suabe retal, 26/29 (89,6%) foram positivas para *Campylobacter coli* e 3/29 (10,4%) para *C. jejuni*. Nas amostras de suabe de carcaça e de linfonodo, foi isolada somente a espécie *Campylobacter coli*.

Todas as 31 estirpes de *Campylobacter* spp. isoladas e identificadas bioquimicamente foram confirmadas como *Campylobacter jejuni* ou *Campylobacter coli* pela pesquisa dos genes da hipuricase e da aspartoquinase, respectivamente,

amplificando fragmentos de 735 pb e 500 pb na PCR (Tab. 2). As 28 estirpes de *Campylobacter coli* identificadas foram positivas para a detecção dos genes da toxina CDT, sendo que no abatedouro A foram isoladas 9/45 (20%) amostras que continham estirpes portadoras dos genes da toxina, e no abatedouro B 19/135 (14,1%) estirpes positivas.

Em 26 estirpes originárias do reto, da carcaça e do linfonodo, foi possível detectar os três genes simultaneamente (*cdtA*, *cdtB* e *cdtC*), e em duas estirpes (R53 e R56) provenientes de suabe retal apenas os genes *cdtA* e *cdtC* (Fig. 1 e 2). As três estirpes de *C. jejuni* isoladas de suabe retal foram negativas para a detecção dos três genes, ou seja, não possuem os genes responsáveis pela produção da toxina CDT.

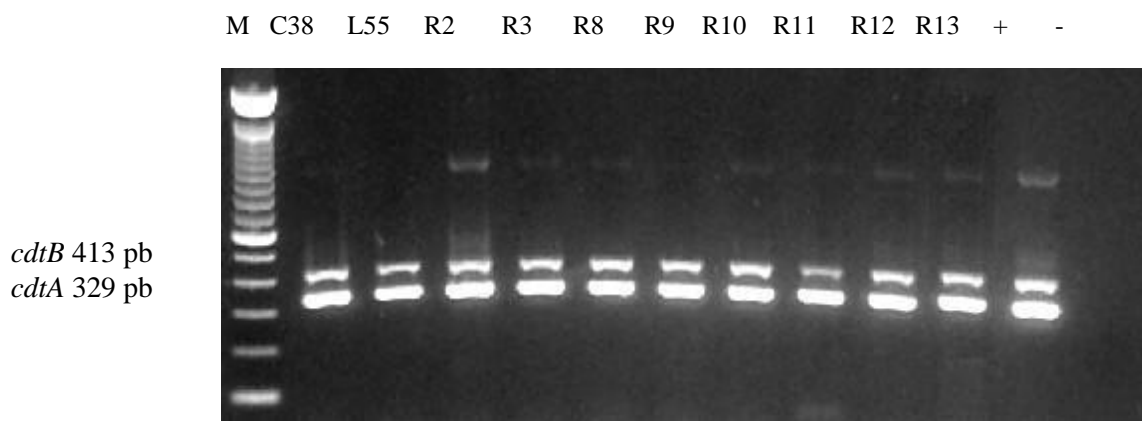


Figura 1. Resultados obtidos pela amplificação por Multiplex-PCR para detecção dos genes da toxina CDT (*cdtA* e *cdtB*) de estirpes de *Campylobacter coli*. M: marcador de peso molecular (100bp *Ladder* – Invitrogen); C38, L55, R2, R3, R8, R9, R10, R11, R13: estirpes de *Campylobacter coli*.; + controle positivo (*C. coli* CDC A3315); - controle negativo.

