

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA CLÍNICA

Joana Beuren

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE *CAMPYLOBACTER* spp.: UMA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA**

Porto Alegre

2023

Joana Beuren

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE *CAMPYLOBACTER* spp.: UMA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de conclusão de curso de especialização apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Microbiologia Clínica.

Orientadora: Prof. Dra. Mercedes Passos Geimba
Coorientadora: Prof. Ma. Rafaela Busnello

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

BEUREN, JOANA
IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE CAMPYLOBACTER spp.: UMA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA / JOANA BEUREN. -- 2023.
46 f.
Orientadora: Mercedes Passos Geimba.

Coorientadora: Rafaela Busnello.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Ciências Básicas da Saúde, Microbiologia clínica,
Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Campylobacter spp.. 2. ISO 10272. 3. PCR. 4.
Oligonucleotídeo . I. Passos Geimba, Mercedes, orient.
II. Busnello, Rafaela, coorient. III. Título.

RESUMO

As espécies termotolerantes de *Campylobacter* spp. são frequentemente apontadas como o agente etiológico mais comum nos casos de doenças veiculadas por alimentos em diversos países. Ao ser ingerido, esse microrganismo, por mecanismos de patogenicidade, desenvolve gastroenterite infecciosa, conhecida como campilobacteriose. Esta doença está diretamente relacionada à ingestão e manipulação incorreta de alimentos contaminados, especialmente carne de frango, sendo as aves o principal reservatório. A identificação e detecção deste microrganismo por vezes se torna inconsistente, devido às suas características de crescimento e cultivo em laboratório. Sua identificação é baseada em métodos imunológicos, bioquímicos e moleculares, sendo hoje, o método mais rápido e eficaz a técnica de PCR, pois apresenta maior reprodutibilidade, precisão e agilidade. Realizou-se uma revisão da literatura a fim de encontrar sequências de oligonucleotídeos das espécies de *Campylobacter* spp., podendo por fim, redesenhar-se esta sequência de forma que permitisse identificar o microrganismo ao nível de gênero, atendendo a ISO 10272. Após realizada a busca de artigos e trabalhos acadêmicos em plataformas on-line, como o Período da Capes, o site de buscas Scielo, o repositório digital Lume da UFRGS e o site da NCBI, disponível na PubMed, encontrou-se inúmeros trabalhos sobre *Campylobacter* spp. que se enquadravam nas análises descritas na ISO 10272. Estes trabalhos já apresentavam descritas a sequência de oligonucleotídeos e uma sequência comum entre as espécies *Campylobacter coli* e *C. jejuni*, o que permite, identificar o microrganismo ao nível de gênero, conforme proposto neste trabalho. Assim, espera-se desenvolver mais trabalhos na área microbiológica em questão, agilizando cada vez mais sua identificação e evitando sua propagação no ramo alimentício.

Palavras-chave: *Campylobacter* spp., oligonucleotídeos, molecular, PCR, ISO 10272.

ABSTRACT

The thermotolerant species of *Campylobacter* spp. are often identified as the most common etiologic agent in cases of foodborne illness in several countries. When ingested, this microorganism, through pathogenic mechanisms, develops infectious gastroenteritis, known as campylobacteriosis. This disease is directly related to the ingestion and incorrect handling of contaminated food, especially chicken meat, with birds being the main reservoir. The identification and detection of this microorganism sometimes becomes inconsistent, due to its characteristics of growth and cultivation in the laboratory. Its identification is based on immunological, biochemical and molecular methods, and today, the fastest and most effective method is the PCR technique, as it presents greater reproducibility, precision and agility. A review of the literature was carried out in order to find oligonucleotide sequences of *Campylobacter* spp. Searching for articles and academic papers on online platforms, Capes journal, the Scielo search engine, the UFRGS Lume digital repository and the NCBI website, available on PubMed, found numerous works on *Campylobacter* spp. that fit the analyzes described in ISO 10272. These studies already described the sequence of oligonucleotides and a common sequence between *Campylobacter coli* and *C. jejuni* species, which allows identifying the microorganism at the genus level, as proposed in this work. Thus, it is expected to develop more work in the microbiological area in question, increasingly speeding up its identification and preventing its spread in the food industry.

Keywords: *Campylobacter* spp., oligonucleotide, molecular, PCR, ISO 10272.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	6
1.1	OBJETIVOS.....	11
1.1.1	Objetivo geral.....	11
1.1.2	Objetivos específicos.....	11
2	ARTIGO CIENTÍFICO.....	12
3	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	26
	REFERÊNCIAS.....	27
	ANEXO A – NORMAS DA REVISTA VISA EM DEBATE.....	29

1 INTRODUÇÃO

***Campylobacter* spp. e sua importância**

As bactérias do gênero *Campylobacter* pertencem à família *Campylobacteraceae*, são bacilos gram negativos, com dimensões de 0,2 a 0,5 µm de largura e 0,5 a 8 µm de comprimento (Sierra-Arguelo, 2015; Facuri, 2018). Não formam esporos, sendo dessa forma, bacilos móveis que apresentam um único flagelo polar em uma ou em ambas as extremidades. Possuem motilidade em torno do próprio eixo (movimento do tipo “saca rolha” ou “vai-e-vem”) (Facuri, 2018).

Suas espécies são diferenciadas morfológicamente de outros microrganismos através de exames microscópicos, pois, quando em culturas jovens, são geralmente encontradas em formas de pequenos bastonetes espiralados ou encurvadas em forma de vírgula o que confere morfologia vibróide. Quando agrupados em cadeias podem apresentar forma similar à asa de gaivota ou em forma de “S” (Sierra-Arguelo, 2015; Facuri, 2018).

Quando a bactéria está exposta a situações desfavoráveis de crescimento, como baixas de temperatura, falta de nutrientes, altas concentrações de oxigênio ou meios de cultivo velhos, *Campylobacter* spp. podem modificar sua morfologia, passando da forma curvada e morfologia espiral à forma cocóide através de uma retração citoplasmática (Morgan, 2015).

A transição da morfologia colonial, de vibróide para cocóide não prejudica seu poder infectante em seres humanos, apenas não estará apto para sua forma cultivável (Morgan, 2015; Gonçalves, 2018).

São sensíveis à concentração de 2% de cloreto de sódio (NaCl), não se desenvolvem em meios com pH abaixo de 4,95, crescendo na faixa de pH entre 5,5 – 8,0, com valor próximo ao neutro (Facuri, 2018; Gonçalves, 2018).

O *Campylobacter* spp. requer meios de cultivo seletivos e um ambiente específico para seu crescimento (Morgan, 2015). São microaerófilas e, caracteristicamente, sensíveis ao oxigênio, necessitando de ambiente atmosférico específico constituído por, aproximadamente, 10% de gás carbônico (CO₂), 5% de oxigênio (O₂) e 85% de nitrogênio (NO₂) (Morgan, 2015; Facuri, 2018; Sierra-Arguelo, 2015). No entanto, existem cepas resistentes ao oxigênio, as quais são altamente prevalentes em carne de frango o que consolida sua importância como principal veículo de contaminação do patógeno ao consumidor. As espécies termotolerantes apresentam alta sensibilidade ao congelamento e não se multiplicam nestas condições, porém, podem permanecer viáveis por semanas se sobreviverem à queda de temperatura (Facuri, 2018).

Conforme Facuri (2018), as espécies de *Campylobacter* não são capazes de metabolizar carboidratos e lipídios, são mesófilas e se multiplicam entre 35°C e 37°C, no entanto, para as espécies *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis* a temperatura ótima de crescimento é em torno de 41°C e 43°C, com temperaturas mínima e máxima avaliadas em 30°C e 47°C, respectivamente. Estas espécies formam o grupo termotolerante de *Campylobacter*, sendo reconhecido como uma das principais causas de gastroenterite humana em diversos países, sendo as espécies de interesse epidemiológico e na saúde pública.

Campilobacteriose

A campilobacteriose é uma doença infecciosa causada pela espécie do gênero *Campylobacter* sendo uma grande preocupação da saúde pública em todo mundo (Gonçalves, 2018; Sierra-Arguelo, 2018).

A doença tem sido reportada, em países em desenvolvimento e desenvolvidos, como a de maior ocorrência e principal doença gastroentérica que acomete seres humanos, com índices crescentes e cada vez mais importantes. As espécies do gênero *Campylobacter* causadoras de gastroenterite, são as espécies termotolerantes, sendo *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* responsáveis por 80% - 90% dos casos (Oliveira, 2014).

Pessoas infectadas por *Campylobacter* spp. apresentam sintomas característicos como febre, dor abdominal e diarreia, que pode apresentar-se como moderada até como diarreia sanguinolenta (Oliveira, 2014; Lima, 2016). Os sintomas podem ser leves até mais graves, mas geralmente as pessoas se recuperam com um prazo médio de 10 dias. Há poucos relatos de consequências mais graves e que se estenderam por um longo prazo (Oliveira, 2014).

Os humanos adquirem a doença pela contaminação orofecal, através da ingestão de água e alimentos contaminados (Herpich, 2011), como a ingestão de carnes de aves cruas ou mal cozidas, leite não pasteurizado e alimentos mal processados em geral, além do contato direto com os animais que veiculam a doença (Kumar et al., 2001; Scarcelli et al., 2005). Porém, dentro todos os alimentos, estudos sugerem que o principal veículo de transmissão são os produtos de origem avícola, como por exemplo, carne de frango (Perdoncini, 2015; Rosa, 2015; Lima, 2016.).

O microrganismo faz parte da microbiota de animais, como suínos, bovinos e aves, localizando-se de forma comensal no trato gastrointestinal, ou seja, na maioria dos casos, as aves não desenvolvem doença clínica (Kuana, 2008). Essas bactérias são também comensais

em múltiplas espécies de animais selvagens e domésticos, e têm a capacidade de sobreviver em uma grande quantidade de ambientes (Keener et al., 2004).

