

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Caracterização molecular de linhagens de *Campylobacter jejuni*
de origens diversas isoladas no Brasil**

Miliane Rodrigues Frazão

Ribeirão Preto

2018

RESUMO

Frazão, M. R. **Caracterização molecular de linhagens de *Campylobacter jejuni* de origens diversas isoladas no Brasil**. 2018. 147 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Campylobacter jejuni é a espécie bacteriana mais comumente relacionada como causa de gastroenterite em humanos em vários países. Porém, o isolamento e o estudo de *C. jejuni* não são muito frequentes no Brasil, o que dificulta avaliar a dimensão dessa bactéria como causadora de doença em humanos e animais, bem como, determinar o impacto de sua presença em alimentos e no meio-ambiente. O objetivo desse trabalho foi avaliar a diversidade genética por cinco diferentes técnicas de tipagem molecular, o potencial patogênico pela pesquisa de 16 genes de virulência por PCR e o perfil de resistência pela concentração inibitória mínima por Etest[®] frente a quatro antimicrobianos e pela análise *in silico* de genes de resistência e pontos de mutação de linhagens de *C. jejuni* isoladas no Brasil. Foram estudadas 121 linhagens de *C. jejuni* isoladas de humanos (51), animais (35), alimentos (33) e ambiente (02) nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul, no período de 1996 a 2016. Todas as linhagens apresentaram os genes *flaA*, *flhA*, *iamA*, *docA*, *ciaB*, *cdtA*, *cdtB*, *cdtC*, *racR*, *dnaJ*, *pldA*, *cadF*, *sodB* e *csrA*. O gene *wlaN* foi detectado em 15 linhagens, e uma linhagem apresentou o gene *virB11*. Dentre as 121 linhagens estudadas, 68 linhagens foram resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos testados. A resistência à ciprofloxacina, doxiciclina, tetraciclina e eritromicina foi observada em 43,8%, 34,7%, 34,7% e 4,9% das linhagens, respectivamente. O dendrograma de similaridade genética de *Pulsed field gel electrophoresis* (PFGE) agrupou as 121 linhagens estudadas em três grupos com similaridade genômica de 46,9% entre eles. Apesar da alta diversidade genômica entre as linhagens estudadas, algumas linhagens isoladas de diferentes fontes, locais e anos, apresentaram uma similaridade genotípica acima de 80% entre elas e, foram agrupadas em 21 subgrupos. Pelas sequências da SVR do gene *flaA* as linhagens estudadas foram agrupadas em dois grupos com linhagens isoladas de fontes clínicas e não clínicas e de humanos e animais com similaridade acima de 80,9 % entre elas e tipadas em 40 SVR-*flaA* alelos, sendo os alelos 57, 49 e 45 os mais frequentemente detectados. A análise do *locus* CRISPR por HRMA tipou as linhagens de *C. jejuni* em 23 diferentes variantes sendo que algumas variantes continham linhagens de origem clínica e não clínica e de humanos e animais. A árvore de SNPs gerada a partir dos dados do sequenciamento do genoma completo alocou as 116 linhagens sequenciadas em dois principais grupos. O grupo SNP-A agrupou 97

linhagens e o grupo SNP-B agrupou 19 linhagens, com linhagens de fontes clínicas e não clínicas e de humanos e animais, respectivamente. A técnica de *Multilocus sequence typing* (MLST) tipou as 116 linhagens de *C. jejuni* em 46 STs, e não foi observada a predominância de um ST. O índice de discriminação das metodologias de análise de SNPs no genoma completo, PFGE, MLST, sequenciamento das SVR do gene *flaA* e análise do *locus* CRISPR por HRMA foi 1,0, 0,982, 0,941, 0,939 e 0,874, respectivamente. Na análise *in silico* de genes de resistência e pontos de mutação, 95 linhagens apresentaram ao menos um gene de resistência ou ponto de mutação conhecido, sendo que a porcentagem de correlação entre os resultados de resistência fenotípicos e genotípicos foi maior que 66,7%; 94,6% e 96,8% para eritromicina, tetraciclina e ciprofloxacina, respectivamente. Conclui-se que a alta frequência da maioria dos genes de virulência pesquisados evidenciou o potencial patogênico das linhagens de *C. jejuni* estudadas. A resistência a antimicrobianos de primeira escolha utilizados para o tratamento da campylobacteriose encontrada nas linhagens estudadas é preocupante, podendo levar à falha terapêutica quando o tratamento é necessário. Os resultados obtidos pelas metodologias de tipagem molecular realizadas sugerem que uma possível contaminação possa ter ocorrido entre fontes clínicas e não clínicas e entre humanos e animais, ao longo de 20 anos no Brasil. Pelo índice de discriminação, foi observado que as metodologias de análise de SNPs no genoma completo e PFGE, em comparação com as outras técnicas de tipagem, foram as mais eficientes em discriminar as linhagens de *C. jejuni* do presente estudo.

Palavras-chave: *Campylobacter jejuni*, genes de virulência, perfil de resistência a antimicrobianos, PFGE, SVR do gene *flaA*, Análise do *locus* CRISPR por HRMA, MLST, sequenciamento do genoma completo.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. História e Taxonomia

Campylobacter foi descrito pela primeira vez em 1886 por Theodor Escherich que identificou bactérias de forma espiralada em amostras fecais de neonatos com diarreia, porém não obteve sucesso no crescimento desses microrganismos em meio sólido. Em 1909, McFaydean e Stockman obtiveram pela primeira vez a cultura pura de um “vibrio”, que hoje é conhecido como *Campylobacter fetus*, a partir do útero de ovelhas. Smith e Taylor propuseram em 1919 o nome *Vibrio fetus* para os microrganismos isolados em casos de abortos em rebanho bovino (ENGBERG, 2006).

Um surto relacionado ao consumo de leite cru que afetou 355 pessoas em maio de 1938 em Illinois, EUA, é atualmente reconhecido como o primeiro caso documentado de infecção humana causada por *C. jejuni*, na época denominado como *Vibrio jejuni* (BUTZLER, 2004; ENGBERG, 2006).

O gênero *Campylobacter* foi proposto em 1963 por Sebald e Véron, que transferiram *V. fetus* e *V. bubulus* (hoje conhecido como *C. sputorum*) para um novo gênero, denominado de *Campylobacter* (ON, 2001; ENGBERG, 2006). Baseados na relação Citosina e Guanina do DNA, o gênero *Vibrio* foi separado do gênero *Campylobacter* após verificarem que o teor de Guanina e Citosina das bactérias do gênero *Vibrio* era em torno de 47% enquanto que para o gênero *Campylobacter* era de 30 a 35% (KETLEY, 1997). Dez anos mais tarde, Véron e Chatelain em 1973 publicaram um estudo baseado na taxonomia de microrganismos microaerófilos “*Vibrio-like*” e consideraram quatro espécies distintas pertencentes ao gênero *Campylobacter*, sendo elas, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* e *C. sputorum* (VÉRON; CHATELAIN, 1973).

