



Ocorrência de ovinos portadores da infecção por *Campylobacter* spp. no estado de Pernambuco¹

Érica Chaves Lúcio^{2*}, Jonas de Melo Borges³, Antônio F.B. Batista Filho², Gisele Veneroni Gouveia⁴, Mateus Matiuzzi da Costa⁴, Rinaldo Aparecido Mota² e José W. Pinheiro Junior²

ABSTRACT.- Lúcio E.C., Borges J.M., Batista Filho A.F.B, Gouveia G.V., Costa M.M., Mota R.A. & Pinheiro Junior J.W. 2018. [**Occurrence of sheep carrier of infection with *Campylobacter* spp. in the state of Pernambuco, Brazil.**] Ocorrência de ovinos portadores da infecção por *Campylobacter* spp. no estado de Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 38(2):262-270. Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil. E-mail: erica.c.l@hotmail.com

The objective of this study was to determine the occurrence and risk factors associated with *Campylobacter* spp. infection in sheep in the State of Pernambuco, Brazil. A total of 421 fecal samples were collected from 20 herds for the isolation of *Campylobacter* spp. The species *Campylobacter fetus* and *Campylobacter jejuni* were identified by Polymerase Chain Reaction (PCR). To analyze the risk factors, logistic regression was conducted through a questionnaire about the hygienic-sanitary and reproductive management. The occurrence of *Campylobacter* spp. was 4.5% (19/421; C.I. 2.8 to 7.1%). Of the 19 positive samples isolated, eight (1.9% CI 0.9 to 3.9%) were classified as *C. fetus* subsp. *fetus* and seven (1.7% CI 0.7 to 3.5%) as *C. jejuni*, with co-infection in four samples (0.95%). The number of identified focuses was 35.0% (7/20) of the sheep herds that had at least one positive animal. The logistic regression analysis did not identify any of the variables as a risk factor. This appears to be the first report of infection with *Campylobacter* spp. in sheep herds in northeastern Brazil. Thus it is necessary to implement measures for control and prevention avoid damage to sheep production and risk to public health, since campylobacteriosis is considered an emerging zoonosis.

INDEX TERMS: *Campylobacter* spp., campylobacteriosis, sheep, bacterioses.

RESUMO.- Objetivou-se com este estudo determinar a ocorrência e os fatores de risco associados à infecção por *Campylobacter* spp. em criações de ovinos no estado de Pernambuco, Brasil. Foram coletadas 421 amostras fecais de ovinos procedentes de 20 rebanhos para o isolamento de *Campylobacter* spp. As espécies *Campylobacter fetus*

subsp. *fetus* e *Campylobacter jejuni* foram identificadas por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Para análise dos fatores de risco foi realizada uma análise univariada e posteriormente regressão logística a partir de questionário com perguntas objetivas sobre o manejo higiênico-sanitário e reprodutivo. A ocorrência para *Campylobacter* spp. foi de 4,5% (19/421; I.C. 2,8% - 7,1%). Das 19 amostras positivas no cultivo, oito (1,9%; I.C. 0,9% - 3,9%) foram classificadas como *C. fetus* subsp. *fetus* e sete (1,7%; I.C. 0,7% - 3,6%) como *C. jejuni*, com co-infecção em quatro amostras (0,95%). O número de focos identificados foi de 35,0% (7/20) das criações de ovinos que apresentavam pelo menos um animal positivo. Na análise de regressão logística não foi identificada nenhuma das variáveis como fator de risco. Este é o primeiro registro da infecção por *Campylobacter* spp. em rebanhos ovinos no Nordeste do Brasil, concluindo-se que a infecção

¹Recebido em 19 de julho de 2016.

Aceito para publicação em 23 de dezembro de 2016.

²Laboratório de Doenças Infectocontagiosas, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife PE 52171-900, Brasil.

³Laboratório de Reprodução Animal, Unidade Acadêmica de Garanhuns, UFRPE, Av. Bom Pastor s/n, Boa Vista, Garanhuns PE 55292-270, Brasil.

⁴Laboratório de Imunologia e Microbiologia Animal, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, BR-407 Km 12, Lote 543 s/n, C1, Petrolina, PE 56300-000, Brasil.

ocorre nesses rebanhos. Dessa forma, se faz necessário à implementação de medidas de controle e prevenção, para impedir a propagação do agente entre as criações, evitando prejuízos para ovinocultura e riscos para saúde pública, uma vez que a campilobacteriose é considerada uma zoonose emergente.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Campylobacter* spp., campilobacteriose, ovinos, bacterioses.

INTRODUÇÃO

Os problemas reprodutivos em ovinos podem ser causados por inúmeros fatores de origem infecciosa ou não (Pinto et al. 2012, Rizzo et al. 2014). Entre os principais agentes infecciosos, em vários países destaca-se *Campylobacter* spp., com taxas de aborto causadas pela infecção variando de 5% a 50% (Skirrow 1994, Agerholm et al. 2006, Wu et al. 2014).

C. fetus subsp. *fetus* e *C. jejuni* são as principais espécies de *Campylobacter* envolvidas no aborto de ovelhas, que geralmente ocorre no último trimestre da gestação. Outros problemas reprodutivos que já foram relatados são: placentite, infecção uterina, natimortalidade, nascimento de cordeiros prematuros e morte de ovelhas devido à metrite e septicemia (Delong et al. 1996, Sahin et al. 2008, Hamali et al. 2014). Os mecanismos pelos quais esse agente, que pode estar presente no intestino de ovinos sem causar doença clínica, leva a quadros de bacteremia ainda não estão totalmente elucidados (Hedstrom et al. 1987, Skirrow 1994, Sanad et al. 2014).

A campilobacteriose trata-se de uma zoonose de distribuição mundial, que causa gastroenterite em humanos (Zonios et al. 2005, de Boer et al. 2013). No Reino Unido já foi considerada a causa mais comum de diarreia bacteriana aguda, porém em alguns países como o Brasil, os relatos de campilobacteriose humana permanecem pouco descritos, sendo subnotificada (Ketley 1997). As rotas de infecção incluem o consumo de leite cru (Heuvelink et al. 2009), água contaminada com as fezes dos animais (Said et al. 2003), ou o contato direto com as fezes em áreas rurais (Gilpin et al. 2008).