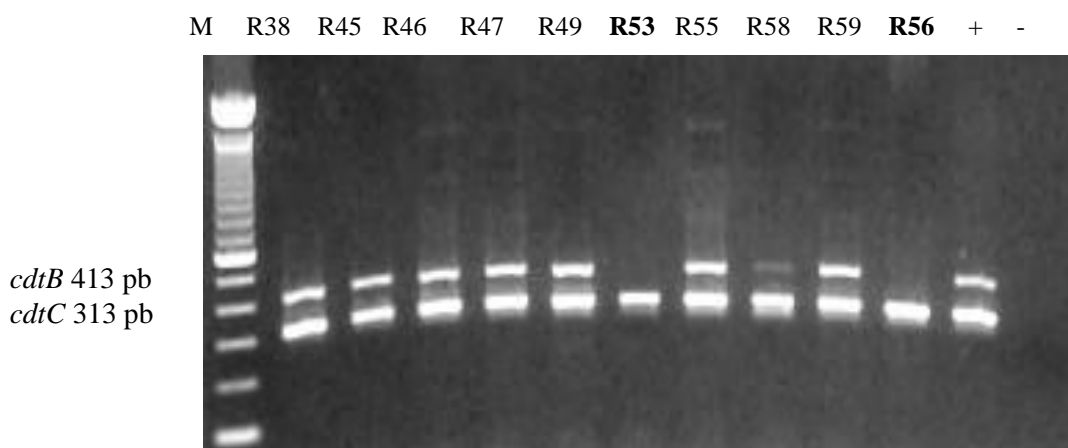


Figura 2. Resultados obtidos pela amplificação por Multiplex-PCR para detecção dos genes da toxina CDT (*cdtB* e *cdtC*) de estirpes de *Campylobacter coli*. M: marcador de peso molecular (100bp *Ladder* – Invitrogen); R38, R45, R46, R47, R49, R53, R55, R58, R59, R56: estirpes de *Campylobacter coli*.; + controle positivo (*C. coli* CDC A3315); - controle negativo.

**Detecção de fatores de virulência...**

Tabela 2. Classificação das estirpes isoladas de *Campylobacter* spp. quanto à origem, identificação, detecção dos genes do complexo *cdt* e susceptibilidade aos antibióticos

| Denominação da estirpe | Origem da amostra | Espécie identificada        | Gene <i>cdtA</i> | Gene <i>cdtB</i> | Gene <i>cdtC</i> | Perfil de susceptibilidade aos antibióticos |      |
|------------------------|-------------------|-----------------------------|------------------|------------------|------------------|---|------|
|                        |                   |                             |                  |                  |                  | A. Nal.                                     | Cef. |
| R2                     | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R3                     | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R8                     | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R9                     | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R10                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R11                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R12                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R13                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R15                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R19                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter jejuni</i> | -                | -                | -                | S   | R    |
| R21                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter jejuni</i> | -                | -                | -                | S   | R    |
| R25                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter jejuni</i> | -                | -                | -                | S   | R    |
| R31                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R32                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R33                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R37                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R38                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R45                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R46                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R47                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R49                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R53                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | -                | +                | R   | R    |
| R55                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R56                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | -                | +                | R   | R    |
| R58                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R59                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R61                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| R63                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | R   | R    |
| R65                    | Suabe retal       | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| C38                    | Suabe de carcaça  | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| L55                    | Linfonodo         | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |
| ATCC 33291             | (controle)        | <i>Campylobacter jejuni</i> | +                | +                | +                | S   | R    |
| CDC A3315              | (controle)        | <i>Campylobacter coli</i>   | +                | +                | +                | S   | R    |

Positivo (+); negativo (-); R (suabe retal); C (suabe de carcaça); L (linfonodo mesentérico); A. Nal. (ácido nalídixico); Cef. (cefalotina)

Para a plena atividade da toxina, é necessária a presença dos três genes simultaneamente (Asakura *et al.*, 2007); ou seja, no presente estudo, as estirpes de *C. coli* com ausência do gene *cdtB*, provavelmente, não possuem a atividade da toxina CDT. Asakura *et al.* (2007) sugeriram que mutações nos genes *cdt*, como deleção, inserção ou substituição de nucleotídeos, podem afetar a atividade da toxina.

As bactérias da família Campylobacteraceae, por sua natureza microaerófila, não são normalmente pesquisadas nos laboratórios de rotina, o que agrega mais um fator limitante para seu isolamento e estudo da epidemiologia de diferentes espécies e subtipos do gênero *Campylobacter* (Giacoboni *et al.*, 2005; Gillespie *et al.*, 2007; Scarcelli *et al.*, 2009).

Segundo trabalhos publicados no Brasil e em outros países, frangos de corte e suínos são as mais importantes fontes de infecção de *Campylobacter* spp. para o homem, destacando-se a espécie suína para o *C. coli* e os frangos de corte para o *C. jejuni* (Lander, 1985; Scarcelli *et al.*, 1998; Gillespie *et al.*, 2002; Calil *et al.*, 2008; Scarcelli *et al.*, 2009), como observado no presente estudo, em que prevaleceu a espécie *C. coli* em 28/31 estirpes isoladas de *Campylobacter* spp. (90,3%) em relação ao *C. jejuni* (9,7% - 3/31).

Segundo Malakauskas *et al.* (2005), diferentemente dos frangos de corte, as carcaças de suínos não são frequentemente contaminadas, com índices variando entre 2,9% e 10,3%, dado semelhante ao observado no presente estudo, em que 1/65 (1,5%) das carcaças de suínos foi positiva para *C. coli*.