Uma vez sendo a ingestão de alimentos a principal fonte de contágio por *Campylobacter* spp., entende-se que a própria manipulação, a falta de conhecimento por parte dos trabalhadores e por vezes a escassez nas condições de higiene e sanitárias pode afetar indústrias de alimentos, restaurantes e hospitais, constituindo um potencial risco à saúde pública (Rosa, 2015) e ocasionar a contaminação cruzada por este micro-organismo.

Conforme Sierra-Arguelo (2018), apesar da importância da detecção de *Campylobacter* spp. na carne de aves e em seus subprodutos, existem relativamente poucos estudos sobre a ocorrência, epidemiologia e resistência antimicrobiana desse patógeno. Diante deste quadro, entende-se a importância de estudos sobre as espécies de *Campylobacter* spp.

ISO 10272

Campylobacter é considerado de difícil cultivo, por se tratar de um microrganismo de crescimento lento e por exigir condições ambientais e laboratoriais específicas, como temperatura de armazenamento e condições de microaerofilia (Feistel, 2013).

A organização internacional de normalização (ISO) desempenham um papel importante na produção de normas para harmonizar e garantir a alta qualidade dos métodos utilizados para a segurança alimentar. Os métodos padrão ISO microbiológicos envolvem métodos de cultura 'tradicionais', que geralmente são considerados métodos de referência (Ferrari, 2023).

Em 2017 foi publicada a ISO 10272-1 descrevendo a detecção e enumeração de *Campylobacter* spp. em produtos destinados ao consumo humano, à alimentação animal e amostras ambientais, após a realização de método de enriquecimento seletivo (Benetti, 2016).

Em 2020 a ISO 10272-2 vem descrever um método direto, de detecção e a contagem de colônias de *Campylobacter* spp. em produtos destinados ao consumo humano, à alimentação animal e amostras ambientais (Benetti, 2016).

Ambas as metodologias não apresentam grandes diferenças metodológicas e são direcionadas para pesquisa das espécies termotolerantes (Feistel, 2013).

A ISO 10272 descreve métodos de cultivo em ágar seletivo, particularmente o ágar Carvão Cefoperazona Deoxicolato modificado (mCCDA), em atmosfera microaeróbica. Após, as colônias individuais são subcultivadas em ágar sangue não seletivo antes da realização dos testes de confirmação e identificação. Os procedimentos de confirmação incluem microscopia para observar a motilidade saca-rolhas típica e morfologia em forma de

espiral, um teste para a atividade da citocromo oxidase e incubação aeróbica a 25 °C. Os testes de identificação incluem detecção da atividade da catalase, hidrólise do hipurato e hidrólise do acetato de indoxil. Os testes de identificação permitem diferenciar *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis*. Como alternativa aos testes descritos no método de referência ISO 10272, podem ser usados testes moleculares, desde que o método alternativo seja adequado para o propósito e funcione tão bem quanto o método de referência ISO (Ferrari, 2023).

Porém, não existem métodos de PCR validados para esta ISO, o que torna seu estudo de fundamental importância para a detecção das espécies de *Campylobacter* spp.

Métodos de identificação de *Campylobacter* spp.

Os métodos de detecção e identificação rápidos voltados principalmente às indústrias de alimentos e aos órgãos de saúde são necessários para detectar as espécies do gênero *Campylobacter* e outros patógenos, sendo classificados em métodos imunológicos, bioquímicos e moleculares. Os métodos imunológicos são utilizados em sistemas de triagem de microrganismos patogênicos em alimentos e, portanto, os resultados positivos, considerados presuntivos, devem ser confirmados por métodos convencionais, mesmo quando são aprovados por órgãos oficiais. Dentre os métodos utilizados para a identificação e confirmação de *Campylobacter* spp. podemos citar os testes imunoenzimático como: ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*), VIDAS® *Campylobacter* (BioMérieux), teste imunoenzimático, que é acoplado a equipamento e métodos bioquímicos como “kits” miniaturizados que oferecem um rápido perfil bioquímico, economizando espaço, trabalho e tempo como o API campy (bioMérieux, França) (Feistel, 2013).

Porém, estes métodos se revelam por vezes inconsistentes, devido às características metabólicas do microrganismo em questão (Feistel, 2013).

Assim, foram desenvolvidos métodos que se baseiam nas características genotípicas. A reação de polimerase em cadeia (PCR) é uma das técnicas genéticas de maior aplicação em alimentos e pode ser considerada um processo seguro e vantajoso, pois este método recorre aos procedimentos baseados no DNA ou RNA bacteriano, que são considerados estáveis (Feistel, 2013). Através do método de PCR é possível amplificar milhares de vezes um fragmento de DNA.

A técnica de PCR e as sequências de oligonucleotídeos

Conforme Facuri (2018), para a realização da PCR são selecionados iniciadores, também conhecidos como primers ou oligonucleotídeos específicos para o microrganismo alvo, sendo estes desenvolvidos e avaliados por meio de diversos programas de bioinformática online, os quais utilizam a sequência do gene que se pretende avaliar para desenvolver os iniciadores. O par de iniciadores utilizado para a detecção do gênero deve ser capaz de detectar apenas as espécies, ou grupo de espécie, que pertencem ao gênero de interesse.

Para a identificação das espécies, a sequência iniciadora deve ser espécie-específicas, ou seja, detectar apenas a espécie de interesse dentro de um grupo ao qual se relaciona. Desta forma é interessante o gene conter regiões conservadas, porém com regiões variáveis para serem capazes de diferenciar as espécies, as quais muitas vezes são geneticamente idênticas (Facuri, 2018).

Segundo o autor apesar da importância das espécies termotolerantes de *Campylobacter* como agentes causadores de gastroenterites de origem alimentar, foram descritos poucos ensaios de PCR e nenhum método foi validado oficialmente. A identificação destes genes pode revelar-se inestimável para a detecção e identificação de espécies de *Campylobacter* em produtos alimentares e para diagnosticar indivíduos infectados com o patógeno.

Pensando neste cenário, torna-se tema relevante a verificação microbiológica de espécies em diversos produtos como forma de contribuir para a saúde da população.

Em paralelo, com o aumento expressivo do número de casos de campilobacteriose, há a necessidade de se realizar análises com maior agilidade, segurança e assertividade, uma vez que as espécies de *Campylobacter* exigem condições específicas para cultivo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Realizar revisão bibliográfica a fim de propor uma sequência de oligonucleotídeos para identificar *Campylobacter* spp. ao nível de gênero, aplicando-se à análise da ISO 10272.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Obter dados sobre sequência de oligonucleotídeos de *Campylobacter* spp. a partir da revisão bibliográfica de documentos de diferentes fontes;
- b) Organizar e tabular os dados coletados;
- c) Sugerir uma nova sequência de oligonucleotídeos que identifique *Campylobacter* spp. ao nível de gênero.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

Identificação molecular de *Campylobacter* spp.: uma revisão bibliográfica

Joana Beuren ^{a*}, ^b, Mercedes Passos Geimba ^c

^a Especialização em Microbiologia Clínica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICBS/UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2600 – Santa Cecília, CEP: 90035-003 - Prédio 21116 - Porto Alegre - RS – Brasil.

<https://lattes.cnpq.br/5553760316947049>

<https://orcid.org/0009-0006-5003-4358>

^b Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICBS/UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2600 – Santa Cecília, CEP: 90035-003 - Prédio 21116 - Porto Alegre - RS – Brasil.

<https://orcid.org/0000-0003-0032-1659>

* Corresponding author: Joana Beuren. ICBS/UFRGS, - jbeuren@univates.br. – +55 51980325158.

Resumo: As espécies termotolerantes de *Campylobacter* spp. são frequentemente apontadas como o agente etiológico mais comum nos casos de doenças veiculadas por alimentos em diversos países. Ao ser ingerido, esse microrganismo, por mecanismos de patogenicidade, desenvolve gastroenterite infecciosa, conhecida como campilobacteriose. Esta doença está diretamente relacionada à ingestão e manipulação incorreta de alimentos contaminados, especialmente carne de frango, sendo as aves o principal reservatório. A identificação e detecção deste microrganismo por vezes se torna inconsistente, devido às suas características de crescimento e cultivo em laboratório. Sua identificação é baseada em métodos imunológicos, bioquímicos e moleculares, sendo hoje, o método mais rápido e eficaz a técnica de PCR, pois apresenta maior reprodutibilidade, precisão e agilidade.

Realizou-se uma revisão da literatura a fim de encontrar sequências de oligonucleotídeos das espécies de *Campylobacter* spp., podendo por fim, redesenhar-se esta sequência de forma que permitisse identificar o microrganismo ao nível de gênero, atendendo a ISO 10272. Após realizada a busca de artigos e trabalhos acadêmicos em plataformas on-line, como o Período da Capes, o site de buscas Scielo, o repositório digital Lume da UFRGS e o site da NCBI, disponível na PubMed, encontrou-se inúmeros trabalhos sobre *Campylobacter* spp. que se enquadravam nas análises descritas na ISO 10272. Estes trabalhos já apresentavam descritas a sequência de oligonucleotídeos e uma sequência comum entre as espécies *Campylobacter coli* e *C. jejuni*, o que permite, identificar o microrganismo ao nível de gênero, conforme proposto neste trabalho. Assim, espera-se desenvolver mais trabalhos na área microbiológica em questão, agilizando cada vez mais sua identificação e evitando sua propagação no ramo alimentício.

Palavras-chave: *Campylobacter* spp., oligonucleotídeos, molecular, PCR.