Pouco ainda se tem estudado em relação à dinâmica da infecção por *Campylobacter* spp. em ovinos e os fatores de risco associados, com apenas dois relatos de casos da infecção em animais no Rio Grande do Sul (Vargas et al. 2005, Gressler et al. 2012.) e um estudo no estado de São Paulo (Rizzo et al. 2015). Diante da escassez de informações, do impacto econômico que a doença pode causar nos rebanhos, e da preocupação para a saúde pública, objetivou-se com esse estudo determinar a ocorrência e fatores de risco associados à infecção por *Campylobacter* spp. em criações de ovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem. Foi realizado um estudo transversal entre novembro de 2014 e junho de 2015 em 20 criações de ovinos, provenientes de 19 municípios do estado de Pernambuco, que compõem a microrregião Garanhuns (Fig.1). Em cada município foi selecionada de forma não-probabilística por conveniência uma propriedade, com exceção do município Terezinha onde foram amostradas duas propriedades. Para a amostra foi considerado um total de 92.074 ovinos na área (IBGE 2012) e uma prevalência esperada de 50% para a infecção por *Campylobacter* spp., com um intervalo de confiança de 95% e

erro estatístico de 5%. Este parâmetro indicou um tamanho mínimo a ser examinado de 385 ovinos (Thrusfield 2007), sendo coletadas no presente estudo 421 amostras fecais de forma aleatória sistemática. Para o cálculo das amostras por propriedade foi utilizando o programa estatístico Win Episcopo 2.0, considerando o número de ovinos das criações e parâmetros de prevalência, intervalo de confiança e erro estatístico supracitados. Não houve critérios de exclusão em relação à raça, sexo, idade e sistema de criação.

Coleta de material biológico e isolamento bacteriano.

As amostras de fezes foram coletadas por palpação retal com o uso de luva de procedimento e acondicionadas em frascos estéreis contendo 20 ml de meio de transporte e enriquecimento (TEM) (Lander 1990) e enviadas sob temperatura ambiente para Central de Laboratórios de Garanhuns (CENLAG) da Universidade Federal Rural de Pernambuco para seu devido processamento.

No laboratório, as amostras foram incubadas a 37 °C durante 72 horas em condições de microaerofilia (10% CO₂, 6% O₂, 84% N₂) e posteriormente semeadas em ágar Columbia (Difco®), adicionado de 7% de sangue equino desfibrinado e suplemento seletivo Skirrow (Himedia®) para *Campylobacter* spp., sendo novamente incubadas durante 72 horas em microaerofilia. Após a incubação foi realizada a análise fenotípica das colônias por morfologia e coloração de Gram (Quinn et al. 2014). As colônias com características consistentes com *Campylobacter* spp. tiveram seu DNA extraído a partir do “QIAGEN Easy DNA Kit de sangue e tecidos” (Qiagen®), de acordo com o protocolo do fabricante. Após a extração o DNA foi quantificado com espectrofotômetro (Picodrop P200, Cambridge, UK) e a qualidade das amostras foi analisado pela razão da absorção a 260/280nm.

Reação em cadeia da polimerase (PCR). Como *template* foi utilizado o DNA extraído dos isolados bacterianos conforme descrito anteriormente, e 2,5µL dessa suspensão foram adicionados a 10 µL de Gotaq Green Master Mix (Promega®). Os oligonucleotídeos usados nas reações para amplificação do material genômico de *C. fetus* subsp. *fetus* foram MG3F (5'GGTAGCCGACGCTGCTAAGAT3') e MG4R (5'TAGCTA CAATAACGACAAC3'), VenSF (5'CTTAGCAGTTTGCGATATTGCCATT3') e VenSR (5'GCTTTTGGAGATAACAATAAGAGCTT3') (Hum et al. 1997), constando de desnaturação inicial a 95°C por 10 minutos, seguida por 30 ciclos: 95°C por 45 segundos, 50° por 45 segundos, 72°C por um minuto e 30 segundos, com extensão final a 72° por dez minutos. Para *C. jejuni* foram utilizados os CL2 (5'TGACGCTAGTGTGTAGGAG3') e CR3 (5'CCATCATCGCTAAGTGCAAC3') (Wang et al. 1999), com desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, seguida por 30 ciclos: 95°C por um minuto, 54° por um minuto, 72°C por um minuto, com extensão final a 72° por dez minutos. Os controles positivos das reações para *C. fetus* subsp. *fetus* e *C. fetus* subsp. *venerealis* foram fornecidos pela Universidade Federal de Santa Maria e para *C. jejuni* pela Fundação Oswaldo Cruz (CCAMP0008 e CCAMP00159). Como controle negativo foi utilizada água ultrapura. Os produtos amplificados foram identificados por eletroforese em gel de agarose (1,5%), corado com Blue Green (LGCbio®), visualizado sob luz UV