Durante o resfriamento e a secagem da carcaça de suínos, ocorre drástica diminuição do número de células viáveis de *Campylobacter* spp., o que não se verifica na carcaça de frango. Isto poderia ser explicado pelo fato de o processo de resfriamento de carcaça de frango ser mais rápido, cerca de uma hora contra até 24 horas em suínos. Além disso, deve ser considerada a diferença de textura da pele de frango, a qual apresenta poros que impedem a secagem total; enquanto a de suínos, sendo lisa, fornece menor proteção à dessecação (Lander, 1995). No entanto, a frequência de positividade de amostras nas fezes de suínos pode ser mais elevada do que nas fezes de frangos (Scarcelli et al., 1998).

O papel da espécie suína como potencial transmissora das campilobacterioses intestinais também está relacionado a hábitos alimentares regionais, em que se pratica a ingestão de embutidos suínos fabricados com intestinos submetidos à salga; ou ainda de carne suína crua ou malcozida (Lander, 1995; Scarcelli et al., 1998).

No presente estudo, verificou-se que 13/28 (21,5%) estirpes de *C. coli* apresentaram resistência ao ácido nalidíxico (Tab. 2), em especial todas as isoladas do abatedouro A e quatro do abatedouro B, demonstrando que o uso de antibióticos nestes animais, seja como uso terapêutico ou na ração como probiótico, pode interferir na seleção de estirpes resistentes e, portanto, alterar o padrão de antibiograma utilizado usualmente na classificação das espécies de *Campylobacter*.

Resultados semelhantes foram relatados por Campos (2007), o qual observou que 19,16% (23/120) das estirpes de *C. coli* isoladas de fezes de carcaças de abatedouros do estado de São Paulo também apresentaram resistência ao ácido nalidíxico.

Estes achados reforçam a importância da confirmação genotípica das espécies, sendo de grande relevância a confirmação da espécie *C. coli* pelo gene da aspartoquinase e da espécie *C. jejuni* pelo gene da hipuricase, o que auxilia na diferenciação definitiva destas estirpes resistentes ao ácido nalidíxico da espécie *Campylobacter lari*, que é normalmente resistente à cefalotina e ao ácido nalidíxico.

Pela técnica de Multiplex-PCR foi detectada, pela primeira vez no estado de São Paulo, a presença do complexo de genes *cdt* em 100% das estirpes de *Campylobacter coli* provenientes de suínos abatidos em frigoríficos. Tal fato configura os suínos como uma fonte potencial de disseminação de estirpes virulentas de *Campylobacter coli*, tanto para os trabalhadores dos frigoríficos como para os consumidores das carcaças e subprodutos.

## REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA). Setor de suínos e aves lidera crescimento nas exportações do agronegócio paulista. 2009. Disponível em: <<http://www.apta.sp.gov.br/noticias.php?id=3133>>. Acesso em: fev. 2009.
- ALTEKRUSE, S.F. *Campylobacter jejuni* in foods. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.213, p.1734-1735, 1998.
- ASAKURA, M.; SAMOSORNSUK, W.; TAGUCHI, M. et al. Comparative analysis of cytotoxin distending toxin (*cdt*) genes among *Campylobacter jejuni*, *C. coli* and *C. fetus* strains. *Microb. Pathog.*, v.42, p.174-183, 2007.
- ASAKURA, M.; SAMOSORNUK W.; HINENOYA, A. et al. Development of a cytotoxin distending toxin (*cdt*) gene-based species-specific multiplex PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter fetus*. *FEMS Immun. Med. Microbiol.*, v.52, p.260-266, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenadoria de Vigilância de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. *Análise Epidemiológica dos Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil*. 2008. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/DTA.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2011.
- CALIL, R.M.; SCARCELLI, E.; MODELLI, K.D. et al. *Campilobacterioses: o agente, a doença e a transmissão por alimentos*. São Paulo: R.M. Calil, 1ª ed., 2008. 129p.
- CAMPOS, F.R. *Isolamento e caracterização de Campylobacter spp. em amostras de fezes e carcaças de suínos provenientes de abatedouros do Estado de São Paulo*. 2007. 47f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