Abstract: The thermotolerant species of *Campylobacter* spp. are often identified as the most common etiologic agent in cases of foodborne illness in several countries. When ingested, this microorganism, through pathogenic mechanisms, develops infectious gastroenteritis, known as campylobacteriosis. This disease is directly related to the ingestion and incorrect handling of contaminated food, especially chicken meat, with birds being the main reservoir. The identification and detection of this microorganism sometimes becomes inconsistent, due to its characteristics of growth and cultivation in the laboratory. Its identification is based on immunological, biochemical and molecular methods, and today, the fastest and most effective method is the PCR technique, as it presents greater reproducibility, precision and agility. A review of the literature was carried out in order to find oligonucleotide sequences of *Campylobacter* spp. Searching for articles and academic papers on online platforms, Capes journal, the Scielo search engine, the UFRGS Lume digital repository and the NCBI website, available on PubMed, found numerous works on *Campylobacter* spp. that fit the analyzes described in ISO 10272. These studies already described the sequence of oligonucleotides and a common sequence between *Campylobacter coli* and *C. jejuni* species, which allows identifying the

microorganism at the genus level, as proposed in this work. Thus, it is expected to develop more work in the microbiological area in question, increasingly speeding up its identification and preventing its spread in the food industry.

Keywords: *Campylobacter* spp., oligonucleotide, molecular, PCR.

Introdução

***Campylobacter* spp. e sua importância**

As bactérias do gênero *Campylobacter* pertencem à família *Campylobacteracea*, são bacilos gram negativos, com dimensões de 0,2 a 0,5 µm de largura e 0,5 a 8 µm de comprimento^{1,2}. Não formam esporos, sendo dessa forma, bacilos móveis que apresentam um único flagelo polar em uma ou em ambas as extremidades. Possuem motilidade em torno do próprio eixo (movimento do tipo “saca rolha” ou “vai-e-vem”)².

Suas espécies são diferenciadas morfologicamente de outros microrganismos através de exames microscópicos, pois, quando em culturas jovens, são geralmente encontradas em formas de pequenos bastonetes espiralados ou encurvadas em forma de vírgula o que confere morfologia vibróide. Quando agrupados em cadeias podem apresentar forma similar à asa de gaivota ou em forma de “S”^{1,2}.

Quando a bactéria está exposta a situações desfavoráveis de crescimento, como baixas de temperatura, falta de nutrientes, altas concentrações de oxigênio ou meios de cultivo velhos, *Campylobacter* spp. podem modificar sua morfologia, passando da forma curvada e morfologia espiral à forma cocóide através de uma retração citoplasmática³.

A transição da morfologia colonial, de vibróide para cocóide não prejudica seu poder infectante em seres humanos, apenas não estará apto para sua forma cultivável³.

São sensíveis à concentração de 2% de cloreto de sódio (NaCl), não se desenvolvem em meios com pH abaixo de 4,95, crescendo na faixa de pH entre 5,5 – 8,0, com valor próximo ao neutro⁴.

O *Campylobacter* spp. requer meios de cultivo seletivos e um ambiente específico para seu crescimento³. São microaerófilas e, caracteristicamente, sensíveis ao oxigênio, necessitando de ambiente atmosférico específico constituído

por, aproximadamente, 10% de gás carbônico (CO₂), 5% de oxigênio (O₂) e 85% de nitrogênio (NO₂)^{3, 4, 1}. No entanto, existem cepas resistentes ao oxigênio, as quais são altamente prevalentes em carne de frango o que consolida sua importância como principal veículo de contaminação do patógeno ao consumidor. As espécies termotolerantes apresentam alta sensibilidade ao congelamento e não se multiplicam nestas condições, porém, podem permanecer viáveis por semanas se sobreviverem à queda de temperatura².

Conforme Facuri², as espécies de *Campylobacter* não são capazes de metabolizar carboidratos e lipídios, são mesófilas e se multiplicam entre 35°C e 37°C, no entanto, para as espécies *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis* a temperatura ótima de crescimento é em torno de 41°C e 43°C, com temperaturas mínima e máxima avaliadas em 30°C e 47°C, respectivamente. Estas espécies formam o grupo termotolerante de *Campylobacter*, sendo reconhecido como uma das principais causas de gastroenterite humana em diversos países, sendo as espécies de interesse epidemiológico e na saúde pública.

Campilobacteriose

A campilobacteriose é uma doença infecciosa causada pela espécie do gênero *Campylobacter* sendo uma grande preocupação da saúde pública em todo mundo^{4, 5}.

A doença tem sido reportada, em países em desenvolvimento e desenvolvidos, como a de maior ocorrência e principal doença gastroentérica que acomete seres humanos, com índices crescentes e cada vez mais importantes. As espécies do gênero *Campylobacter* causadoras de gastroenterite, são as espécies termotolerantes, sendo *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* responsáveis por 80% - 90% dos casos⁶.

Pessoas infectadas por *Campylobacter* spp. apresentam sintomas característicos como febre, dor abdominal e diarreia, que pode apresentar-se como moderada até como diarreia sanguinolenta^{6, 7}. Os sintomas podem ser leves até mais graves, mas geralmente as pessoas se recuperam com um prazo médio de 10 dias. Há poucos relatos de consequências mais graves e que se estenderam por um longo prazo⁶.

Os humanos adquirem a doença pela contaminação orofecal, através da ingestão de água e alimentos contaminados⁸, como a ingestão de carnes de aves cruas ou mal cozidas, leite não pasteurizado e alimentos mal processados em geral, além do contato direto com os animais que veiculam a doença^{9, 10}. Porém, dentro todos os alimentos, estudos sugerem que o principal veículo de transmissão são os produtos de origem avícola, como por exemplo, carne de frango^{11, 12, 7}.

O microrganismo faz parte da microbiota de animais, como suínos, bovinos e aves, localizando-se de forma comensal no trato gastrointestinal, ou seja, na maioria dos casos, as aves não desenvolvem doença clínica¹³. Essas bactérias são também comensais em múltiplas espécies de animais selvagens e domésticos, e têm a capacidade de sobreviver em uma grande quantidade de ambientes¹⁴.

Uma vez sendo a ingestão de alimentos a principal fonte de contágio por *Campylobacter* spp., entende-se que a própria manipulação, a falta de conhecimento por parte dos trabalhadores e por vezes a escassez nas condições de higiene e sanitárias pode afetar indústrias de alimentos, restaurantes e hospitais, constituindo um potencial risco à saúde pública¹⁵ e ocasionar a contaminação cruzada por este micro-organismo.

Conforme Sierra-Arguelo⁵, apesar da importância da detecção de *Campylobacter* spp. na carne de aves e em seus subprodutos, existem relativamente poucos estudos sobre a ocorrência, epidemiologia e resistência antimicrobiana desse patógeno. Diante deste quadro, entende-se a importância de estudos sobre as espécies de *Campylobacter* spp.

ISO 10272

Campylobacter é considerado de difícil cultivo, por se tratar de um microrganismo de crescimento lento e por exigir condições ambientais e laboratoriais específicas, como temperatura de armazenamento e condições de microaerofilia¹⁶.

A organização internacional de normalização (ISO) desempenham um papel importante na produção de normas para harmonizar e garantir a alta qualidade dos métodos utilizados para a segurança alimentar. Os métodos padrão ISO microbiológicos envolvem métodos de cultura 'tradicionais', que geralmente são considerados métodos de referência¹⁷.

Em 2017 foi publicada a ISO 10272-1¹⁸ descrevendo a detecção e enumeração de *Campylobacter* spp. em produtos destinados ao consumo humano, à alimentação animal e amostras ambientais, após a realização de método de enriquecimento seletivo¹⁹.

Em 2020 a ISO 10272-2²⁰ vem descrever um método direto, de detecção e a contagem de colônias de *Campylobacter* spp. em produtos destinados ao consumo humano, à alimentação animal e amostras ambientais¹⁹.

Ambas as metodologias não apresentam grandes diferenças metodológicas e são direcionadas para pesquisa das espécies termotolerantes¹⁶.

A ISO 10272 descreve métodos de cultivo em ágar seletivo, particularmente o ágar Carvão Cefoperazona Deoxicolato modificado (mCCDA), em atmosfera microaeróbica. Após, as colônias individuais são subcultivadas em ágar sangue não seletivo antes da realização dos testes de confirmação e identificação. Os procedimentos de confirmação incluem microscopia para observar a motilidade saca-rolhas típica e morfologia em forma de espiral, um teste para a atividade da citocromo oxidase e incubação aeróbica a 25 °C. Os testes de identificação incluem detecção da atividade da catalase, hidrólise do hipurato e hidrólise do acetato de indoxil. Os testes de identificação permitem diferenciar *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis*. Como alternativa aos testes descritos no método de referência ISO 10272, podem ser usados testes moleculares, desde que o método alternativo seja adequado para o propósito e funcione tão bem quanto o método de referência ISO¹⁷.

Porém, não existem métodos de PCR validados para esta ISO, o que torna seu estudo de fundamental importância para a detecção das espécies de *Campylobacter* spp.

Métodos de identificação de *Campylobacter* spp.

Os métodos de detecção e identificação rápidos voltados principalmente às indústrias de alimentos e aos órgãos de saúde são necessários para detectar as espécies do gênero *Campylobacter* e outros patógenos, sendo classificados em métodos imunológicos, bioquímicos e moleculares. Os métodos imunológicos são utilizados em sistemas de triagem de microrganismos patogênicos em alimentos e, portanto, os resultados positivos, considerados presuntivos, devem ser confirmados por métodos convencionais, mesmo quando são aprovados por órgãos oficiais.

Dentre os métodos utilizados para a identificação e confirmação de *Campylobacter* spp. podemos citar os testes imunoenzimático como: ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*), VIDAS® *Campylobacter* (BioMérieux), teste imunoenzimático, que é acoplado a equipamento e métodos bioquímicos como “kits” miniaturizados que oferecem um rápido perfil bioquímico, economizando espaço, trabalho e tempo como o API campy (bioMérieux, França)¹⁶.

Porém, estes métodos se revelam por vezes inconsistentes, devido às características metabólicas do microrganismo em questão¹⁶.

Assim, foram desenvolvidos métodos que se baseiam nas características genotípicas. A reação de polimerase em cadeia (PCR) é uma das técnicas genéticas de maior aplicação em alimentos e pode ser considerada um processo seguro e vantajoso, pois este método recorre aos procedimentos baseados no DNA ou RNA bacteriano, que são considerados estáveis¹⁶. Através do método de PCR é possível amplificar milhares de vezes um fragmento de DNA.