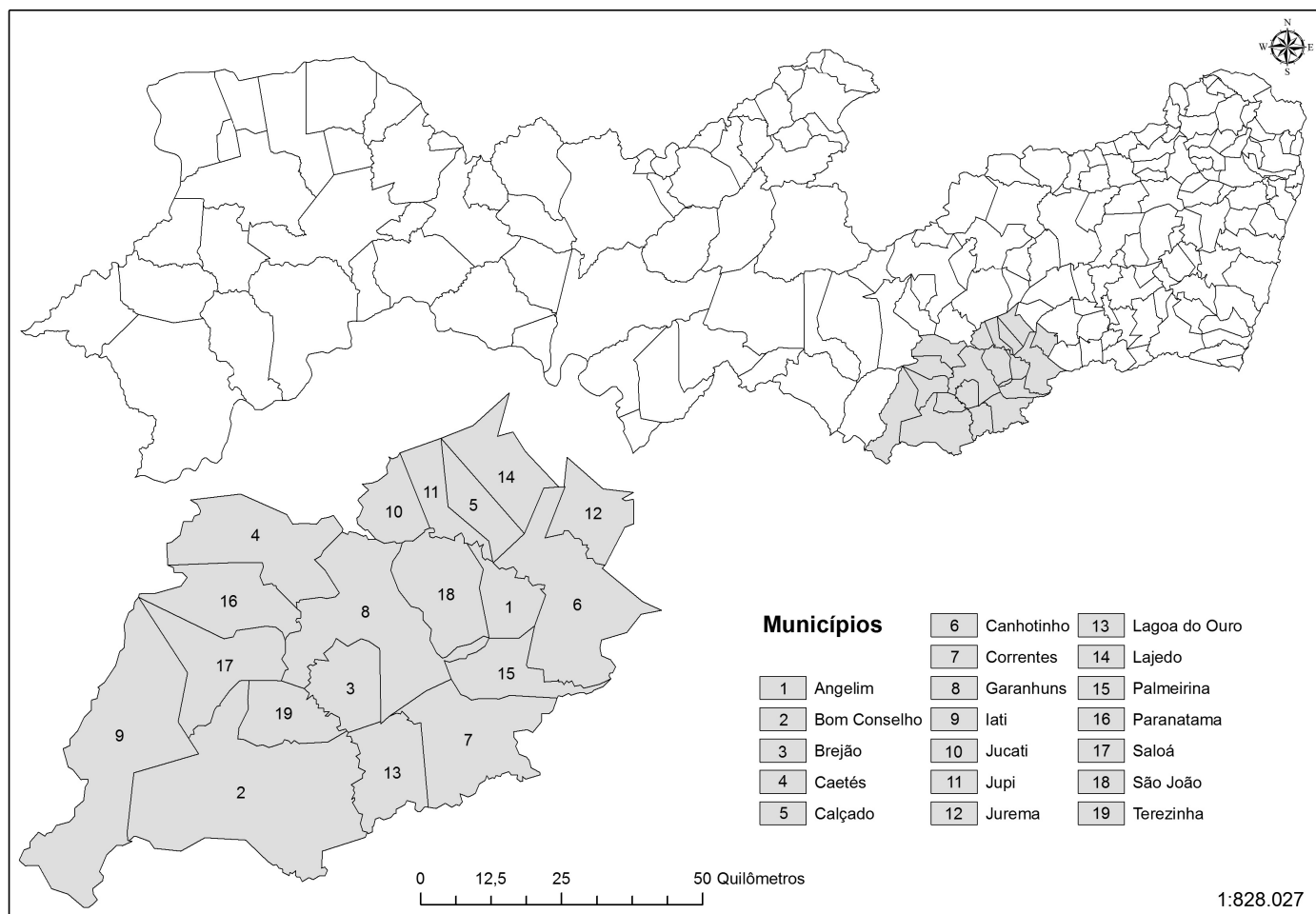


Fig.1. Área de estudo da ocorrência da infecção por *Campylobacter* spp. em ovinos na microrregião Garanhuns, estado de Pernambuco.

e documentado por sistema de captura de imagem (Loccus biotecnologia, L. PIX, Cotia, Brasil).

Análise dos fatores de risco. Foi aplicado um questionário investigativo padronizado, composto por questões objetivas sobre o manejo higiênico-sanitário e reprodutivo para coleta de dados os quais foram submetidos à análise univariada das variáveis de interesse por meio do teste qui-quadrado de Pearson, ou Exato de Fisher, quando necessário. Posteriormente foi feita uma análise multivariada através do modelo de regressão logística considerando como variável dependente a PCR (positiva ou negativa). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística $<0,20$. Essa probabilidade foi estipulada para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise (Hosmer & Lemeshow 1989). O programa EPIInfo 3.5.2., foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos.

Preparação dos mapas de ocorrência da infecção por *Campylobacter* spp. Foram construídos mapas temáticos com a distribuição das ocorrências da infecção por *Campylobacter* spp. na microrregião de Garanhuns, no estado de Pernambuco, Brasil. A localização das propriedades foi obtida com o auxílio de sistema de posicionamento

por satélite (GPS 76CSx, Garmin, Chicago, USA). Para o mapeamento e identificação dos aglomerados espaciais, os dados georreferenciados foram lançados no software Terra View 3.13.

Licença da comissão de ética. A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco com a licença nº 042/2014.

RESULTADOS

Das 421 amostras analisadas, 19 (4,5%; I.C. 2,8% - 7,1%) foram positivas para *Campylobacter* spp. Sendo oito (1,9%; I.C. 0,9% - 3,9%) amostras classificadas como *C. fetus* subsp. *fetus* e sete (1,7%; I.C. 0,7% - 3,6%) como *C. jejuni* a partir da PCR com os isolados, houve co-infecção em quatro amostras (0,95%). Em relação ao número de focos, 35,0% (7/20) das criações de ovinos estudadas apresentavam pelo menos um animal positivo (Fig.2 e 3).

Na análise univariada houve associação significativa para as variáveis: sistema de criação, compra de animais, não realização de quarentena e presença de problemas reprodutivos (Quadro 1). Na análise de regressão logística não foi confirmada nenhuma das variáveis como fator de risco.