A partir dos anos 80, microrganismos então classificados como “*Campylobacter-like*” foram isolados de diversas fontes, tais como, humanos, animais e ambiente. Dentre os anos de 1974 a 1988, doze novas espécies e/ou subespécies de *Campylobacter* foram criadas e, baseado na sequência do gene 16S rRNA, foram identificados diferentes clades dentro do gênero *Campylobacter* e o gênero *Helicobacter* foi então proposto por Goodwin e colaboradores (1989).

Em 1991, uma completa revisão da taxonomia e nomenclatura do gênero *Campylobacter* foi proposta (VANDAMME et al., 1991) a partir da análise dos dados de hibridização DNA-rRNA e análise de dados fenotípicos e genéticos. Estes microrganismos ficaram agrupados na rRNA superfamília VI que compreende os grupos homólogos I, II e III representados pelos gêneros *Campylobacter*, *Arcobacter* e *Helicobacter*, respectivamente.

Devido a essa estreita relação filogenética e características fenotípicas e genotípicas similares entre os grupos I e II foi proposto a criação e inclusão de ambos na família *Campylobacteraceae* (ENGBERG, 2006).

1.2. O gênero *Campylobacter*

O gênero *Campylobacter* pertence à família *Campylobacteriaceae* e atualmente é composto por 26 espécies denominadas como, *Campylobacter jejuni* (*Campylobacter jejuni* subesp. *jejuni*, *Campylobacter jejuni* subesp. *doylei*), *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* (*Campylobacter lari* subesp. *lari*, *Campylobacter lari* subesp. *concheus*), *Campylobacter fetus* (*Campylobacter fetus* subesp. *fetus*, *Campylobacter fetus* subesp. *veneralis*, *Campylobacter fetus* subesp. *testudium*), *Campylobacter upsaliensis*, *Campylobacter helveticus*, *Campylobacter insulaenigrae*, *Campylobacter peloridis*, *Campylobacter hyointestinalis* (*Campylobacter hyointestinalis* subesp. *hyointestinalis*, *Campylobacter hyointestinalis* subesp. *lawsonii*), *Campylobacter lanienae*, *Campylobacter sputorum* (*Campylobacter sputorum* bv. *sputorum*, *Campylobacter sputorum* bv. *faecalis*, *Campylobacter sputorum* bv. *paraureolyticus*), *Campylobacter concisus*, *Campylobacter curvus*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter showae*, *Campylobacter ureolyticus*, *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter hominis*, *Campylobacter mucosalis*, *Campylobacter avium*, *Campylobacter canadensis*, *Campylobacter cuniculorum*, *Campylobacter subantarcticus*, *Campylobacter volucris*, *Campylobacter corcagiensis* e *Campylobacter iguaniorum* (FITZGERALD, 2015).

A espécie *C. jejuni* se subdivide em duas subespécies, *C. jejuni* subesp. *jejuni* e *C. jejuni* subesp. *doylei*, porém, *C. jejuni* subesp. *jejuni* apresenta a maior frequência de isolamento dentre essas duas subespécies, e é referida simplesmente como *C. jejuni* (FITZGERALD; NACHAMKIN, 2007). Linhagens da subespécie *C. doylei* se diferem bioquimicamente de *C. jejuni* pela inabilidade de reduzir nitrato e pela incapacidade de se multiplicar a 42°C (PARKER et al., 2007; EPPS et al., 2013).

Dentre todas as espécies de *Campylobacter*, *C. jejuni* é a mais comumente relacionada como causa de gastroenterite em humanos, sendo responsável por aproximadamente 90% dos casos de infecções causadas por bactérias pertencentes ao gênero *Campylobacter* (MOORE et al., 2005; SILVA et al., 2011; BRONOWSKI; JAMES; WINSTANLEY, 2014; FITZGERALD, 2015; CDC, 2015; EFSA, 2017a; EFSA, 2017b).

As espécies *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis* estão intimamente relacionadas como causa de gastroenterite em humanos e são as espécies consideradas como

termotolerantes, ou seja, têm a sua temperatura ótima de crescimento em torno de 42°C. O restante das espécies pode ser dividido em três grupos, sendo, espécies que com pouca frequência causam doença em humanos e estão relacionados a bovinos, ovinos ou suínos, como por exemplo, *C. fetus*, *C. lanienae*, *C. sputorum* e *C. hyointestinalis*; espécies que estão relacionadas com doença periodontal e que foram isolados em humanos, por exemplo, *C. curvus*, *C. rectus*, *C. showae*, *C. gracilis* e *C. concisus*; e espécies que não foram isoladas de água ou alimentos contaminados e não estão associados como causa de doença em humanos, como por exemplo, *C. subantarcticus*, *C. volucris*, *C. corcagiensis*, *C. insulaenigrae* e *C. canadensis* (MOORE et al., 2005; MAN, 2011; FITZGERALD, 2015).

1.2.1. Características do microrganismo

O gênero *Campylobacter* é composto por bacilos Gram-negativos que se apresentam, usualmente, na forma espiral ou curva e possuem de 0,2 a 0,8 µm de diâmetro por 0,5 a 5,0 µm de comprimento. São móveis devido à presença de flagelo polar em uma ou ambas as extremidades, com exceção da espécie *C. gracilis* que não possui flagelo e da espécie *C. showae* que possui múltiplos flagelos (KETLEY, 1997; SILVA et al., 2011; EPPS et al., 2013; FITZGERALD, 2015).

As bactérias pertencentes ao gênero *Campylobacter* são nutricionalmente exigentes e incapazes de se proliferar na presença do ar atmosférico, porém também não crescem em anaerobiose, sendo assim considerados microaerófilos estritos que necessitam de uma atmosfera com aproximadamente 5% de O₂, 10% de CO₂ e 85% de N₂ para se proliferarem (KETLEY, 1997; MOORE et al., 2005; SNELLING et al., 2005).

O metabolismo oxidativo está presente em todas as espécies de *Campylobacter*, com exceção da espécie *C. gracilis*. A obtenção de energia é feita pela oxidação de aminoácidos ou ácidos intermediários do ciclo do ácido tricarbóxico, uma vez que os membros desse gênero não utilizam carboidratos como fonte de energia. Especificamente a espécie *C. jejuni*, é capaz de hidrolisar hipurato e acetato de hidroxila, produzir oxidase e catalase e reduzir nitrato a nitrito (SNELLING et al., 2005; FITZGERALD; NACHAMKIN, 2007; SILVA et al., 2011). *Campylobacter* spp. não é capaz de crescer em pH menor que 4,9 e maior que 9,0 sendo o pH ótimo para o crescimento na faixa de 6,5 a 7,5. O crescimento não ocorre em ambiente com atividade de água menor que 0,987, e nem a concentrações de cloreto de sódio maiores que 2% m/v (BUTZLER, 2004; SILVA et al., 2011).