A técnica de PCR e as sequências de oligonucleotídeos

Conforme Facuri², para a realização da PCR são selecionados iniciadores, também conhecidos como primers ou oligonucleotídeos específicos para o microrganismo alvo, sendo estes desenvolvidos e avaliados por meio de diversos programas de bioinformática online, os quais utilizam a sequência do gene que se pretende avaliar para desenvolver os iniciadores. O par de iniciadores utilizado para a detecção do gênero deve ser capaz de detectar apenas as espécies, ou grupo de espécie, que pertencem ao gênero de interesse.

Para a identificação das espécies, a sequência iniciadora deve ser espécie-específicas, ou seja, detectar apenas a espécie de interesse dentro de um grupo ao qual se relaciona. Desta forma é interessante o gene conter regiões conservadas, porém com regiões variáveis para serem capazes de diferenciar as espécies, as quais muitas vezes são geneticamente idênticas².

Segundo o autor apesar da importância das espécies termotolerantes de *Campylobacter* como agentes causadores de gastroenterites de origem alimentar, foram descritos poucos ensaios de PCR e nenhum método foi validado oficialmente. A identificação destes genes pode revelar-se inestimável para a detecção e

identificação de espécies de *Campylobacter* em produtos alimentares e para diagnosticar indivíduos infectados com o patógeno.

Pensando neste cenário, torna-se tema relevante a verificação microbiológica de espécies em diversos produtos como forma de contribuir para a saúde da população.

Em paralelo, com o aumento expressivo do número de casos de campilobacteriose, há a necessidade de se realizar análises com maior agilidade, segurança e assertividade, uma vez que as espécies de *Campylobacter* exigem condições específicas para cultivo.

Método

Foi realizado um trabalho de revisão narrativa da literatura sobre o tema abordado utilizando as seguintes palavras-chave: ISO 10272, *Campylobacter*, sequência de oligonucleotídeos, análise molecular e PCR, com o propósito de sintetizar e analisar os estudos científicos disponíveis nas bases de dados.

Os critérios de inclusão dos artigos científicos foram a partir de palavras-chave, delimitação de tempo (20 anos), idioma de origem e aderência ao tema. A busca de periódicos foi realizada por meio do portal de periódicos da Capes, disponível no endereço <http://www.periodicos.capes.gov.br/>, Repositório digital da UFRGS – LUME, disponível em <https://www.lume.ufrgs.br/>, Scientific Electronic Library Online - Scielo, disponível em <http://www.scielo.br/>, assim como nas ferramentas de busca da National Center for Biotechnology Information (NCBI), em PubMed, disponível no endereço <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>.

Após sua leitura, foi criada uma tabela com as diversas sequências de oligonucleotídeos encontrados, para sintetizar as informações. A partir disso, realizou-se comparação entre as sequências de oligonucleotídeos para identificar semelhanças ou diferenças, a fim de encontrar uma sequência comum para todos os genes, ou algo que permitisse criar uma nova sequência capaz de identificar o microrganismo ao nível de gênero, agilizando sua identificação no dia-a-dia laboratorial.

Resultados e Discussão

A busca de periódicos no portal da Capes, disponível no endereço <http://www.periodicos.capes.gov.br/> através das palavras chave *Campylobacter*, ISO 10272 e PCR resultou em 23 artigos. Destes 23 artigos nenhum apresentou o desenho da sequência de oligonucleotídeos para o microrganismo em questão. Os trabalhos faziam referência à identificação de *Campylobacter* em diversas matrizes e/ou apresentavam comparações de método tradicional por plaqueamento e PCR para identificação da bactéria. Quando utilizada a palavra-chave *primer* em vez de sequência de oligonucleotídeos, o portal encontrou dois artigos. Ferrari et al¹⁷ apresentou um estudo de validação dos métodos descritos na ISO 10272 – 1 (método tradicional por enriquecimento e plaqueamento) e ISO 10272 – 2 (identificação por PCR), e o outro um estudo de otimização do Método de PCR para Detecção de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* em amostras de carne de frango prontas para o consumo²¹. Ambos os artigos não apresentaram nenhuma sequência de oligonucleotídeos como resultado para identificar o microrganismo.

A plataforma de pesquisa Scientific Eletronic Library Online - Scielo, disponível em <http://www.scielo.br/> apresentou um artigo disponível, quando a busca foi feita pelas palavras-chave ISO 10272 e *primer*. O estudo realizado por Benetti et al¹⁹ apresentou uma Avaliação dos métodos direto e de enriquecimento ISO 10272 para detecção de *Campylobacter spp.* em carne de frango, também não apresentando a sequência de oligonucleotídeos.

A pesquisa na base de dados on-line da National Center for Biotechnology Information (NCBI), em PubMed encontrou 5 artigos científicos, quando a busca foi realizada também pelas palavras-chave ISO 10272, PCR e *primer*. Dentre eles, somente dois com acesso gratuito. Anampa et al²² realizaram um estudo para detecção do gene *ermB* associado à resistência a macrolídeos em cepas isoladas em frangos comercializados em Lima, no Peru. E, Vizzini et al²³ desenvolveram um estudo para desenvolver novos primers, que têm como alvo os genes 16S-23S rRNA de *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis*. Destes dois, o artigo de Vizzini et al²³ apresentou o desenho das sequência de oligonucleotídeos buscada.

A busca pelas palavras-chave ISO 10272 e *primer* no Repositório digital da UFRGS – LUME, disponível em <https://www.lume.ufrgs.br/>, apresentou como resultado 14 trabalhos, entre eles trabalhos de conclusão de cursos de Pós Graduação e artigos científicos. Destes, 8 apresentaram sequências de oligonucleotídeos para o microrganismo em questão.

Dos oito artigos analisados, sete deles^{1, 3, 5, 7, 11, 23, 24} apresentaram a mesma sequência de oligonucleotídeos como referência para o desenvolvimento do seu trabalho. Sequências e primers descritos por Denis et al²⁵ e Linton et al²⁶, conforme descrito na Tabela 1. Os autores mencionam também, sequências em comum para as duas espécies de *Campylobacter*.

Tabela 1 – Sequência de primer utilizada nos estudos.

Gene	Primer	Sequência (5' – 3')	Amplificação	Referência Bibliográfica
16S rRNA	MD16S1 MD16S2	Fa – ATCTAATGGCTTAACCATTAAAC Rb – GGACGGTAACTAGTTTAGTATT	Região em comum entre as espécies <i>C. jejuni</i> e <i>C. coli</i> - 857 pb	(Denis et al ²⁵ e Linton et al, ²⁶)
mapA	MDmapA1 MDmapA2	Fa – CTATTTTATTTTTGAGTGCTTGTG Rb – CTTTATTTGCCATTTGTTTTATTA	589 pb - <i>C. jejuni</i>	(Denis et al ²⁵)
ceuE	col3 MDcol2	Fa – AATTGAAAATTGCTCCAACATG Rb – TGATTTTATTATTTGTAGCAGCG	462 pb – <i>C. coli</i>	

Estes sete artigos analisados desenvolveram pesquisas para a identificação das espécies termotolerantes de *Campylobacter* spp. (*Campylobacter coli* e *C. jejuni*) em carnes e carcaças de frango, sua presença nos estabelecimentos matadouros frigoríficos e verificação da resistência do microrganismo frente ao teste a antibióticos.

Todos os trabalhos mencionados fazem referência às espécies *Campylobacter coli* ATCC 43478 e *Campylobacter jejuni* ATCC 29428.

O oitavo trabalho²³ analisado realizou PCR em tempo real livre de enriquecimento para identificação e quantificação rápida de *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis* em amostras de carne de frango através de um novo par de primers. Mesmo encontrando um novo desenho de primer, Vizzini et al²³ utilizaram cepas padrão como controles positivos e negativos.

Conclusões

Após realizada revisão bibliográfica sobre o tema proposto e analisar os resultados encontrados, foi possível concluir que existem inúmeros trabalhos que tratam do gênero *Campylobacter* spp. e suas espécies, especialmente sobre *C. coli* e *C. jejuni*, espécies termotolerantes encontradas com maior frequência em amostras de alimentos ou amostras ambientais.

Devido ao expressivo número de trabalhos e ao desenvolvimento cada vez maior de análises realizadas por PCR, encontramos já descritos os primers e sequências de oligonucleotídeos para as espécies e também a sequências em comum para elas, o que permite que o microrganismo seja identificado ao nível do gênero *Campylobacter* spp.

Referências

1. Sierra-Arguello YM. Detecção de fatores de virulência e resistência antimicrobiana em estirpes de *Campylobacter* spp. em isolados humanos e de matadouros-frigoríficos de aves na Região Sul do Brasil. [tese] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015. 147 p. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/206742>.
2. Facuri JCF. Isolamento e caracterização molelular de *Campylobacter* termotolerantes de origem avícola. [tese]. [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2018. 93 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/9213>.
3. Morgan RB. Detecção e análise dos genes *cadF* e *flaA* de *Campylobacter* spp. em caixas de transporte de frango de corte após processo de lavagem e desinfecção em matadouro frigorífico de aves no Sul do Brasil. [dissertação] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015. 37p. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/206537>.
4. Gonçalves AG. Padronização de PCR para detecção direta e diferenciação de espécies de *Campylobacter* em Queijo Minas Artesanal. [dissertação] [Juiz de Fora (MG)]. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2018. 89 p. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/8282>.
5. Sierra-Arguello YM, Quedi Furian T, Perdoncini G, Moraes HLS, Salle CTP, Rodrigues LB, et al. (2018) Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from poultry and human samples assessed by PCRrestriction

fragment length polymorphism assay. PLoS ONE 13(7):e0199974. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199974>.

6. Oliveira JJ. Isolamento e caracterização de *Campylobacter* spp. em carcaças de frango e ovos comerciais. [dissertação]. [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2014. 83 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/7868>.

7. Lima LM, Perdoncini G, Borges KA, Furian TQ, Salle CTP, Moraes HLS, Nascimento VP. Prevalence and distribution of pathogenic genes in *Campylobacter jejuni* isolated from poultry and human source. *The Journal of Infection in Developing Countries* 2022; 16(9):1466-1472. Doi:10.3855/jidc.16485.