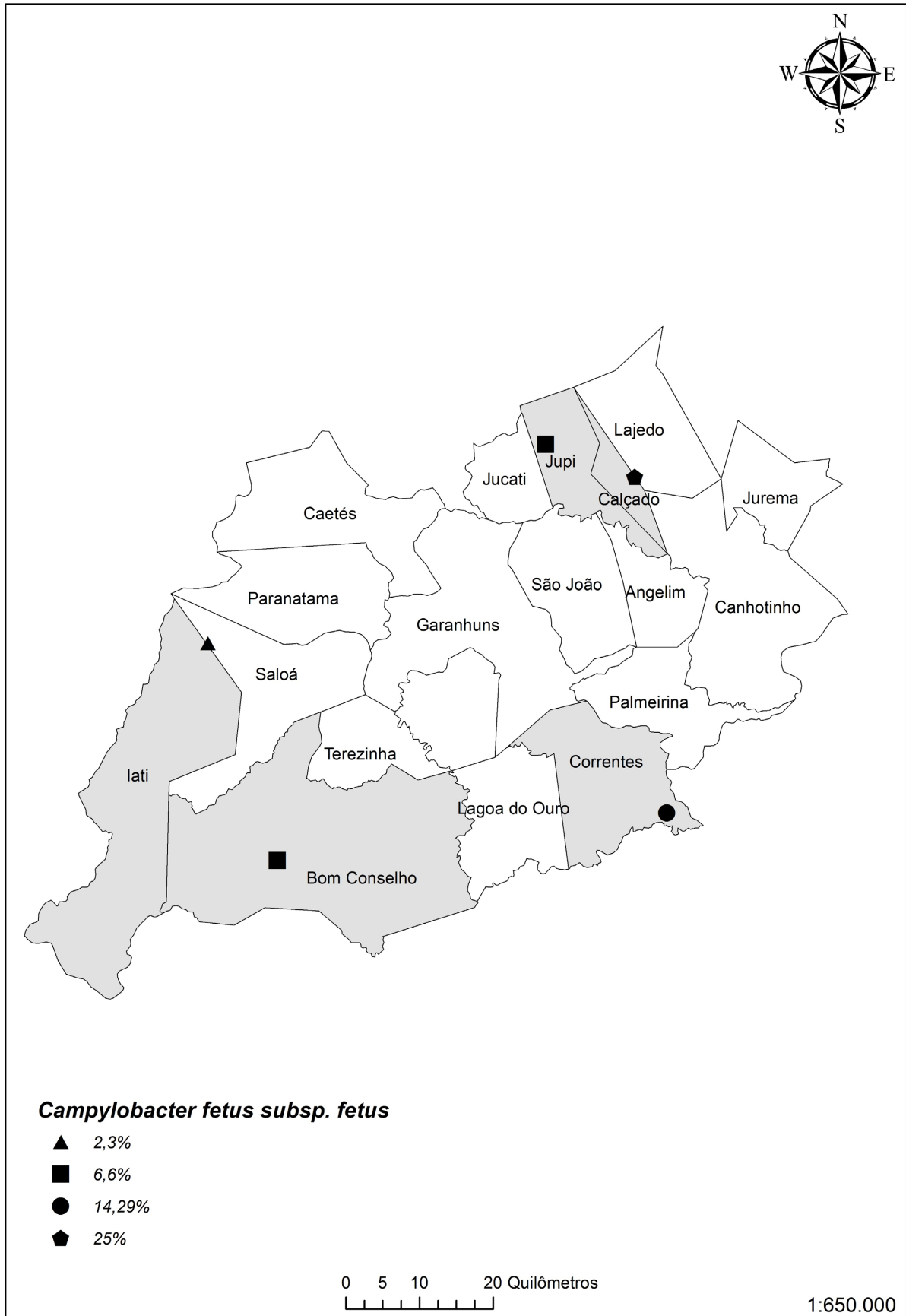


Fig.2. Distribuição da infecção por *Campylobacter fetus subsp. fetus* em ovinos na microrregião Garanhuns, estado de Pernambuco.