Com um conteúdo de citosina e guanina que varia de 30% a 35%, o tamanho do genoma de *Campylobacter* é de aproximadamente 1,600 a 1,800 kilobases (kb), o que é

considerado relativamente pequeno quando comparado a outros enteropatógenos como, por exemplo, *Escherichia coli* que tem o genoma com aproximadamente 4,500 kb (KETLEY, 1997; VAN VLIET; KETLEY, 2001; POLY; GUERRY, 2008). Esse pequeno tamanho do genoma de *Campylobacter* possivelmente é reflexo do seu exigente ambiente para crescimento e da sua incapacidade de fermentar carboidratos e degradar substâncias complexas (KETLEY, 1997).

As espécies de *Campylobacter* crescem em uma faixa de temperatura que varia de 25°C a 42°C, porém as espécies termotolerantes, *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis*, possuem temperatura ótima de crescimento em torno de 42°C, sendo capazes de crescer a 37°C, porém incapazes de se desenvolver a 25°C (BUTZLER, 2004; SILVA et al., 2011; FITZGERALD, 2015).

Em culturas armazenadas em condições adversas, as células de *Campylobacter* spp. podem adquirir um formato cocóide (forma viável, porém não cultivável) que representa o estágio degenerativo deste microrganismo, no entanto, a capacidade infectante se mantém. Esta condição pode ser facilmente reversível quando as condições de armazenamento e cultivo tornam-se favoráveis, e assim o microrganismo assume novamente a sua forma característica em espiral e se multiplica normalmente (BUTZLER, 2004; SILVA et al., 2011; BRONOWSKI; JAMES; WINSTANLEY, 2014).

As espécies de *Campylobacter* estão amplamente distribuídas na natureza, podendo ser isoladas de humanos e animais, tais como, aves, mamíferos, répteis, animais domésticos, moluscos e protozoários (YOUNG; DAVIS; DIRITA, 2007; FITZGERALD; NACHAMKIN, 2007; FITZGERALD, 2015). O trato gastrointestinal de animais e de aves selvagens e domésticas é considerado como reservatório de infecção (HUMPHREY; O'BRIEN; MADSEN, 2007; FITZGERALD, 2015). Porém, no que se refere a aves, o maior potencial de fonte de infecção humana por *C. jejuni* está intimamente relacionado ao consumo de carne de frango crua ou mal cozida (YOUNG; DAVIS; DIRITA, 2007; SKARP; HANNINEN; RAUTELIN, 2016; EFSA, 2017a; EFSA, 2017b).

C. jejuni, diferentemente de *Salmonella*, é geralmente incapaz de se multiplicar em alimentos e por esse motivo, não existem geralmente grandes surtos de campylobacteriose. Mais de 90% dos casos da doença são esporádicos, e nos países com grande incidência, acontecem principalmente no verão (KETTLEY 1997; SNELLING et al., 2005).

1.2.2. Manifestações clínicas e patogênese

A doença causada por *C. jejuni* é denominada de campilobacteriose e a sua transmissão ocorre pela ingestão de alimentos que estejam contaminados pela bactéria, tais como, carne de aves, bovinos e suínos, água não tratada, leite não pasteurizado, contato com animais portadores e também pelo contato direto com material fecal de humanos ou animais contaminados (ALLOS, 2001; MOORE et al., 2005; HUMPHREY; O'BRIEN; MADSEN, 2007).

A infecção por *C. jejuni* é clinicamente indistinguível das infecções causadas por outros importantes enteropatógenos, como *Salmonella*, *Shigella* e algumas espécies de *Yersinia*, e a baixa dose infectante de *Campylobacter*, de aproximadamente 500 UFC/mL, pode ser considerada um agravante (ROBINSON, 1981; BLACK et al., 1988; ALLOS, 2001; SNELLING et al., 2005).

A campilobacteriose caracteriza-se por ser uma diarreia autolimitada, que pode se apresentar sanguinolenta ou não, acompanhada de febre, vômitos, cefaleia e dores abdominais. O período de incubação da doença é normalmente de 2 a 5 dias, podendo se estender por até 10 dias (BUTZLER, 2004; MOORE et al., 2005; HUMPHREY; O'BRIEN; MADSEN, 2007). Na maioria dos casos, não é necessário o uso de antimicrobianos para tratamento da campilobacteriose, com exceção de pacientes imunocomprometidos e em casos de complicações da doença (KETLEY, 1997; FITZGERALD; NACHAMKIN, 2007; FITZGERALD, 2015).

Em alguns casos, a infecção por *C. jejuni* pode evoluir para algumas manifestações extra intestinais e complicações pós-infecção, como por exemplo, bacteremia, sepse, meningite, endocardite, periodontite, celulite, abscessos, artrite reativa, síndrome de Guillain-Barré, dentre outras (BUTZLER, 2004; SNELLING et al., 2005; EPPS et al., 2013; FITZGERALD, 2015).

A síndrome de Guillain-Barré é uma complicação pós-infecção grave e que se destaca por ser uma doença autoimune pós-infecção pela bactéria, e é caracterizada pelo aparecimento de fraqueza muscular e perda de reflexos (ALLOS, 2001; MOORE et al., 2005; TAKAHASHI et al., 2005; BAE et al., 2014). O desenvolvimento da síndrome de Guillain-Barré se dá através de um mecanismo de mimetismo antigênico entre os lipopolissacarídeos da parede celular bacteriana e os gangliosídeos da membrana dos nervos periféricos. Uma vez que a estrutura do gangliosídeo GM1 presente na membrana das células nervosas é semelhante aos glicolipídios do polissacarídeo de parede celular do *C. jejuni*, os anticorpos produzidos devido à infecção pela bactéria podem produzir uma reação cruzada e atacar os

nervos, interferindo na condução dos estímulos nervosos, causando fraqueza muscular que pode evoluir para paralisia muscular aguda (YUKI et al., 1997; HADDEN; GREGSON, 2001; TAKAHASHI et al., 2005; SEBASTIAN, 2012; BAE et al., 2014). Estima-se que *C. jejuni* seja responsável por 30% dos casos confirmados da síndrome de Guillain-Barré no mundo (YUKI; HARTUNG, 2012; FITZGERALD, 2015).