8. Herpich JI. A técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) para detecção de genes de virulência em *Campylobacter jejuni* e sua aplicação da rotina veterinária. [monografia]. [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2011/2. 59 p. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/61041>.

9. Kumar A. et al. Occurrence of *Campylobacter jejuni* in vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v.67, n.1/2, p.153-155, 2001.

10. Scarcelli E. et al. Molecular subtyping of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* strains isolated from different animal species in the state of São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.36, n.4, p.378-382, 2005.

11. Perdoncini G. Avaliação de *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* em etapas do processamento de frangos de corte [tese] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015. 133p. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/116163>.

12. Lima LM. Detecção de genes associados à virulência em cepas de *Campylobacter jejuni* de origem aviária e humana. [dissertação] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2016. 48 p. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/171251>.

13. Kuana SL.; Ocorrência de *Campylobacter* em lotes de frangos de corte e nas carcaças correspondentes. *Ciência Animal Brasileira*, Goiás, v. 9, n. 2, p. 480-486, abr./jun. 2008.

14. Keeneer KM.; Bashor MP.; Curtis PA.; Sheldon BW.; KATHARIOU, S. Comprehensive Review of *Campylobacter* and Poultry Processing. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. vol. 3, 2004. Konkel ME.; Monteville, MR.;

Rivera-Amili V.; Joens LA. The Pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-Mediated Enteritis. *Current Issues in Intestinal Microbiology*. v. 2, v. 2, p. 55-71, 2001.

15. Rosa SIR. Isolamento e identificação de *Campylobacter* spp. em linguças de frango frescal. [dissertação]. [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2015. 73 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/5142/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Sarah%20In%C3%AAs%20Rodrigues%20Rosa%20-%202015.pdf>.

16. Feistel JC. Caracterização de *Campylobacter* spp. isoladas em carcaças de frango. [dissertação] . [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2013. 97 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/3856>.

17. Ferrari S, Ástvaldsson Á, Jernberg T, Stingl K, Messelhäuser U, Skarin H. Validation of PCR methods for confirmation and species identification of thermotolerant *Campylobacter* as part of EN ISO 10272 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. *Int J Food Microbiol*. 2023 Mar 2;388:110064. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.110064. Epub 2022 Dec 27. PMID: 36610236.

18. ISO 10272-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal Method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: Detection Method.

19. Benetti T, Abrahão W, Ferro I, Macedo R, Oliveira T. Avaliação dos Métodos Direto e de Enriquecimento Iso 10272 para Detecção de *Campylobacter* Spp. em Carne de Frango. *Braz J Poult Sci*[Internet]. 2016Jan;18(1):23–8. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1516-635x1801023-028>.

20. ISO 10272-2:2020. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. - Part 2: Colony count technique.

21. Šabatková Z., Demnerová K., Pazlarová J. (2008): Optimisation of the PCR method for the detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in samples of ready-to-eat chicken meals. *Czech J. Food Sci.*, 26: 291–297.

22. Anampa D, Benites C, Lázaro C, Espinoza J, Angulo P, Díaz D, Manchego A, Rojas M. Detección del gen *ermB* asociado a la resistencia a macrólidos en cepas de *Campylobacter* aisladas de pollos comercializados en Lima, Perú. *Rev Panam Salud Publica*. 2020 Sep 23;44:e60. Spanish. doi: 10.26633/RPSP.2020.60. PMID: 32973906; PMCID: PMC7498294.

23. Vizzini P, Vidic J, Manzano M. Enrichment Free qPCR for Rapid Identification and Quantification of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, and *C.*

upsaliensis in Chicken Meat Samples by a New Couple of Primers. *Foods*. 2021 Sep 30;10(10):2341. doi: 10.3390/foods10102341. PMID: 34681388; PMCID: PMC8535059.

24. 18. Perdoncini G, Sierra-Arguelo YM, Lima LM, Trindade MM, Gomes MJP, Santos LR, Schmidt V, Nascimento VP. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* on broiler carcasses after chilling in Southern Brazil. *Pesq Ver. Bras.* 35(4): 349-352. Abril 2015, DOI: 10.1590/S0100-736X2015000400006.

25. Denis M, Soumet C, Rivoal K, Ermel G, Blivet D, Salvat G, Colin P. Development of a m-PCR assay for simultaneous identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *Letters in Applied Microbiology*. v. 29, p. 406– 410, 1999.

26. Linton D, Lawson AJ, Owen RJ, Stanley J. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J Clin Microbiol.* 1997; 35: 2568–2572. PMID: 9316909.

3 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Após realizada revisão bibliográfica no portal de periódicos da Capes, disponível no endereço <http://www.periodicos.capes.gov.br/>, Repositório digital da UFRGS – LUME, disponível em <https://www.lume.ufrgs.br/>, Scientific Eletronic Library Online - Scielo, disponível em <http://www.scielo.br/>, assim como nas ferramentas de busca da National Center for Biotechnology Information (NCBI), em PubMed, disponível no endereço <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> sobre o tema proposto e analisar os resultados encontrados, foi possível concluir que existem inúmeros trabalhos que tratam do gênero *Campylobacter spp.* e suas espécies, especialmente sobre *C. coli* e *C. jejuni*, espécies termotolerantes encontradas com maior frequência em amostras de alimentos ou amostras ambientais.

Devido ao expressivo número de trabalhos e ao desenvolvimento cada vez maior de análises realizadas por PCR, encontramos já descritos os primers e sequências de oligonucleotídeos para as espécies e também a sequências em comum para elas, o que permite que o microrganismo seja identificado ao nível do gênero *Campylobacter spp.*

Dessa forma, como perspectiva para o assunto em questão é que se desenvolvam cada vez mais trabalhos nas áreas microbiológicas a fim de se conhecer os microrganismos presentes em nosso dia-a-dia, podendo sua identificação ser realizada cada vez com mais agilidade e precisão, bem como sua contenção e propagação através de doenças.

REFERÊNCIAS

- Benetti TM, Abrahão WM, Ferro ID, Macedo REF, Oliveira TCRM Evaluation of the Direct and Enrichment Iso 10272 Methods for the Detection of *Campylobacter* Spp. in Chicken Meat. *Brazilian Journal of Poultry Science Revista Brasileira de Ciência Avícola* ISSN 1516-635X Jan - Mar 2016 / v.18 / n.1 / 023-028. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1516-635x1801023-028>.
- Facuri JCF. Isolamento e caracterização molecular de *Campylobacter* termotolerantes de origem avícola. [tese]. [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2018. 93 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/9213>.
- Feistel JC. Caracterização de *Campylobacter* spp. isoladas em carcaças de frango. [dissertação] . [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2013. 97 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/3856>.
- Ferrari S, Ástvaldsson Á, Jernberg T, Stingl K, Messelhäußer U, Skarin H. Validation of PCR methods for confirmation and species identification of thermotolerant *Campylobacter* as part of EN ISO 10272 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. *Int J Food Microbiol*. 2023 Mar 2;388:110064. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.110064. Epub 2022 Dec 27. PMID: 36610236.
- Gonçalves AG. Padronização de PCR para detecção direta e diferenciação de espécies de *Campylobacter* em Queijo Minas Artesanal. [dissertação] [Juiz de Fora (MG)]. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2018. 89 p. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/8282>.
- Herpich JJ. A técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) para detecção de genes de virulência em *Campylobacter jejuni* e sua aplicação da rotina veterinária. [monografia]. [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2011/2. 59 p. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/61041>.
- ISO 10272-1:2017. Microbiology of the food chain – Horizontal Method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: Detection Method.
- ISO 10272-2:2020. Microbiology of the food chain - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. - Part 2: Colony count technique.
- Keener KM.; Bashor MP.; Curtis PA.; Sheldon BW.; KATHARIOU, S. Comprehensive Review of *Campylobacter* and Poultry Processing. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. vol. 3, 2004. Konkel ME.; Monteville, MR.; Rivera-Amili V.; Joens LA. The Pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-Mediated Enteritis. *Current Issues in Intestinal Microbiology*. v. 2, v. 2, p. 55-71, 2001.
- Kuana SL.; Ocorrência de *Campylobacter* em lotes de frangos de corte e nas carcaças correspondentes. *Ciência Animal Brasileira, Goiás*, v. 9, n. 2, p. 480-486, abr./jun. 2008.
- Kumar A. et al. Occurrence of *Campylobacter jejuni* in vegetables. *International Journal of Food Microbiology, Amsterdam*, v.67, n.1/2, p.153-155, 2001.

Lima LM. Detecção de genes associados à virulência em cepas de *Campylobacter jejuni* de origem aviária e humana. [dissertação] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2016. 48 p. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/171251>.

Morgan RB. Detecção e análise dos genes *cadF* e *flaA* de *Campylobacter* spp. em caixas de transporte de frango de corte após processo de lavagem e desinfecção em matadouro frigorífico de aves no Sul do Brasil. [dissertação] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015. 37p. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/206537>.

Oliveira JJ. Isolamento e caracterização de *Campylobacter* spp. em carcaças de frango e ovos comerciais. [dissertação]. [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2014. 83 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/7868>.

Perdoncini G, Sierra-Arguelo YM, Lima LM, Trindade MM, Gomes MJP, Santos LR, Schmidt V, Nascimento VP. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* on broiler carcasses after chilling in Southern Brazil. *Pesq. Ver. Bras.* 35(4): 349-352. Abril 2015, DOI: 10.1590/S0100-736X2015000400006.

Rosa SIR. Isolamento e identificação de *Campylobacter* spp. em linguças de frango frescal. [dissertação]. [Goiânia (GO)]. Universidade Federal de Goiás. 2015. 73 p. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/5142/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Sarah%20In%C3%AAs%20Rodrigues%20Rosa%20-%202015.pdf>.

Scarcelli E. et al. Molecular subtyping of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* strains isolated from different animal species in the state of São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.36, n.4, p.378-382, 2005.