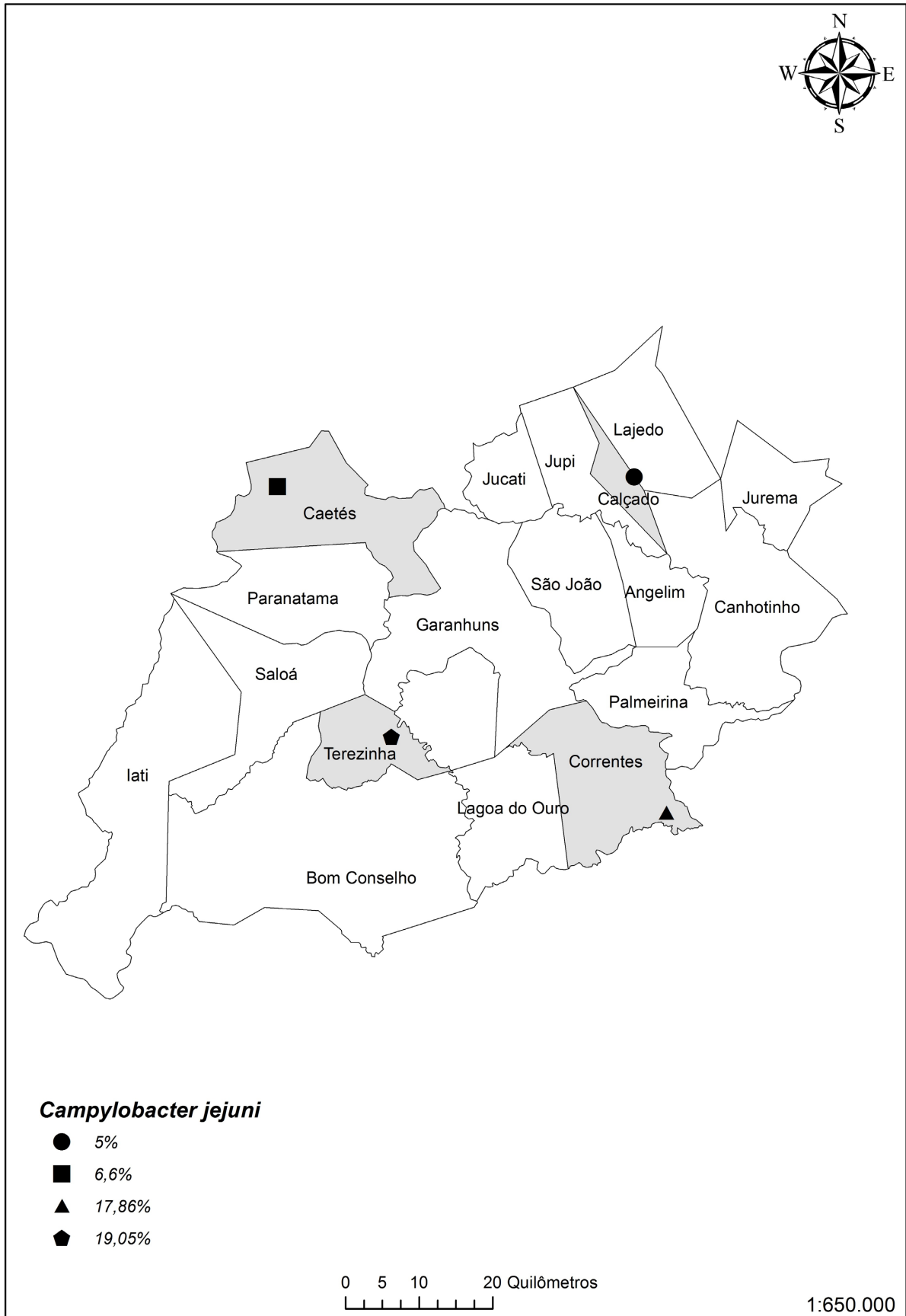


Fig.3. Distribuição da infecção por *Campylobacter jejuni* em ovinos na microrregião Garanhuns, estado de Pernambuco.

Quadro 1. Análise univariada dos fatores de riscos associados à infecção por *Campylobacter* spp. em ovinos do estado de Pernambuco

Variável	N ^a	PCR	Valor de p
		Positivo	
Área da propriedade			
Urbana	15	1 (6,7%)	0,569
Rural	386	18 (4,7%)	
Peri-urbana	20	0 (0,0%)	
Tamanho do criatório			
≤ 25 animais	115	2 (1,7%)	0,244
26 - 50 animais	201	11 (5,5%)	
51 - 100 animais	15	0 (0,0%)	
≥ 100 animais	90	6 (6,7%)	
Raça			
Definida	266	12 (4,5%)	0,587
Indefinida	155	7 (4,5%)	
Sexo			
Fêmea	311	11 (3,5%)	0,091
Macho	110	8 (7,3%)	
Idade (meses)			
≤ 9	71	1 (1,4%)	0,699
10 - 18	71	3 (4,2%)	
19 - 24	84	4 (4,8%)	
25 - 36	73	4 (5,5%)	
≥ 37	122	7 (5,7%)	
Sistema de Criação			
Intensivo	78	1 (1,3%)	0,007*
Semi-intensivo	285	11 (3,9%)	
Extensivo	58	7 (12,1%)	
Rebanho			
Fechado	114	1 (0,9%)	0,018*
Aberto	307	18 (5,9%)	
Alimentação			
Pastagem	145	7 (4,8%)	0,233
Pastagem com suplementação	179	5 (2,8%)	
Silo e concentrado	97	7 (7,2%)	
Origem da água fornecida			
Água parada	401	19 (4,7%)	0,388
Água corrente	20	0 (0,0%)	
Mudança de alimentação			
Sim	57	0 (0,0%)	0,059
Não	364	19 (5,2%)	
Problemas reprodutivos			
Sim	264	17 (6,4%)	0,008*
Não	157	2 (1,3%)	
Realização de quarentena			
Sim	105	1 (1,0%)	0,028*
Não	316	18 (5,7%)	
Acesso a alagadiços			
Sim	314	13 (4,1%)	0,346
Não	107	6 (5,6%)	
Utilização de esterqueira			
Sim	43	1 (2,3%)	0,402
Não	378	18 (4,8%)	
Criação de aves			
Sim	370	19 (5,1%)	0,081
Não	51	0 (0,0%)	

^a Número total de amostras; * p<0.05, associação significativa.

DISCUSSÃO

Este é o primeiro registro de infecção por *Campylobacter* spp. em ovinos no Nordeste do Brasil. No país, apenas três relatos da infecção foram previamente publicados. No estado do Rio Grande do Sul, Vargas et al. (2005) identificaram *C. jejuni* como causador de quatro abortos em um rebanho de 22 ovelhas, com a hipótese de que a infecção teria ocorrido devido à presença de aves na propriedade, que se alimentavam e bebiam água juntamente com os ovinos. Enquanto que Gressler et al. (2012), por método molecular detectaram *C. fetus* subsp. *fetus* em dois natimortos e quatro fetos, naturalmente infectados, no terço final da gestação. No estado de São Paulo ocorreu isolamento de *Campylobacter* spp. em 3,75% (10/274) de amostras fecais de ovelhas que apresentavam histórico de problemas reprodutivos (Rizzo et al. 2015).

Observou-se que embora neste estudo *C. fetus* subsp. *fetus* tenha sido identificada com uma maior frequência, não houve grande diferença entre o número de isolados desta e de *C. jejuni*. Em diversas regiões do mundo *C. fetus* subsp. *fetus* tem sido a espécie mais frequentemente isolada, envolvida em problemas reprodutivos de rebanhos ovinos (Grogono-Thomas et al. 2003, Mannering et al. 2004, Campero et al. 2005, Duncan et al. 2014, Hamali et al. 2014). Porém, nos Estados Unidos observou-se um aumento da frequência de *C. jejuni* em relação a *C. fetus* subsp. *fetus* (DeLong et al. 1996). Independentemente das diferentes frequências de isolamento das espécies de *Campylobacter* spp. encontradas nos estudos, destaca-se que *C. fetus* subsp. *fetus* e *C. jejuni* podem causar problemas reprodutivos em ovinos.

No que se refere ao número de propriedades com animais positivos, observou-se uma distribuição do agente entre os rebanhos da região estudada (7/20). Isto é preocupante uma vez que já foi demonstrado que uma pequena proporção de animais pode ser responsável por grande eliminação da bactéria (Stanley & Jones 2003). Através dessa distribuição espacial da infecção, pode-se estabelecer um planejamento e elaboração de medidas que possam controlar a disseminação do agente. A estruturação espacial de doenças infecciosas é considerada uma fonte de informação prévia, auxiliando atividades de investigação e de gestão relacionadas à vigilância de doenças, respostas a surtos, ou até mesmo otimização da descoberta de patógenos (Caprarelli & Fletcher 2014, Murray et al. 2015).