Após a ingestão da bactéria, o *C. jejuni* é capaz de migrar pelo estômago e atingir o lúmen intestinal. A presença de flagelo confere às bactérias dessa espécie a capacidade de movimentar-se através da camada mucosa que reveste o epitélio intestinal, com consequente adesão e invasão dessas células. Essa translocação pode ocorrer tanto por via transcelular como também por via paracelular (SNELLING et al., 2005; MAN, 2011). Ao atravessarem a camada do epitélio intestinal e atingirem a camada submucosa as bactérias são capazes de resistir à fagocitose devido a uma camada protetora que reveste a bactéria, impedindo assim a deposição do sistema complemento na superfície bacteriana, característica essa que é muito importante no processo de infecção sistêmica. Ademais, as bactérias injetam proteínas efetoras nas células hospedeiras através de um sistema de secreção do tipo IV (T4SS) (VAN VLIET; KETLEY, 2001; YOUNG; DAVIS; DIRITA, 2007; MAN, 2011).

A produção de toxinas também está intimamente relacionada ao processo de patogênese de *C. jejuni*. A toxina distensora citoletal (*cytolethal distending toxin*, CDT), composta pelas proteínas CdtA, CdtB e CdtC, liga-se à superfície celular hospedeira através das proteínas CdtA e CdtC seguida da entrega de CdtB ao núcleo celular do hospedeiro causando danos ao DNA da célula hospedeira, promovendo a interrupção do ciclo celular com consequente alteração da morfologia da célula e manifestação da doença (VAN VLIET; KETLEY, 2001; MAN, 2011; EPPS et al., 2013).

1.2.3. Genes e fatores de virulência

Os mecanismos específicos de virulência de *C. jejuni* ainda não estão totalmente elucidados, porém acredita-se que a motilidade mediada por flagelos, a adesão da bactéria à mucosa intestinal, a capacidade de invasão e a habilidade de produzir toxinas sejam importantes fatores de virulência (KETLEY, 1997; VAN VLIET; KETLEY, 2001; WIECZOREK; OSEK, 2008; SILVA et al., 2011; BOLTON, 2015).

A colonização do intestino requer a habilidade de mover-se através da camada mucosa que recobre as células intestinais. Essa habilidade é conferida pela motilidade que ocorre devido ao flagelo polar presente em *C. jejuni*, permitindo assim a bactéria penetrar na barreira mucosa (SOLOMON; HOOVER, 1999; VAN VLIET; KETLEY, 2001). O flagelo é

codificado pelos genes *flaA* e *flaB*, sendo que o gene *flaA* mostrou ser essencial no processo de invasão de células epiteliais, uma vez que, mutações nesse gene geram um flagelo truncado com severa redução na motilidade bacteriana. No entanto, mutações no gene *flaB* não acarretam em mudanças significativas na estrutura flagelar (GUERRY, 2007; SILVA et al., 2011). Ademais, estudos demonstram que a expressão do gene *flhA* também está diretamente ligada ao processo de motilidade em *C. jejuni* (CARRILLO et al., 2004; YOUNG; DAVIS; DIRITA, 2007).

A adesão de *C. jejuni* às células do epitélio intestinal do hospedeiro é um importante pré-requisito para a colonização que é mediada por várias adesinas na superfície bacteriana que podem ser expressas pelos genes *cadF*, *racR*, *dnaJ* e *docA* (KETLEY, 1997; MULLER et al., 2006; POLY; GUERRY, 2008). Monteville e colaboradores (2003) demonstraram que linhagens de *C. jejuni cadF* mutantes apresentaram uma redução significativa na internalização de células intestinais INT 407. Portanto, a ausência das proteínas codificadas pelos genes envolvidos no processo de adesão, pode reduzir a capacidade de colonização de *C. jejuni* (MONTEVILLE et al., 2003; MULLER et al., 2006; DATTA et al., 2003). O gene *dnaJ*, que codifica uma proteína de choque térmico (*heat shock*), está intimamente ligado à adesão e colonização na célula hospedeira, pois, de acordo com Konkel e colaboradores (1998), mutações nesse gene provocaram uma severa redução no processo de colonização.

Os genes *pldA*, *ciaB* e *iamA* estão intimamente relacionados aos processos de invasão e sobrevivência na célula hospedeira (DATTA et al., 2003; DASTI et al., 2010; WIECZOREK et al., 2013). Rivera-Amill e colaboradores (2001) demonstraram que linhagens de *C. jejuni* mutantes para o gene *ciaB* resultaram em um fenótipo não invasivo. O gene *pldA* codifica uma fosfolipase A de membrana externa que está envolvida no processo de invasão das células hospedeiras (ZIPRIN et al., 2001).

O gene *virB11*, localizado no plasmídeo pVir, codifica proteínas do sistema de secreção do tipo IV (T4SS), que é uma maquinaria que a bactéria utiliza para introduzir proteínas efetoras nas células do hospedeiro (BACON et al., 2000). Os estudos de Bacon e colaboradores (2000) demonstraram o envolvimento do gene *virB11* nos processos de adesão e invasão celular, uma vez que, linhagens *C. jejuni* mutantes para esse gene tiveram a adesão e invasão reduzidas em seis e onze vezes, respectivamente, quando comparados à linhagem selvagem, além de uma diminuição da patogenicidade *in vivo* (BACON et al., 2000; WIECZOREK; OSEK, 2008).

O gene *wlaN*, de acordo com Linton et al. (2000), codifica a produção da β -1,3 galactosiltransferase que é responsável pelas estruturas específicas do lipopolissacarídeo

(LPS) bacteriano, consideradas cruciais para o desenvolvimento de neuropatias pós-infecção causadas por *C. jejuni*, como por exemplo, a Síndrome de Guillain-Barré.

A toxina distensora citoletal (*cytolethal distending toxin*, CDT) é descrita como um importante fator de virulência de *C. jejuni* (YOUNG; DAVIS; DIRITA, 2007; SILVA et al., 2011). CDT é composto por três subunidades codificadas pelos genes *cdtA*, *cdtB* e *cdtC*, e a citotoxicidade é causada pelo bloqueio da fase G2 do ciclo celular na célula hospedeira, levando à morte celular (DASTI et al., 2010; SILVA et al., 2011; BOLTON, 2015). CDT está intimamente envolvido no processo de desenvolvimento da diarreia, uma vez que, as toxinas promovem um distúrbio na maturação das cristas celulares e nas vilosidades das células intestinais, causando uma erosão temporária com subsequente perda da absorção de nutrientes (KETLEY, 1997; VAN VLIET; KETLEY, 2001).