Sierra-Arguello YM. Detecção de fatores de virulência e resistência antimicrobiana em estirpes de *Campylobacter* spp. em isolados humanos e de matadouros-frigoríficos de aves na Região Sul do Brasil. [tese] [Porto Alegre (RS)]. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015. 147 p. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/206742>.

Sierra-Arguello YM, Quedi Furian T, Perdoncini G, Moraes HLS, Salle CTP, Rodrigues LB, et al. (2018) Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from poultry and human samples assessed by PCRrestriction fragment length polymorphism assay. *PLoS ONE* 13(7):e0199974. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199974>.

ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA VISA EM DEBATE

Instruções para Autores

Instruções aos autores para preparação e submissão de artigos:

Considerações sobre as práticas editoriais:

1. Seções de publicação;
2. Apresentação dos manuscritos;
3. Políticas Éticas;
4. Plágio;
5. Conflito de interesses;
6. Registro de material biológico de referência e de sequências de DNA;
7. Autoria;
8. Submissão online;
9. Condições para submissão (os autores devem verificar e atender às condições de submissão);
10. Processo de julgamento dos manuscritos;

1. Considerações sobre as práticas editoriais

A publicação dos manuscritos depende de avaliação por pares e aprovação por parte dos membros do Conselho Editorial. A aprovação para publicação será baseada no conteúdo científico do manuscrito. O processo de avaliação pode durar em média de três (3) a doze (12) meses. São aceitos manuscritos nos idiomas: português, espanhol e inglês. Artigos submetidos em português ou espanhol podem ser traduzidos para o inglês e publicados nesses dois idiomas. Para artigos submetidos em inglês, não há tradução para o português ou espanhol.

Na intenção de evitar possíveis conflitos de interesse com os pareceristas, pede-se para que os autores não se identifiquem no corpo do texto.

A periodicidade da revista é contínua, podendo ser publicados números temáticos que abordem temas relevantes de cunho crítico e reflexivo.

Todos os detalhes sobre os itens exigidos para apresentação do manuscrito estão descritos de acordo com as seções de publicação.

Como forma de avaliação da ocorrência de plágio, todos os manuscritos recebidos são submetidos a programas de detecção de similaridade entre textos.

O ORCID e o link do currículo lattes do primeiro autor e de todos os coautores deverá ser informado no momento da submissão dos manuscritos, e na carta de apresentação.

Resolução de conflitos de interesse e violações éticas

Os editores tomarão as medidas necessárias para identificar e prevenir a publicação de artigos onde ocorra má conduta de pesquisa ou violações éticas, incluindo plágio, manipulação de citações e falsificação/fabricação de dados, ausência de autorizações pertinentes, discriminação, entre outros. As situações e alegações que chegarem ao conhecimento de editores e pareceristas serão levadas ao Conselho Editorial.

Os trabalhos submetidos à revista são de total e exclusiva responsabilidade dos autores e não podem ser apresentados simultaneamente a outro periódico, na íntegra ou parcialmente. Caso seja identificada a publicação ou submissão simultânea em outro periódico o manuscrito será desconsiderado, lembrando-se que tal episódio constitui grave falta de ética do autor.

Em caso de aprovação e publicação do trabalho no periódico, os direitos autorais a ele referentes se tornarão propriedade da revista, que adota a Licença Creative Commons CC-BY (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.pt>) e a política de acesso aberto, portanto, os textos estão disponíveis para que qualquer pessoa leia, baixe, copie, imprima, compartilhe, reutilize e distribua, com a devida citação da fonte e autoria. Nesses casos, nenhuma permissão é necessária por parte dos autores ou dos editores.

A revista conta com um Conselho Editorial que contribui para a definição de sua política editorial.

Os manuscritos deverão estar inseridos no âmbito dos quatro eixos temáticos norteadores da Vigilância Sanitária (<http://www.anvisa.gov.br/divulga/reportagens/pep-visa.pdf>):

1. Políticas, organização e gestão do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária;
2. Objetos de Intervenção;
3. Tecnologia ou instrumentos de intervenção;
4. Vigilância Sanitária e Sociedade.

2. Seções de publicação

Os manuscritos enviados para análise podem inserir-se nas seguintes seções:

Artigo – Resultado de investigação empírica, experimental ou conceitual sobre determinado tema (máximo de 7.000 palavras e 5 ilustrações).

Carta - Comentário sobre a edição anterior (máximo de 1.200 palavras).

Comunicação breve – Contempla resultados preliminares de pesquisa, ou ainda resultados de estudos originais que possam ser apresentados de forma sucinta (máximo de 1.700 palavras e 3 ilustrações).

Debate – Debate sobre tema relevante que expresse a posição dos autores e que poderá ser confrontado ou complementado por um ou mais textos com opiniões distintas ou alinhadas com as do primeiro texto (máximo de 7.000 palavras e 5 ilustrações). Os manuscritos submetidos à seção Debate serão sempre requisitados aos autores por meio de convite.

Relato de experiência – Exposição de uma determinada atividade prática ou experiência laboratorial que ocorra durante a implementação de um programa, projeto ou situação problema, sem o objetivo de testar hipóteses. Deve ser fundamentada por aporte teórico (máximo de 3.500 palavras e 3 ilustrações).

Resenha – Resenha crítica de livro publicado nos últimos dois anos relacionada ao tema da Vigilância Sanitária e disciplinas afins (máximo de 1.200 palavras).

Resumo - Documento apresentando resumo de pesquisa divulgada ou publicada anteriormente em anais de congressos.

Revisão - Revisão crítica da literatura sobre temas pertinentes à Vigilância Sanitária com descrição de métodos e procedimentos consagrados para revisão (máximo de 7.000 palavras e 5 ilustrações).

3. Apresentação dos manuscritos

Formato dos manuscritos

O arquivo com o texto do manuscrito deve estar nos formatos .doc (Microsoft Word), .rtf (Rich Text Format) ou .odt (Open Document Text).

A formatação do texto deve seguir os seguintes padrões: utilizar fonte Arial, parágrafo com alinhamento justificado e com espaçamento entre linhas de 1,5. A fonte deve estar em negrito e em tamanho 16 para o título, 14 para os subtítulos. Em itálico e tamanho 12 para a identificação dos autores. Para o corpo do texto, fonte normal e em tamanho 12. Favor não escrever nem título, nem subtítulo em letras capitais. O texto deverá ser numerado por linhas.

As figuras deverão vir na extensão .tiff ou .jpg em alta qualidade, sem compressão e com definição mínima de 300 dpi. Tabelas e legendas de figuras devem ser submetidas no corpo do texto, próximas de onde foram citadas. As ilustrações deverão ser encaminhadas como arquivo suplementar. Notas de rodapé e anexos não serão aceitos.

Estrutura

Dependendo da seção em que o manuscrito for submetido esse, obrigatoriamente, deverá conter: seção na qual o manuscrito se insere, título, título resumido, resumo estruturado, palavras-chave (no máximo cinco), introdução, método, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referências.

Título – deve ser sucinto, preciso e refletir claramente o conteúdo do manuscrito (no idioma original e em inglês).

Título resumido – é o título que constará no cabeçalho do artigo. Deve conter a essência do assunto em até 50 caracteres com espaços.

Nome(s) do(s) autor(es) – todos devem informar o nome completo e a afiliação institucional (em ordem crescente, por exemplo: Faculdade e Universidade), cidade, estado e país, URL CV Lattes e ORCID, além de e-mail. O autor correspondente e responsável pela submissão deverá informar seu endereço, telefone e e-mail.

Resumo estruturado – deve ser preparado de forma concisa, descrevendo a finalidade e os resultados do estudo. O resumo deverá conter no máximo 260 palavras e possuir os seguintes itens: introdução, objetivo, método, resultados e conclusões. Os textos em português e espanhol devem apresentar resumo com versão em inglês. Se o original estiver em inglês, apresentar versão em português.

Palavras-chave – no mínimo 3 e no máximo de 5, traduzidas em cada língua (keywords, palabras clave), dando-se preferência aos Descritores para as Ciências da Saúde (DeCS, <http://decs.bvs.bvs.br/>) na base da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) visando a indexação do texto. Para manuscritos em inglês, utilizar o Medical Subject Headings (MeSH) da National Library of Medicine (EUA). Se não forem encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos livres.

Introdução – deve determinar resumidamente o propósito do estudo, apresentando claramente as justificativas, seus objetivos, o estado da arte e informações que possibilitem ao leitor a compreensão adequada dos resultados apresentados. O objetivo do manuscrito deve estar explícito no final da introdução.

Método (*) – artigos originais devem descrever o detalhamento das técnicas utilizadas de modo que favoreça a compreensão, julgamento e validação do estudo. As revisões devem possuir desenho metodológico apropriado no qual especifique critérios de inclusão e exclusão de estudos e estratégia de busca bibliográfica consistente e compatível com a finalidade do estudo. Os relatos de experiência devem descrever o contexto institucional, local e tempo de realização da experiência como também os procedimentos para alcançar os objetivos propostos na intervenção. Os autores devem explicitar que a pesquisa foi conduzida dentro dos padrões éticos e aprovada por comitê de ética.

Resultados (*) – oferecem uma descrição pontual dos resultados obtidos nas experiências necessárias para sustentar as conclusões da pesquisa. A seção pode ser dividida em subseções, cada uma com um subtítulo. Não repetir no texto todos os dados contidos em tabelas e ilustrações.

Discussão – deve limitar-se à importância das novas informações, relacionando-as ao conhecimento já existente. Somente citações indispensáveis devem ser incluídas. Tanto as limitações do trabalho quanto suas implicações para futuras pesquisas precisam ser esclarecidas.

Resultados e Discussão – podem ser apresentados de forma combinada.

Conclusões – devem ser apresentadas de forma clara e concisa, retomando o objetivo do trabalho.

Agradecimentos – devem ser breves e citar pessoas, bolsas, projetos e apoio recebido de organismos de fomento. Os nomes de organizações de financiamento devem ser escritos integralmente. Esta seção é opcional.