Das sete criações positivas para *Campylobacter* spp., cinco (71,4%) tinham histórico de problemas reprodutivos e em todas elas os casos de abortos ocorreram no terço final de gestação, fato que corrobora com outros estudos sobre campilobacteriose ovina (Hedstrom et al. 1987, Sanad et al. 2014, Skirrow 1994). Estudos devem ser conduzidos para identificação da bactéria na placenta das ovelhas e nos fetos abortados para confirmar a participação do agente nos casos de abortos em ovinos.

Já foi demonstrada também a possibilidade de se identificar e classificar *Campylobacter* diretamente de amostras frescas através da PCR, pois a recuperação de células bacterianas viáveis muitas vezes se torna difícil diante da instabilidade e exigências de crescimento (Iraola et al. 2012, Fallah et al. 2014).

As pesquisas desenvolvidas com *Campylobacter* spp. em ovinos geralmente são realizadas em rebanhos com histórico de problemas reprodutivos. Desta forma, acredita-se que estudos epidemiológicos devem ser realizados em rebanhos

sem problemas reprodutivos, com o intuito de identificar a espécie ovina como reservatório para diminuir a contaminação do ambiente e prevenir casos de abortos. Estudos já indicam que ovinos saudáveis podem participar de maneira mais significativa que os bovinos na contaminação do ambiente e dos alimentos por eliminação de *Campylobacter* spp. (Stanley et al. 1998, Açık & Çetinkaya 2006).

Os fatores que interferem na eliminação fecal de micro-organismos zoonóticos, como *Campylobacter*, ainda não estão bem esclarecidos, com poucos dados disponíveis sobre animais naturalmente infectados. Estudos tem demonstrado que existe sazonalidade nessa eliminação em países de clima temperado (Stanley et al. 1998, Grove-White et al. 2010, Jorgensen et al. 2011, Duncan et al. 2014), porém em países de clima tropical, como o Brasil, não se tem registros da influência das estações do ano na eliminação desta bactéria.

Ainda sobre os problemas reprodutivos, alguns autores já afirmaram que as taxas de eliminação de *Campylobacter* spp. podem tornar-se elevadas devido ao estresse ou a infecções múltiplas, que reduzem a imunidade dos animais (Stanley & Jones 2003, Yang et al. 2014). Jones et al. (1999) observaram que quantidades mais elevadas de eliminação da bactéria coincidem com a parição, desmame e troca de pasto, como também as ovelhas que não estavam eliminando *Campylobacter* spp. antes do parto iniciaram a eliminação do agente após a parição. No presente estudo, todas as amostras de fezes positivas foram oriundas de animais com mudança recente na alimentação.

Em todas as criações do estudo não se fazia qualquer tipo de controle de moscas e a presença dessas era comum nas propriedades. Foi comprovado que em propriedades onde os animais eliminam *Campylobacter* spp. nas fezes, as moscas podem servir como vetores, contaminando a água e os alimentos, apesar da baixa carga bacteriana carregada a partir delas (Sproston et al. 2010). Também não foram observadas boas práticas de higiene, como a limpeza das botas dos funcionários, o que pode ser importante na introdução e manutenção da exposição dos animais ao agente, bem como dos próprios funcionários (Kazwala et al. 1990, Humphrey et al. 1993).

A relação entre ovinos e infecções por *Campylobacter* spp. em humanos já foi relatada (Raji et al. 2000). Os resultados obtidos com esse estudo possuem impacto para saúde pública, uma vez que a presença desse agente no ambiente pode favorecer a infecção em humanos (Whiley et al. 2013). *Campylobacter* spp. é um patógeno frequente nas infecções humanas causando desde gastroenterite até bacteremia e uma variedade de complicações sistêmicas (Adak et al. 2005, Zonios et al. 2005, de Boer et al. 2013). No geral, a campilobacteriose é das doenças infecciosas mais importantes que desafiarão a saúde global nos próximos anos (Kaakoush et al. 2015).

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos observa-se que os ovinos são infectados por *Campylobacter* spp.

Assim, é necessária a implementação de medidas de controle e prevenção, para impedir a propagação do agente nas criações, evitando danos à produção de ovinos e os riscos para a saúde pública, uma vez que campilobacteriose é considerada uma zoonose emergente.

Agradecimentos.- À FACEPE pela bolsa concedida e ao CNPq pelo apoio financeiro (processo nº447664/2014-0).