A enzima superóxido desmutase, codificada pelo gene *sodB*, confere proteção contra o anion superóxido. Sendo assim, esse gene é importante para a sobrevivência da bactéria em condições adversas, como por exemplo, no estresse oxidativo causado pela presença de oxigênio (BOLTON, 2015). Fields e Thompson (2008) demonstraram que o gene *csrA* também possui envolvimento com a sobrevivência bacteriana no estresse oxidativo, uma vez que, linhagens de *C. jejuni* mutantes para esse gene demonstraram menor sobrevivência sob condições de estresse.

1.2.4. Tratamento e susceptibilidade a antimicrobianos

A gastroenterite causada por *C. jejuni* é, na maioria dos casos, autolimitada e não necessita do uso de antimicrobianos, apenas de uma reposição hidroeletrólítica. No entanto, a presença de sangue nas fezes, uma diarreia persistente com sintomas que perdurem por mais de uma semana, pacientes imunocomprometidos ou infecções sistêmicas e crônicas associadas à infecção por *C. jejuni* devem ser tratadas com antibioticoterapia, e nesses casos os medicamentos de escolha são fluoroquinolonas, macrolídeos e tetraciclina. Porém o crescente surgimento de linhagens de *Campylobacter* resistentes a essas três classes de antimicrobianos pode comprometer a eficácia do tratamento (SOLOMON; HOOVER, 1999; ALLOS, 2001; SILVA et al., 2011; DUARTE et al., 2014; BOLTON, 2015; SKARP; HANNINEN; RAUTELIN, 2016). Vale ainda mencionar, que todas as espécies de *Campylobacter* possuem resistência intrínseca a penicilinas, à maioria das cefalosporinas, vancomicina, rifampicina, sulfametoxazol e trimetoprim (ALLOS, 2001; WIECZOREK; OSEK, 2013).

Nos últimos anos, tem havido um aumento crescente no número de linhagens de *Campylobacter* resistentes à fluoroquinolona ao redor do mundo (ALLOS, 2001; ZILBAUER et al., 2008; SILVA et al., 2011). O primeiro relato de linhagens de humanos resistentes a essa classe antimicrobiana foi feito no início dos anos 90 em alguns países da Europa, como, Espanha, Holanda e Suécia. O surgimento da resistência coincidiu com o início da administração de enrofloxacin na medicina veterinária nesses países (ENDTZ et al., 1991). Evento similar foi observado no Reino Unido após a aprovação do uso de fluoroquinolonas na veterinária (SAM; LYONS; WAGHORN, 1999), reforçando assim a evidência de que o uso indiscriminado de antibióticos para o tratamento e como promotor de crescimento em animais para o consumo humano tem uma estreita relação com o espalhamento da resistência antimicrobiana em linhagens de *Campylobacter* (SILVA et al., 2011; WIECZOREK, OSEK, 2013).

Dessa forma, a utilização de uma política com o intuito de regular a limitação do uso de antibióticos na medicina veterinária resulta em uma redução da resistência a fluoroquinolonas (GALLAY et al., 2007; HAN et al., 2009). Porém, alguns estudos sugerem que essa resistência possa persistir por longos períodos de tempo (NELSON et al., 2007; PRICE et al., 2007).

Campylobacter demonstra menores taxas de resistência à eritromicina, um antibiótico da classe dos macrolídeos, também considerado como droga de escolha para o tratamento da campylobacteriose. Diferentemente das tetraciclina e fluoroquinolonas, a eritromicina pode ser administrada com segurança em crianças e mulheres grávidas (ALLOS, 2001). O menor número de resistência à eritromicina pode ser explicado pelo fato de que é necessária uma prolongada exposição a essa droga para que a bactéria possa adquirir resistência, principalmente quando comparado a fluoroquinolonas (WIECZOREK; OSEK, 2013).

Em países na União Europeia, a resistência a tetraciclina tem se mostrado similar aos dados relatados para fluoroquinolonas, enquanto que para macrolídeos, que possui uso limitado na produção de carnes para o consumo humano, o número de linhagens de *Campylobacter* resistentes é bem menor (EFSA, 2017b).

1.2.5. Mecanismos de resistência em *Campylobacter*

As quinolonas inibem a síntese do DNA bacteriano causando a morte celular. As enzimas bacterianas DNA girase e topoisomerase IV, responsáveis pela replicação, transcrição, recombinação e reparos no DNA são os alvos de ação de tais antimicrobianos. A DNA girase e a topoisomerase IV são constituídas por dois pares de subunidades,

denominadas GyrA e GyrB e ParC e ParE, respectivamente (PAYOT et al., 2006). A resistência às fluoroquinolonas é devida principalmente à substituição de aminoácidos na região QRDR (*quinolone resistance determining region*), denominada de região determinante de resistência às quinolonas, que está localizada no domínio de ligação na superfície dessas enzimas. Há várias mutações no GyrA associadas à resistência a fluoroquinolonas em espécies de *Campylobacter*, como por exemplo as substituições de aminoácidos Thr86Ile, Asp90Asn, Thr86Lys, Thr86Ala, Thr87Val e Asp90Tyr. Porém, a mutação mais frequente que confere resistência a quinolonas é a troca de uma citosina por uma timina na posição 257 no gene *gyrA* (C257T), que promove a substituição de uma treonina por uma isoleucina na posição 86 (Thr86Ile) e confere um alto nível de resistência a antimicrobianos desta classe (GE et al., 2013; IOVINE, 2013; WIECZOREK; OSEK, 2013; YANG et al., 2017).

Os macrolídeos, que tem a eritromicina como um membro dessa classe, são antimicrobianos considerados seguros e efetivos e seu espectro de ação cobre a maioria dos microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, incluindo espécies de *Campylobacter*. Os macrolídeos interrompem a síntese proteica do ribossomo bacteriano na subunidade 50S e a resistência a essa classe de antimicrobianos é dada por modificação no sítio de ligação ribossomal causada por mutações no gene 23S rRNA ou alterações nas proteínas ribossomais L4 e L22 (WIECZOREK; OSEK, 2013; BOLINGER, KATHARIOU, 2017). Substituições de base nas posições 2074 e 2075 nos resíduos de adenina no gene 23S rRNA conferem resistência à eritromicina em *Campylobacter*, sendo as substituições A2074C, A2074G e A2075G as mais comumente encontradas e que conferem alto nível de resistência, com MIC ≥ 128 mg/L para eritromicina. Várias modificações nas proteínas ribossomais L4 e L22 têm sido reportadas, e acredita-se que estejam associadas a baixos níveis de resistência aos macrolídeos. No entanto, o exato papel das modificações em tais proteínas ainda não está totalmente elucidado (PAYOT et al., 2006; GE et al., 2013; IOVINE, 2013; WIECZOREK; OSEK, 2013; BOLINGER, KATHARIOU, 2017).