Citações no texto – devem ser indicadas em sobrescrito utilizando números arábicos, em correspondência com as referências listadas, de acordo com a sequência em que forem apresentadas no texto. No caso de citação nominal, quando houver mais de dois autores, deve ser citado apenas o primeiro, seguido de “et al.”. Exemplos: Boas et al.¹⁰; Silveira e Silva²¹.

(*) Os manuscritos submetidos na seção Artigo deverão compreender todos os itens que constam da estrutura. No caso dos manuscritos submetidos nas seções Debate e Relato de Experiência não será necessária a inclusão dos itens métodos e resultados.

Referências

As referências devem seguir as Normas de Vancouver, sendo numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem citadas no texto. Para mais esclarecimentos, consultar <http://www.bu.ufsc.br/ccsm/vancouver.html> (em português) ou <http://www.icmje.org> (em inglês). Resultados não publicados não devem ser incluídos na lista de referências. Os nomes das revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/>).

Alguns exemplos de referências:

I - Artigos em periódicos

a) Artigo padrão (inclua até seis autores, seguidos de et al. se esse número for excedido). Por exemplo:

Pelegrini MLM, Castro JD, Drachler ML. Equidade na alocação de recursos para a saúde: a experiência no Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2005;10(2):275-86. doi:10.1590/S1413-81232005000200002

Maximiano AA, Fernandes RO, Nunes FP, Assis MP, Matos RV, Barbosa CGS, et al. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2005;10(2):483-91. doi:10.1590/S1413-81232005000200026

b) Instituição como autor:

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing: safety and performance guidelines. *Med J Aust*. 1996;164(5):282-4.

c) Sem indicação de autoria:

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J*. 1994;84:15.

d) Número com suplemento:

Duarte MFS. Maturação física: uma revisão de literatura, com especial atenção à criança brasileira. *Cad Saúde Pública* 1993;9(Supl 1):71-84. doi:10.1590/S0102-311X1993000500008

e) Indicação do tipo de texto, se necessário:

Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet*. 1996;347(9011):1337. doi:10.1016/S0140-6736(96)90987-3.

II - Livros e outras monografias

a) Indivíduo como autor:

Cecchetto FR. Violência, cultura e poder. Rio de Janeiro: FGV; 2004.

Minayo MCS. O desafio do conhecimento: pesquisa qualitativa em saúde. 8a ed. São Paulo:Hucitec/Rio de Janeiro: Abrasco; 2004.

b) Organizador ou compilador como autor:

Bosi MLM, Mercado FJ, organizadores. Pesquisa qualitativa de serviços de saúde. Petrópolis: Vozes; 2004.

c) Instituição como autor:

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - Ibama. Controle de plantas aquáticas por meio de agrotóxicos e afins. Brasília, DF::Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis; 2001.

d) Capítulo de livro:

Sarcinelli PN. A exposição de crianças e adolescentes a agrotóxicos. In: Peres F, Moreira JC, organizadores. É veneno ou é remédio: agrotóxicos, saúde e ambiente. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003. p. 43-58.

e) Resumo em Anais de congressos:

Kimura J, Shibasaki H. Recent advances in clinical neurophysiology. In: Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

f) Trabalhos completos publicados em eventos científicos:

Coates V, Correa MM. Características de 462 adolescentes grávidas em São Paulo. In: Anais do V Congresso Brasileiro de adolescência; 1993; Belo Horizonte. p. 581-2.

g) Dissertação e tese:

Carvalho GCM. O financiamento público federal do Sistema Único de Saúde 1988-2001 [tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública; 2002.

Gomes WA. Adolescência, desenvolvimento puberal e sexualidade: nível de informação de adolescentes e professores das escolas municipais de Feira de Santana - BA [dissertação].

Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana; 2001.

III - Outros tipos de trabalho publicado:

a) Artigo de jornal:

Novas técnicas de reprodução assistida possibilitam a maternidade após os 40 anos. Jornal Brasil. 31 jan 2004; ; p. 12

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post. 21 jun 1996; Sect. A:3 (col. 5).

b) Material audiovisual:

HIV+/AIDS: the facts and the future [videocassete]. St. Louis: Mosby-Year Book; 1995.

c) Documentos legais:

Brasil. Lei nº 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Diário Oficial União. 19 set 1990.

IV - Material no prelo:

Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Engl J Med. In press 1996.

Cronemberg S, Santos DVV, Ramos LFF, Oliveira ACM, Maestrini HA, Calixto N. Trabeculectomia com mitomicina C em pacientes com glaucoma congênito refratário. Arq Bras Oftalmol. No prelo 2004.

V - Material eletrônico:

a) Artigo em formato eletrônico:

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis. 1995[acesso 5 jun 1996];1(1). Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Lucena AR, Velasco e Cruz AA, Cavalcante R. Estudo epidemiológico do tracoma em comunidade da Chapada do Araripe - PE - Brasil. Arq Bras Oftalmol. 2004[acesso 12 jul 2004];67(2). Disponível em: <http://www.abonet.com.br/abo/672/197-200.pdf>.

b) Monografia em formato eletrônico:

Reeves JRT, Maibach H. CDI, clinical dermatology illustrated [CD-ROM]. . 2a ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

c) Programa de computador:

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [programa de computador]. Version 2.2. Orlando: Computerized Educational Systems; 1993.

4. Políticas Éticas

A Visa em Debate segue as Diretrizes do Committee on Publication Ethics (COPE).

Toda submissão será inicialmente analisada pelo editor-chefe, que avaliará possíveis problemas de autoria (como plágio, republicação, aprovação de Comitê de Ética para

pesquisas com seres humanos etc.). Casos de possível má conduta serão analisados segundo o fluxograma COPE.

As pesquisas com procedimentos que envolvem seres humanos (entrevistas, questionários, grupos focais, estudos clínicos entre outras formas) precisam de aprovação reconhecida por um Comitê de Ética. No ato de submissão, os autores devem enviar como documento suplementar a aprovação por um Comitê de Ética reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep), segundo as normas da Resolução nº 466/2012 (<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>) do Conselho Nacional de Saúde (CNS) ou órgão equivalente no país de origem da pesquisa. O manuscrito deverá conter o número do processo e o nome do Comitê de Ética ao qual foi submetido e declarar, quando for o caso, que os sujeitos da pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). As normas aplicáveis a pesquisas em Ciências Humanas e Sociais cujos procedimentos metodológicos envolvam a utilização de dados diretamente obtidos com os participantes ou de informações identificáveis podem ser acessadas no pelo link: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2016/reso510.pdf>. Acesse a resolução que regulamenta normas específicas de pesquisas de interesse estratégico para o SUS: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2018/Reso580.pdf>.

O Conselho Editorial da Visa em Debate se reserva o direito de solicitar informações adicionais sobre os procedimentos éticos executados na pesquisa.

Os editores aceitarão manuscritos descrevendo experimentos conduzidos usando animais. Esses experimentos deverão ser realizados em acordo com a legislação vigente e autorizados por Comitê de Ética no Uso de Animais. É recomendado que os autores sigam as diretrizes presentes no Guia ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments).

5. Plágio

O plágio é um comportamento editorial inaceitável. Assim, os manuscritos submetidos à revista Visa em Debate passarão por revisão técnica para a análise de plágio na plataforma Ithenticate. Após a conferência de dados pela equipe editorial, no caso de identificação de plágio, o manuscrito será devolvido, com a indicação do problema, podendo os autores

fazerem as alterações necessárias e submeterem o artigo novamente à revista, de modo que seja garantida a originalidade dos manuscritos.

A Visa em Debate baseia seus princípios éticos em conformidade com os princípios éticos do Committee on Publication Ethics (COPE).

A Visa em Debate adota como definição de má-conduta aquela apontada pelo Office Research Integrity (ORI), que consiste em:

- Fabricação: inventar dados ou resultados registrando ou relatando-os.
- Falsificação: manipular materiais, equipamentos ou processos de pesquisa, ou alterar ou omitir dados ou resultados, de modo que a pesquisa não seja representada com precisão no registro da pesquisa.
- Plágio: consiste na apropriação de ideias, processos, resultados ou palavras de outra pessoa sem dar crédito apropriado.

Casos de plágio reportados à revista após a publicação dos artigos serão analisados pela Equipe Editorial e, na hipótese de confirmação da denúncia, o artigo será retirado da revista.

6. Conflitos de interesses

Todos os participantes do processo editorial (autores, pareceristas, editores) devem informar a existência de conflitos de interesse de ordem financeira ou relacionamento interpessoal que possa interferir na realização da pesquisa e/ou no julgamento do manuscrito.

Autores: informar o impacto da instituição financiadora no desenvolvimento teórico-metodológico na pesquisa que baseia o manuscrito, bem como nas discussões e resultados nele apresentados.

Pareceristas: comunicar a identificação da autoria do manuscrito e de alguns tipos de relacionamento pessoal e/ou profissional (atuação no mesmo grupo ou laboratório de pesquisa, vinculação à mesma unidade institucional ou departamento, rivalidade ou competição acadêmica). Ciente disso, caberá ao editor associado encaminhar o manuscrito a outro parecerista.

Editores: comunicar qualquer tipo de conflito de interesse de ordem pessoal ou profissional (cargos ou representação institucionais) e considerar, na seleção dos pareceristas, potenciais problemas éticos.

Em caso de descumprimento da comunicação de conflito de interesse por parte de qualquer um dos participantes no processo editorial e de eventual descoberta, os autores terão seu texto retirado, os pareceristas serão excluídos do banco da revista e os editores deixam de compor o quadro da revista.

7. Registro de material biológico de referência e de sequências de DNA

No caso de manuscritos que utilizem material biológico de referência e sequências de DNA, recomendamos que o registro e o depósito prévio desse material e das sequências sejam efetuados em coleções registradas e de acesso público, além da inclusão do respectivo número de identificação no manuscrito.