REFERÊNCIAS

- Açık M.N. & Cetinkaya B. 2006. Heterogeneity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from healthy sheep. *Vet. Microbiol.* 115(4):370-375. PMID:16574349. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.02.014>.
- Adak G.K., Meakins S.M., Yip H., Lopman B.A. & O'Brien S.J. 2005. Disease risks from foods, England and Wales, 1996-2000. *Emerg. Infect. Dis.* 11(3):365-372. PMID:15757549. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1103.040191>.
- Agerholm J.S., Aalbaek B., Fog-Larsen A.M., Boye M., Holm E., Jensen T.K., Lindhardt T., Larsen L.E. & Buxton D. 2006. Veterinary and medical aspects of abortion in Danish sheep. *Apmis* 114(2):146-152. PMID:16519752. http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2006.apm_362.x.
- Campero C.M., Anderson M.L., Walker R.L., Blanchard P.C., Barbano L., Chiu P., Martínez A., Combessies G., Bardon J.C. & Cordeviola J. 2005. Immunohistochemical identification of *Campylobacter fetus* in natural cases of bovine and ovine abortions. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.* 52(3):138-141. PMID:15876227. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0450.2005.00834.x>.
- Caprarello G. & Fletcher S. 2014. A brief review of spatial analysis concepts and tools used for mapping, containment and risk modelling of infectious diseases and other illnesses. *Parasitology* 141(5):581-601. PMID:24476672. <http://dx.doi.org/10.1017/S0031182013001972>.
- de Boer R.F., Ott A., Güren P., van Zanten E., van Belkum A. & Kooistra-Smith A.M.D. 2013. Detection of *Campylobacter* species and *Arcobacter butzleri* in stool samples by use of real-time multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* 51(1):253-259. PMID:23152553. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01716-12>.
- Delong W.J., Jaworski M.D. & Ward A.C. 1996. Antigenic and restriction enzyme analysis of *Campylobacter* spp. associated with abortion in sheep. *Am. J. Vet. Res.* 57(2):163-167. PMID:8633801.
- Duncan J.S., Leatherbarrow A.J.H., French N.P. & Grove-White D.H. 2014. Temporal and farm-management-associated variation in faecal-pat prevalence of *Campylobacter fetus* in sheep and cattle. *Epidemiol. Infect.* 142(6):1196-1204. PMID:24067441. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268813002379>.
- Fallah S., Hamali H., Joozani R.J., Zare P. & Noorsaadat G. 2014. A molecular (PCR) survey on abortions caused by *Campylobacter* spp. in sheep flocks located on the suburb of Tabriz. *Iran. J. Vet. Sci. Technol.* 6(1):23-29.
- Gilpin B.J., Scholes P., Robson B. & Savill M.G. 2008. The transmission of thermotolerant *Campylobacter* spp. to people living or working on dairy farms in New Zealand. *Zoonoses Public Health.* 55(7):352-360. PMID:18667028. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01142.x>.
- Gressler L.T., Kirinus J.K., Machado G., Libardoni F. & Vargas A.C. 2012. *Campylobacter fetus* subespécie *fetus*: abortamento e natimortalidade em ovinos. *Ciência Rural* 42(4):697-700. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000400020>.
- Grogono-Thomas R., Blaser M.J., Ahmadi M. & Newell D.G. 2003. Role of S-layer protein antigenic diversity in the immune responses of sheep experimentally challenged with *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*. *Infect. Immun.* 71(1):147-154. PMID:12496160. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.71.1.147-154.2003>.
- Grove-White D.H., Leatherbarrow A.J.H., Cripps P.J., Diggle P.J. & French N.P. 2010. Temporal and farm-management-associated variation in the faecal-pat prevalence of *Campylobacter jejuni* in ruminants. *Epidemiol. Infect.* 138(4):549-558. PMID:19845998. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268809991051>.
- Hamali H., Fallah S., Joozani R.J., Zare P. & Noorsaadat G. 2014. Detection of *Campylobacter* spp. in sheep aborted fetuses by PCR. *TLS* 3(2):49-56.
- Hedstrom O.R., Sonn R.J., Lassen E.D., Hultgren B.D., Crisman R.O., Smith B.B. & Snyder S.P. 1987. Pathology of *Campylobacter jejuni* abortion in sheep. *Vet. Pathol.* 24(5):419-426. PMID:3672807. <http://dx.doi.org/10.1177/030098588702400509>.
- Heuvelink A.E., van Heerwaarden C., Zwartkruis-Nahuis A., Tilburg J.J., Bos M.H., Heilmann F.G., Hofhuis A., Hoekstra T. & de Boer E. 2009. Two outbreaks of campylobacteriosis associated with the consumption of raw cows' milk. *Int. J. Food Microbiol.* 134(1-2):70-74. PMID:19167125. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.026>.
- Hosmer D.W. & Lemeshow S. 1989. Applied logistic regression. John Wiley and Sons, New York, USA.
- Hum S., Quinn K., Brunner J. & On S.L. 1997. Evaluation of a PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter fetus* subspecies. *Aust. Vet. J.* 75(11):827-831. PMID:9404619. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1997.tb15665.x>.
- Humphrey T.J., Henley A. & Lanning D.G. 1993. The colonization of broiler chickens with *Campylobacter jejuni*: some epidemiological investigations. *Epidemiol. Infect.* 110(3):601-607. PMID:8519325. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268800051025>.
- IBGE 2012. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda>> Acesso em 26 Jul. 2013.
- Iraola G., Hernández M., Calleros L., Paolicchi F., Silveyra S., Velilla A., Carretto L., Rodríguez E. & Pérez R. 2012. Application of a multiplex PCR assay for *Campylobacter fetus* detection and subspecies differentiation in uncultured samples of aborted bovine fetuses. *J. Vet. Sci.* 13(4):371-376. PMID:23271178. <http://dx.doi.org/10.4142/jvs.2012.13.4.371>.
- Jones K., Howard S. & Wallace J.S. 1999. Intermittent shedding of thermophilic campylobacters by sheep at pasture. *J. Appl. Microbiol.* 86(3):531-536. PMID:10196758. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00702.x>.
- Jorgensen F., Ellis-Iversen J., Rushton S., Bull S.A., Harris S.A., Bryan S.J., Gonzalez A. & Humphrey T.J. 2011. Influence of season and geography on *Campylobacter jejuni* and *C. coli* subtypes in housed broiler flocks reared in Great Britain. *Appl. Environ. Microbiol.* 77(11):3741-3748. PMID:21460110. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02444-10>.
- Kaakoush N.O., Castaño-Rodríguez N., Mitchell H.M. & Man S.M. 2015. Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 28(3):687-720. PMID:26062576. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00006-15>.
- Kazwala R.R., Collins J.D., Hannan J., Crinion R.A. & O'Mahony H. 1990. Factors responsible for the introduction and spread of *Campylobacter jejuni* infection in commercial poultry production. *Vet. Rec.* 126(13):305-306. PMID:2188414.
- Ketley J.M. 1997. Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. *Microbiology* 143(Pt 1):5-21. PMID:9025274. <http://dx.doi.org/10.1099/00221287-143-1-5>.
- Lander K.P. 1990. The development of a transport and enrichment medium for *Campylobacter fetus*. *Br. Vet. J.* 146(4):327-333. PMID:2397372. [http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1935\(11\)80025-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0007-1935(11)80025-4).
- Mannering S.A., West D.M., Fenwick S.G., Marchant R.M., Perkins N.R. & O'Connell K. 2004. Pulsed-field gel electrophoresis typing of *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* isolated from sheep abortions in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 52(6):358-363. PMID:15768136. <http://dx.doi.org/10.1080/00480169.2004.36452>.
- Murray K.A., Preston N., Allen T., Zambrana-Torrel C., Hosseini P.R. & Daszak P. 2015. Global biogeography of human infectious diseases. *Proc. Natl Acad. Sci.* 112(41):12746-12751. PMID:26417098. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1507442112>.
- Pinto A.P., Bacha F.B., Santos B.S., Driemeier D., Antoniassi N.A., Ribas N.L. & Lemos R.A. 2012. Sheep abortion associated with *Neospora caninum* in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 32(8):739-742. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012000800010>.
- Quinn P.J., Carter M.E., Markey B. & Carter G.R. 2014. Clinical Veterinary Microbiology. 2nd ed. Wolfe, London, UK.
- Raji M.A., Adekeye J.O., Kwaga J.K.P. & Bale J.O.O. 2000. Bioserogroups of *Campylobacter* species isolated from sheep in Kaduna State, Nigeria. *Small Rumin. Res.* 37(3):215-221. PMID:10867319. [http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(00\)00125-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00125-5).