A bomba de efluxo multidroga CmeABC tem sido descrita como o principal mecanismo de efluxo a drogas em *Campylobacter* causando resistência a vários antimicrobianos, dentre eles, fluoroquinolonas e macrolídeos. Ademais, a bomba de efluxo pode agir em sinergismo com os mecanismos acima descritos de resistência a fluoroquinolonas e macrolídeos. CmeABC é codificada por um operon composto por três genes, *cmeA*, *cmeB* e *cmeC* que codificam uma proteína de fusão periplasmática, um transportador de membrana interna e uma proteína de membrana externa, respectivamente (IOVINE, 2013; WIECZOREK; OSEK, 2013; YANG et al., 2017).

A resistência à tetraciclina em *Campylobacter* é conferida pelo gene *tet(O)*, que está amplamente distribuído nas espécies *C. jejuni* e *C. coli*, principalmente. Uma vez que a ação da tetraciclina ocorre pela ligação do antimicrobiano à subunidade ribossomal 30S, o gene *tet(O)* age codificando proteínas de proteção ribossômicas (RPPs) e a sua presença pode conferir altos níveis de resistência à tetraciclina (512 mg/L) (WIECZOREK; OSEK, 2013).

1.3. Métodos de tipagem bacteriana

Os métodos clássicos de tipagem molecular baseavam-se em metodologias fenotípicas tais como fagotipo, biotipo, sorotipo, padrão de resistência a antimicrobianos, entre outros. Entretanto, esses métodos convencionais são muitas vezes limitados devido a sua baixa capacidade em discriminar linhagens pertencentes a uma mesma espécie e a problemas referentes à reprodutibilidade intra e inter laboratoriais (OLIVE; BEAN, 1999; FOXMAN et al., 2005).

Assim, na tentativa de suprir os problemas com reprodutibilidade e o baixo poder de discriminação, métodos genotípicos têm sido utilizados com grande sucesso na caracterização, identificação e em estudos epidemiológicos de tipagem bacteriana. Tais estudos de investigação epidemiológica molecular permitem determinar a fonte e os veículos de transmissão, além de informar se os micro-organismos envolvidos nos surtos representam ou não um único clone (OLIVE; BEAN, 1999; VAN BELKUM et al., 2001).

Vários métodos genotípicos como *pulsed field gel electrophoresis* (PFGE), sequenciamento da pequena região variável (*short variable region*, SVR) do gene *flaA*, *multilocus sequence typing* (MLST), *clustered regularly interspaced short palindromic repeats* (CRISPR), *high-resolution melting analysis* (HRMA), sequenciamento do genoma completo, dentre outros, vêm sendo utilizados com sucesso na tipagem molecular e nos estudos epidemiológicos e filogenéticos de linhagens de *C. jejuni* (MEINERSMANN et al., 1997; DINGLE et al., 2001; SAILS et al., 2003; CLARK et al., 2005; KARENLAMPI et al., 2007; PRICE et al., 2007; SHEPPARD et al., 2009; AQUINO et al., 2010; OPORTO et al., 2011; AHAMED et al., 2012; WIECZOREK et al., 2013; ABAY et al., 2014; DUARTE et al., 2014; REVEZ et al., 2014; LLARENA et al., 2015; MAROTTA et al., 2015; CLARK et al., 2016; SILVA et al., 2016; FRAZÃO et al., 2017; LLARENA; TABOADA; ROSSI, 2017; OHISHI et al., 2017).

1.3.1. Pulsed field gel electrophoresis (PFGE)

A técnica de PFGE foi descrita pela primeira vez em 1984 como uma ferramenta para estudar o DNA cromossômico de organismos eucariotos. Subsequentemente, o PFGE provou ser uma técnica de tipagem molecular bacteriana altamente eficaz (TENOVER; ARBEIT; GOERING, 1997).

Nessa técnica, é feita a construção de *plugs* de agarose a partir de uma suspensão bacteriana. Posteriormente, a bactéria inteira que se encontra embebida no *plug*, é lisada com o uso de detergentes e proteinase K, obtendo-se assim, o DNA bacteriano livre, que é então digerido com uma enzima de restrição que possui poucos sítios de reconhecimento, gerando um perfil com aproximadamente 10 a 30 fragmentos de restrição que variam de 10 a 800 Kb em tamanho. Essencialmente, todos esses fragmentos podem ser separados em um padrão de bandas distintas por PFGE. Ao invés de se aplicar a corrente elétrica em uma única direção, como em uma eletroforese convencional, nessa técnica, a corrente é aplicada, primeiramente, em uma direção a partir de um conjunto de eletrodos, em seguida, a corrente elétrica migra para o segundo conjunto de eletrodos por um curto período de tempo e então, migra para um terceiro conjunto de eletrodos. Assim, o campo elétrico que causa a migração do DNA no gel de agarose é produzido por pulsos que se alternam entre três conjuntos de eletrodos. Dessa maneira, o DNA migra de forma serpentina através do gel, e os fragmentos gerados pela digestão com a enzima de restrição, podem então, serem separados com eficiência (TENOVER; ARBEIT; GOERING, 1997; GOERING, 2010).

A análise do padrão de bandas gerado pelo PFGE é realizada através de *softwares* especializados que comparam as linhagens estabelecendo, assim, a similaridade genotípica entre elas (SINGH et al., 2006).

Todas as espécies bacterianas podem ser tipadas por PFGE, embora o isolamento do DNA intacto seja tecnicamente difícil para algumas espécies. Como exemplo, o DNA cromossômico de algumas linhagens de *Clostridium difficile*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Vibrio cholerae* pode degradar-se espontaneamente durante o processo de lise celular, devido à atividade de nucleases, tornando essa técnica impraticável (GOERING, 2010). Entretanto, o PFGE é uma das técnicas de tipagem molecular mais reprodutível, com maior poder discriminatório e que vem sendo aplicado com sucesso no mundo todo para tipagem molecular de linhagens de *C. jejuni* (RIBOT et al., 2001; FITZGERALD et al., 2001; KARENLAMPI et al., 2007; RAGIMBEAU et al., 2008; BEHRINGER; MILLER; OYARZABAL, 2011; MELERO et al., 2012; WIECZOREK et al., 2013, ABAY et al., 2014; SILVA et al., 2016; FRAZÃO et al., 2017).