### Detecção de fatores de virulência...

- GABRIEL, M.R.; MELO, R.T.; ROSSI, D.A. *et al.* *Campylobacter* spp. em linfonodos mesentéricos de suínos abatidos. *PUBVET*, Londrina, v.4, n.19, Ed. 124, Art. 840, 2010. Disponível em: [http://www.pubvet.com.br/artigos\\_det.asp?artigo=721](http://www.pubvet.com.br/artigos_det.asp?artigo=721). Acesso em: 23/02/2011.
- GIACOBONI, G.; ECHEVERRÍA, M.G.; PERFUMO, C. PCR-RFLP for *Campylobacter jejuni* subtyping. *Rev. Arg. Microbiol.*, v.37, p.81-83, 2005.
- GILLESPIE, I.A.; O'BRIEN, S.J.; FROST, J.A. *et al.* The campylobacter sentinel surveillance scheme collaborators. A Case-Case Comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* Infection: A Tool for Generating Hypotheses. *Emerg. Infect. Dis.*, v.8, p.937-942, 2002.
- KUMAR, A.; AGARWAL, R.K.; BHILEGAONKAR, K.N. *et al.* Occurrence of *Campylobacter jejuni* in vegetables. *Int. J. Med. Microbiol.*, v.67, p.153-155, 2001.
- LANDER, K.P. *Campylobacter: Proceedings of a conference held in Brussels 17 and 18 January 1985.* New Haw, Weibridge, Surrey, U.K. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 1985, 145p.
- LINTON, D.; LAWSON, A.J.; OWEN, R.J. *et al.* PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J. Clin. Microbiol.*, v.35, p.2568-2572, 1997.
- MALAKAUSKAS, M.; JORGENSEN, K.; NIELSEN, E.M. *et al.* Isolation of *Campylobacter* spp. from a pig slaughterhouse and analysis of cross-contamination. *Int. J. Med. Microbiol.*, v.108, p.295-300, 2005.
- MARTINEZ, I.; MATEO, E.; CHURRUCA, E. *et al.* Detection of *cdtA*, *cdtB*, and *cdtC* genes in *Campylobacter jejuni* by multiplex PCR. *Int. J. Med. Microbiol.*, v.296, p.45-48, 2006.
- MATARAGAS, M.; SKANDAMIS, P.N.; DROSINOS, E.H. Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *Int. J. Food Microbiol.*, v.126, p.1-12, 2008.
- NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods For Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests For Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard - Sixth Edition.* NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238486-4). v.23, 2003. Disponível em: [http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/biblioteca/clsiOPAS\\_M7-A6.pdf](http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/biblioteca/clsiOPAS_M7-A6.pdf). Acessado em: fev/2009.
- NESBAKKEN, T.; ECKNER, K.; HOIDAL, H.K. *et al.* Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection slaughtering, and dressing procedures. *Int. J. Food Microbiol.*, v.80, p.231-240, 2003.
- OIE-World Organisation for Animal Health. *Campylobacter jejuni and Campylobacter coli In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, p.1185-1191, 2008. Disponível em: [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.09.03\\_CAMPYLO.pdf](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.09.03_CAMPYLO.pdf) Acesso em: fev. 2009.
- PARK, S.F. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *Int. J. Food Microbiol.*, v.74, p.177-188, 2002.
- PEYRAT, M.B.; SOUMET, C.; MARIS, P. *et al.* Phenotypes and genotypes of campylobacter strains isolated after cleaning and disinfection in poultry slaughterhouses. *Vet. Microbiol.*, v.128, p.313-326, 2008.
- SAITO, S.; YATSUYANAGI, J.; HARATA, S. *et al.* *Campylobacter jejuni* isolated from retail poultry meat, bovine feces and bile, and human diarrheal samples in Japan: comparison of serotypes and genotypes. *F.E.M.S. Immun. Med. Microbiol.*, v.45, p.311-319, 2005.
- SCARCELLI, E.; GENOVEZ, M.E.; ROJAS, S. *et al.* Avaliação da presença de *Campylobacter* spp em suínos: sua relação com a ocorrência de distúrbios entéricos. *Rev. Microbiol.*, v.22, p.112-115, 1991.
- 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.
- SCARCELLI, E.; MIYASHIRO, S.; CAMPOS, F.R. *et al.* Detecção de *Campylobacter jejuni* em carcaças e cortes de frangos pela Reação da Polimerase em Cadeia. *Rev. Hig. Alimentar*, v.19, p.71-76, 2005.
- SCARCELLI, E.; PIATTI, R.M.; HARAKAVA, R. *et al.* Use of PCR-RFLP of the *fla A* gene for detection and subtyping of *Campylobacter jejuni* strains potentially related to Guillain-Barré syndrome, isolated from humans and animals. *Braz. J. Microbiol.*, v.40, p.952-959, 2009.