- Rizzo H., Gregory L., Beraldi F., Carvalho A.F. & Pinheiro E.S. 2015. *Campylobacter* isolation from the feces of sheep with a history of reproductive disorders bred in the state of São Paulo, Brazil. *Semina, Ciênc. Agrárias* 36(6):4207-4214. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n6Supl2p4207>.
- Rizzo H., Gregory L., Beraldi F., Carvalho A.F., Pinheiro E.S. & Paulin L.M. 2014. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos no estado de São Paulo, Brasil. *Arqs Inst. Biológico, São Paulo* 81(2):99-106.
- Sahin O., Plummer P.J., Jordan D.M., Sulaj K., Pereira S., Robbe-Austerman S., Wang L., Yaeger M.J., Hoffman L.J. & Zhang Q. 2008. Emergence of a tetracycline-resistant *Campylobacter jejuni* clone associated with outbreaks of ovine abortion in the United States. *J. Clin. Microbiol.* 46(5):1663-1671. PMID:18322054. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00031-08>.
- Said B., Wright F., Nichols G.L., Reacher M. & Rutter M. 2003. Outbreaks of infectious disease associated with private drinking water supplies in England and Wales 1970-2000. *Epidemiol. Infect.* 130(3):469-479. PMID:12825731.
- Sanad Y.M., Jung K., Kashoma I., Zhang X., Kassem I.I., Saif Y.M. & Rajashekara G. 2014. Insights into potential pathogenesis mechanisms associated with *Campylobacter jejuni*-induced abortion in ewes. *BMC Vet. Res.* 10:274. PMID:25420712. <http://dx.doi.org/10.1186/s12917-014-0274-8>.
- Skirrow M.B. 1994. Diseases due to *Campylobacter*, *Helicobacter* and related bacteria. *J. Comp. Pathol.* 111(2):113-149. PMID:7806700. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9975\(05\)80046-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9975(05)80046-5).
- Sproston E.L., Ogden I.D., MacRae M., Forbes K.J., Dallas J.F., Sheppard S.K., Cody A., Colles F., Wilson M.J. & Strachan N.J.C. 2010. Multi-locus sequence types of *Campylobacter* carried by flies and slugs acquired from local ruminant faeces. *J. Appl. Microbiol.* 109(3):829-838. PMID:20337762. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04711.x>.
- Stanley K. & Jones K. 2003. Cattle and sheep farms as reservoirs of *Campylobacter*. *J. Appl. Microbiol.* 94(supl.):104S-113S. PMID:12675942. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.94.s1.12.x>.
- Stanley K.N., Wallace J.S., Currie J.E., Diggle P.J. & Jones K. 1998. Seasonal variation of thermophilic campylobacters in lambs at slaughter. *J. Appl. Microbiol.* 84(6):1111-1116. PMID:9717297. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00450.x>.
- Thrusfield M. 2007. *Veterinary Epidemiology*. 3rd ed. Blackwell Science, Cambridge, UK.
- Vargas A.C., Cecim M., Viana L.R., Spricigo D.A. & Costa M.M. 2005. Isolation of *Campylobacter jejuni* from ovine aborted fetus: case report. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57(3):317-320. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352005000300007>.
- Wang H., Farber J.M., Malik N. & Sanders G. 1999. Improved PCR detection of *Campylobacter jejuni* from chicken rinses by a simple sample preparation procedure. *Int. J. Food Microbiol.* 52(1-2):39-45. PMID:10573390. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00110-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00110-5).
- Whiley H., Van den Akker B., Giglio S. & Bentham R. 2013. The role of environmental reservoirs in human campylobacteriosis. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 10(11):5886-5907. PMID:24217177. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph10115886>.
- Wu Z., Sippy R., Sahin O., Plummer P., Vidal A., Newell D. & Zhang Q. 2014. Genetic diversity and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* isolates associated with sheep abortion in the United States and Great Britain. *J. Clin. Microbiol.* 52(6):1853-1861. PMID:24648552. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00355-14>.
- Yang R., Jacobson C., Gardner G., Carmichael I., Campbell A.J. & Ryan U. 2014. Longitudinal prevalence, faecal shedding and molecular characterisation of *Campylobacter* spp. and *Salmonella enterica* in sheep. *Vet. J.* 202(2):250-254. PMID:25175721. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.08.001>.
- Zonios D.I., Panayiotakopoulos G.D., Kabletsas E.O., Tzima E.L., Stefanou I. & Archimandritis A.J. 2005. *Campylobacter fetus* bacteraemia in a healthy individual: clinical and therapeutic implications. *J. Infect.* 51(4):329-332. PMID:16291287. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2004.08.023>.