1.3.2. Sequenciamento da pequena região variável (*small variable region*, SVR) do gene *flaA*

O *locus* do gene que codifica a flagelina é composto pelos genes *flaA* e *flaB*, que estão arrançados em *tandem* no genoma de *Campylobacter* e que possuem 95% de homologia entre as suas sequências. Ambos possuem aproximadamente 1.730 pares de bases (pb) e estão separados por uma região intergênica em torno de 170 pb (WASSENAAR; NEWELL, 2000). Porém, a expressão do gene *flaA* parece estar intimamente ligada ao processo de colonização, pois, linhagens com mutações no gene *flaB* demonstraram uma diferença sutil nos processos de motilidade e colonização (WASSENAAR et al., 1991).

O gene *flaA*, especificamente, possui duas regiões de alta variabilidade, sendo, uma grande região localizada aproximadamente entre as bases de posição 700 a 1.450 e uma região menor, denominada pequena região variável (*small variable region*, SVR) entre as bases de posição 450 a 600, que tem sido a região utilizada para tipar as linhagens de *Campylobacter* (EL-ADAWY et al., 2013).

Essa metodologia foi desenvolvida por Meinersmann e colaboradores em 1997 e se baseia, portanto, no sequenciamento da pequena região variável do gene *flaA*, analisando assim a variabilidade dessa região presente nas linhagens de *Campylobacter*. A tipagem molecular através dessa técnica vem sendo utilizada com sucesso no mundo todo em estudos de diversidade de linhagens de *C. jejuni* (MEINERSMANN et al., 1997; SAILS et al., 2003; RAGIMBEAU et al., 2008; WASSENAAR et al., 2009; SCHWEITZER et al., 2011; GIACOMELLI et al., 2012; DUARTE et al., 2014; MAROTTA et al., 2015; FRAZÃO et al., 2017).

Considerada uma metodologia simples e altamente reproduzível, essa técnica apresenta como notável vantagem a possibilidade de comparação das linhagens estudadas com outras linhagens isoladas em diferentes locais do mundo através da obtenção do *flaA* alelo, que é obtido pela inserção da sequência que contem a pequena região variável do gene *flaA*, de aproximadamente 320 pares de base, no banco de dados disponível *online* <http://pubmlst.org/campylobacter> (MEINERSMANN et al., 1997; WASSENAAR; NEWELL, 2000; AHMED et al., 2012).

1.3.3. Análise do *locus* CRISPR por HRMA

A análise do *locus* CRISPR (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats*) de linhagens *C. jejuni* através da técnica de *high resolution melting analysis* (HRMA) foi desenvolvida no ano de 2007 por Price e colaboradores (PRICE et al., 2007).

O sistema CRISPR é formado por sequências repetidas (*direct repeats*, DR) contendo de 21 a 47 pb separadas por espaçadores de tamanho similar. Os espaçadores são compostos por ácidos nucleicos que não pertencem à célula bacteriana, como por exemplo, DNA de plasmídeos ou fagos (SOREK; KUNIN; HUGENHOLTZ, 2008; HORVATH; BARRANGOU, 2010). Tais elementos podem proteger a bactéria contra elementos genéticos móveis, em particular os bacteriófagos, plasmídeos e transposons (SOREK; KUNIN; HUGENHOLTZ, 2008; BIKARD et al., 2012). Devido ao alto polimorfismo característico das sequências CRISPRs, as mesmas vêm sendo utilizadas com sucesso para genotipar linhagens de *C. jejuni* (SCHOULS et al., 2003; KOVANEN et al., 2014).

A técnica de *high resolution melting analysis* (HRMA) é uma metodologia pós-PCR, utilizada para identificar variações na sequência de nucleotídeos em um *locus* específico através da análise dos perfis das temperaturas de *melting*. Essa metodologia compreende a análise de uma curva de dissociação de alta resolução de *amplicons* para a determinação precisa da relação entre temperatura e desnaturação da dupla fita de DNA (REED; KENT; WITTEWER, 2007; LEVESQUE et al., 2011).

O HRMA é considerado o método mais simples para genotipar e para determinar mutações, pois não é necessário o processamento das amostras posteriormente à PCR. Após a amplificação por PCR, as curvas de *melting* são geradas por monitoramento da fluorescência de um corante (*dye*) intercalante de DNA dupla fita que apresenta elevada fluorescência quando ligado ao DNA e baixa fluorescência quando não ligado (REED; KENT; WITTEWER, 2007; HOFINGER et al., 2009). Após a amplificação, o produto de PCR passa por uma etapa de desnaturação térmica e nesse momento, as moléculas do agente intercalante de DNA são liberadas gerando mudanças na fluorescência. Assim, o resultado é um perfil de *melting* característico para cada *amplicon* (REED; KENT; WITTEWER, 2007; RUSKOVA; RACLAVSKY, 2011).

1.3.4. Multilocus sequence typing (MLST)

A metodologia de MLST foi proposta por Maiden e colaboradores como uma metodologia capaz de superar os problemas de reprodutibilidade inter-laboratoriais enfrentados nas metodologias de tipagem tradicionais (MAIDEN et al., 1998).

Essa metodologia baseia-se no sequenciamento de genes essenciais ou de manutenção, que são denominados genes *housekeeping*. Após o sequenciamento, as sequências obtidas são depositadas em um banco de dados disponível *online*, sendo que cada sequência corresponde a um alelo. O conjunto de alelos de cada amostra bacteriana dá origem ao *sequence typing*

(ST) que é utilizado para análises filogenéticas, populacionais e evolucionárias de inúmeros patógenos bacterianos (MAIDEN et al., 1998; URWIN; MAIDEN, 2003).

A técnica de MLST apresenta a vantagem de ser altamente reprodutível, além do fato de que os seus resultados podem ser disponibilizados e compartilhados em bancos de dados específicos e disponíveis *online*, possibilitando assim, a análise comparativa da diversidade genética de diversas espécies bacterianas isoladas em diferentes regiões do mundo (MAIDEN et al., 1998).

Especificamente para *C. jejuni*, a metodologia de MLST foi estabelecida no ano de 2001 por Dingle e colaboradores, e os sete genes *housekeeping* utilizados foram *aspA*, *glnA*, *gltA*, *glyA*, *pgm*, *tkl* e *unc* que são responsáveis por codificar aspartase A, glutamato sintetase, citrato sintase, serina hidroximetil transferase, fosfoglutamase, transquetolase e ATP sintase unidade α , respectivamente (DINGLE et al., 2001; AHMED et al., 2012). Desde a criação dessa técnica para *C. jejuni*, esta vem sendo utilizada com sucesso na tipagem molecular e nos estudos filogenéticos de bactérias pertencentes a essa espécie no mundo todo (SCHOULS et al., 2003; KARENLAMPI et al., 2007; RAGIMBEAU et al., 2008; SHEPPARD et al., 2009; OPORTO et al., 2011; BEHRINGER; MILLER; OYARZABAL, 2011; DE HAAN et al., 2013; DUARTE et al., 2014; LLARENA et al., 2015; COLLADO et al., 2018).