8. Autoria

Cada autor deve especificar detalhadamente o tipo de contribuição dada na elaboração da pesquisa e do manuscrito dela resultante. Tal especificação deverá vir juntamente com a “Carta de autorização para publicação”, assinada por todos os autores, digitalizada em formato .pdf e enviada como documento suplementar.

9. Submissão online

A submissão de manuscritos é feita pela página da Visa em Debate (<https://visaemdebate.incqs.fiocruz.br>). Inicialmente, é necessário efetuar o cadastro como autor, na opção cadastre-se, informando nome completo, afiliação completa, e-mail, ORCID (o identificador ORCID pode ser obtido no registro ORCID), e link do currículo lattes. Após o cadastro, o autor deverá confirmar todas as condições para a submissão, inclusive a “Carta de autorização para publicação” e a “Declaração de direito autoral”, preencher os dados do manuscrito, passando pelos passos abaixo, para então concluir o envio.

a) Iniciar submissão;

- b) Transferência do manuscrito;
- c) Inclusão de metadados;
- d) Transferência de documentos suplementares (folha de rosto, figuras, tabelas, carta de autorização para publicação, declaração de direito autoral, formulário sobre conformidade com a ciência aberta etc);
- e) Confirmação.

Se desejar, o autor poderá sugerir, potenciais pareceristas (nome, e-mail e instituição) que julgue capaz de avaliar o manuscrito. Esse documento deverá ser anexado no sistema no momento da transferência dos documentos suplementares. Caberá aos editores da revista a decisão de acatar ou não as sugestões dos autores.

10. Condições para submissão (os autores devem verificar e atender às condições de submissão)

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados nas condições para submissão e neste documento. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

Algumas considerações deverão ser observadas:

- a) O manuscrito deverá conter os metadados (estrutura do manuscrito) de acordo com a seção em que será submetido. No entanto, alguns metadados são pertinentes a todas as seções, devendo ser escritos nos idiomas português e inglês, como: título, resumo e palavras-chave. Manuscritos submetidos em outros idiomas também deveram apresentar os metadados no idioma português.
- b) Nos metadados da submissão é obrigatória a inclusão completa de todos os autores envolvidos no manuscrito. Os cadastros do autor e coautores deverão ser preenchidos com nome completo para efeito de emissão de documentos.
- c) No item Indexação, todos os campos deverão ser devidamente preenchidos.
- d) Envio da carta de autorização para publicação, digitalizada em formato .pdf e inserida como documento suplementar, no ato da submissão, devendo especificar

detalhadamente o tipo de contribuição dada na elaboração da pesquisa e do manuscrito dela resultante e assinada por todos os envolvidos. Veja modelo abaixo:

CARTA DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Ao Conselho Editorial da revista Vigilância Sanitária em Debate – Sociedade, Ciência & Tecnologia (Visa em Debate)

Título do Artigo:

Nome(s) do(s) autor(es):

O(s) autor(es) do presente manuscrito se compromete(m) a cumprir as seguintes normas:

1) Todos os autores relacionados acima participaram do manuscrito e responsabilizam-se publicamente por ele.

2) Todos os autores revisaram a forma final do manuscrito e o aprovam para publicação na revista Vigilância Sanitária em Debate – Sociedade, Ciência & Tecnologia (Visa em Debate).

3) A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista. Estes dados, ou outro substancialmente semelhantes em conteúdo, não foram publicados, nem estão sendo submetidos a outro periódico ou foram publicados como parte de livro.

4) Especificar a contribuição individual de cada autor.

*Exemplo:

Contribuição dos Autores: Bôas MHSV, Neves GHR - Concepção, planejamento (desenho do estudo), aquisição, análise, interpretação dos dados e redação do trabalho. Teixeira SN - Concepção, planejamento (desenho do estudo). Todos os autores aprovaram a versão final do trabalho.

5) O(s) autor(es) concordam em ceder os direitos autorais do artigo à revista Vigilância Sanitária em Debate – Sociedade, Ciência & Tecnologia (Visa em Debate).

Local/Data

Assinatura do Autor Responsável

Assinatura do(s) Coautor(es)

e) Envio da Declaração de Direito Autoral, basta que os autores concordem com os termos da Declaração de Direito Autoral no ato da submissão. Veja modelo abaixo:
DECLARAÇÃO DE DIREITO AUTURAL -TERMO DE CESSÃO DE DIREITOS AUTORAIS

O(s) autor(es) doravante designado(s) CEDENTE, por meio desta, cede e transfere, de forma gratuita, a propriedade dos direitos autorais relativos à OBRA à REVISTA Vigilância Sanitária em Debate – Sociedade, Ciência & Tecnologia (Visa em Debate) e, representada por FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, estabelecida na Av. Brasil, nº 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, CEP 21045-900, doravante designada CESSIONÁRIA, nas condições descritas a seguir: 1. O CEDENTE declara que é (são) autor(es) e titular(es) da propriedade dos direitos autorais da OBRA submetida. 2. O CEDENTE declara que a OBRA não infringe direitos autorais e/ou outros direitos de propriedade de terceiros, que a divulgação de imagens (caso as mesmas existam) foi autorizada e que assume integral responsabilidade moral e/ou patrimonial, pelo seu conteúdo, perante terceiros. 3. O CEDENTE cede e transfere todos os direitos autorais relativos à OBRA à CESSIONÁRIA, especialmente os direitos de edição, de publicação, de tradução para outro idioma e de reprodução por qualquer processo ou técnica. A CESSIONÁRIA passa a ser proprietária exclusiva dos direitos referentes à OBRA, sendo vedada qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outro meio de divulgação, impresso ou eletrônico, sem que haja prévia autorização escrita por parte da CESSIONÁRIA. 4. A cessão é gratuita e, portanto, não haverá qualquer tipo de remuneração pela utilização da OBRA pela CESSIONÁRIA.

f) Envio do Formulário sobre Conformidade com a Ciência Aberta, deve ser inserido como documento suplementar, no ato da submissão. Segue o formulário abaixo:

Formulário sobre Conformidade com a Ciência Aberta

Por meio deste formulário os autores informam o periódico sobre a conformidade do manuscrito com as práticas de comunicação da Ciência Aberta. Os autores são solicitados a informar: (a) se o manuscrito é um preprint e, em caso positivo, sua localização; (b) se dados,

códigos de programas e outros materiais subjacentes ao texto do manuscrito estão devidamente citados e referenciados; e, (c) se aceitam opções de abertura no processo de avaliação por pares.

Preprints

Depósito do manuscrito em um servidor de preprints reconhecido pelo periódico.

O manuscrito é um preprint?

Sim - Nome do servidor de Preprints:

DOI do Preprint:

Não

Disponibilidade de Dados de Pesquisa e outros Materiais

Autores são encorajados a disponibilizar todos os conteúdos (dados, códigos de programa e outros materiais) subjacentes ao texto do manuscrito anteriormente ou no momento da publicação. Exceções são permitidas em casos de questões legais e éticas. O objetivo é facilitar a avaliação do manuscrito e, se aprovado, contribuir para a preservação e reuso dos conteúdos e a reprodutibilidade das pesquisas.

Os conteúdos subjacentes ao texto do manuscrito já estão disponíveis em sua totalidade e sem restrições ou assim estarão no momento da publicação?

Sim:

os conteúdos subjacentes ao texto da pesquisa estão contidos no manuscrito

os conteúdos já estão disponíveis

os conteúdos estarão disponíveis no momento da publicação do artigo

Segue títulos e respectivas URLs, números de acesso ou DOIs dos arquivos dos conteúdos subjacentes ao texto do artigo (use uma linha para cada dado):

Não:

dados estão disponíveis sob demanda dos pareceristas

após a publicação os dados estarão disponíveis sob demanda aos autores – condição justificada no manuscrito

os dados não podem ser disponibilizados publicamente. Justifique a seguir:

Aberturas na avaliação por pares

Os autores poderão optar por um ou mais meios de abertura do processo de *peer review* oferecidos pelo periódico.

Quando oferecida a opção, os autores concordam com a publicação dos pareceres da avaliação de aprovação do manuscrito?

Sim

Não

Quando oferecida a opção, os autores concordam em interagir diretamente com pareceristas responsáveis pela avaliação do manuscrito?

Sim

Não

11. Processo de julgamento dos manuscritos

Os manuscritos submetidos que atenderem às “Instruções para os autores” e estiverem de acordo com a política editorial da revista serão encaminhados para avaliação. Em caso de submissão a uma seção com avaliação pelos pares (ex.: artigos), as instruções disponíveis em *Assegurando a avaliação cega por pares* serão seguidas.

Para ser publicado, o manuscrito deve ser aprovado nas seguintes etapas:

Pré-análise: a primeira análise é realizada pelos Editores-Chefes. Consiste na revisão de aspectos de forma e redação científica, com base na originalidade, pertinência, qualidade acadêmica e relevância do manuscrito para a Vigilância Sanitária. Após, será designado a um editor associado para a condução do processo editorial;

Avaliação externa por pares: os manuscritos selecionados na pré-análise serão submetidos à avaliação de especialistas na temática abordada. Nesta etapa, os revisores *ad hoc* avaliarão o mérito científico e o conteúdo dos manuscritos, com fins de aprimoramento. Os pareceres serão analisados pelo editor associado, que poderá propor aos Editores-Chefes a aprovação ou não do manuscrito;

Redação/ Estilo: A leitura técnica dos textos e a padronização ao estilo da Revista finalizam o processo de avaliação.

Ressalta-se que, em todas as etapas, poderá ser necessária mais de uma rodada de revisão.

Em todas as etapas do processo editorial, as considerações serão enviadas aos autores com prazo definido para devolução da versão reformulada do manuscrito. Recomenda-se aos autores atenção às comunicações que serão enviadas ao endereço de e-mail informado no momento da submissão, assim como para a observação dos prazos para resposta. A não observação dos prazos para resposta, especialmente quando não justificada dentro do prazo determinado, poderá ser motivo para descontinuidade do processo editorial do manuscrito.

Manuscritos recusados, mas com a possibilidade de reformulação, poderão retornar como novo trabalho, dando início a outro processo de julgamento.