1.3.5. Sequenciamento do genoma completo

O advento do sequenciamento de nova geração (*new generation sequencing*, NGS) tem revolucionado a pesquisa genômica através da possibilidade de sequenciar, com precisão e rapidez, genomas inteiros de diversos organismos (GILMOUR et al., 2013; VAN DIJK et al., 2014; ALLARD, 2016).

As tecnologias de sequenciamento podem ser divididas em três gerações, sendo, a primeira geração baseada no método de sequenciamento de Sanger, a segunda geração baseada no sequenciamento de “*high-throughput*”, e a terceira geração que tem como base o sequenciamento de *reads* longas. Sendo assim, o sequenciamento de nova geração é composto pelas metodologias de segunda e terceira gerações (VAN DIJK et al., 2014; LOMAN; PALLEN, 2015; GOODWIN; MCPHERSON; MCCOMBIE, 2016). A notável vantagem do sequenciamento de nova geração, quando comparado ao método de Sanger, é a capacidade de gerar milhões de *reads* (com tamanhos de aproximadamente 35 a 700 pb para as metodologias de segunda geração) em uma única corrida (SABAT et al., 2013; LOMAN; PALLEN, 2015).

As plataformas da Illumina (MiSeq[®], NextSeq[®] e HiSeq[®]) são exemplos de sequenciadores de segunda geração amplamente utilizados no sequenciamento do genoma

completo de diversos gêneros bacterianos (LIU et al., 2012). A metodologia de sequenciamento nessas plataformas é denominada de sequenciamento por síntese e pode ser dividida em quatro etapas, sendo: preparação das amostras, onde é feito a clivagem do DNA e a implementação de adaptadores que servirão como códigos de barra para as diferentes amostras que são processadas na mesma corrida; geração de *cluster*, que é o processo onde cada fragmento é amplificado através de uma reação de PCR; sequenciamento e finalmente, a análise de dados utilizando *softwares* de acordo com cada abordagem que se queira seguir (METZKER, 2010; LIU et al., 2012).

Apesar do alto custo que ainda envolve a metodologia de sequenciamento do genoma completo, esta vem se tornando uma ferramenta poderosa e altamente atrativa para estudos de investigação epidemiológica, podendo agregar valor aos resultados que foram obtidos através das técnicas de tipagem molecular convencionais, como PFGE, MLST, dentre outras (GILMOUR et al., 2013; SABAT et al., 2013).

A metodologia de sequenciamento do genoma completo vem sendo utilizada com êxito em linhagens de *C. jejuni*, tanto em estudos que abrangem linhagens advindas de surtos, na tentativa de traçar as possíveis rotas de contaminação, quanto em estudos filogenéticos para avaliar a diversidade genética dessa espécie bacteriana (BIGGS et al., 2011; REVEZ et al., 2014; CLARK et al., 2016; DEARLOVE et al., 2016; CODY et al., 2017; LAHTI et al., 2017; LLARENA; TABOADA; ROSSI, 2017).

1.4. Isolamento de *Campylobacter*

A campilobacteriose é uma zoonose de ampla distribuição mundial com repercussões significativas na saúde pública e com um elevado impacto socioeconômico, que vem adquirindo uma crescente importância a partir do início dos anos 2000, sendo mais frequentemente reportada do que a gastroenterite causada por outros importantes enteropatógenos como *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e *E. coli* (KETLEY, 1997; SILVA et al., 2011; CDC, 2015; FITZGERALD, 2015; EFSA, 2017a). Vale mencionar que dentre as espécies do gênero *Campylobacter*, *C. jejuni* é a espécie mais comumente isolada como causa de gastroenterite em humanos em diversos países da Europa e na América do Norte (KETLEY, 1997; MOORE et al., 2005; SILVA et al., 2011; EFSA, 2017a).

De acordo com a *European Food Safety Authority* (EFSA), *Campylobacter* continua a ser o patógeno bacteriano mais reportado como causa de gastroenterite em humanos em 27 países da União Europeia, desde o ano de 2005. O número de casos confirmados de campilobacteriose em humanos no ano de 2016 foi de mais de 246 mil, com um aumento de

6,1 % em relação ao ano anterior, apresentando uma taxa de 66,3 casos para cada 100 mil habitantes, contabilizando mais de 19 mil casos de hospitalização, porém com uma taxa de mortalidade de 0,03% (EFSA, 2017a). Os dados da EFSA mostraram que o segundo patógeno bacteriano mais isolado foi *Salmonella*, com 94.530 casos. Dentre os casos de campylobacteriose confirmados na União Europeia no ano de 2016, 83,6% foram causados pela espécie *C. jejuni*, seguidos por 8,5% causados por *C. coli*, 0,2% *C. lari*, 0,06% *C. fetus* e 0,05% *C. upsaliensis*. Apesar do grande número de casos notificados de campylobacteriose, foram reportados apenas 461 surtos alimentares relacionados à *Campylobacter*, o que representou 8,8% dos surtos nos países europeus no ano de 2016. Carne de origem aviária foi reportada como o alimento mais relacionado como causa de campylobacteriose em humanos, porém, leite cru e carne de outros animais também foram reportados (EFSA, 2017a).

Os dados disponibilizados pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) nos Estados Unidos mostraram que bactérias pertencentes ao gênero *Campylobacter* são a principal causa de gastroenterite em humanos no país, causando doença em aproximadamente 2,4 milhões de pessoas a cada ano (CDC, 2015).

Em Quebec, no Canadá, mais de 28 mil casos de campylobacteriose foram reportados entre os anos de 1996 e 2006, com uma incidência de 35,2 casos para cada 100 mil habitantes. Uma incidência de 49,69 casos para cada 100 mil habitantes foi reportada em Ontário, uma província localizada no Canadá (KEEGAN et al., 2009; ARSENAULT et al., 2012; KAAKOUSH et al., 2015).

A campylobacteriose foi a causa mais comum de gastroenterite relacionada a alimentos na Austrália no ano de 2010, com aproximadamente 17 mil casos notificados, gerando uma taxa de 112,3 casos para cada 100 mil habitantes do país. O mesmo foi observado na Nova Zelândia, que no período de 2002 a 2006 foram reportados 353,8 casos para cada 100 mil habitantes (KAAKOUSH et al., 2015).

Em geral, a grande maioria dos países em desenvolvimento, o que inclui o Brasil, não possui um programa de vigilância para notificação de campylobacteriose, e conseqüentemente, não é possível a estimativa real do número de casos de gastroenterite em humanos que sejam causados por espécies pertencentes ao gênero *Campylobacter*, bem como, a incidência da doença em termos de densidade populacional (COKER et al., 2002; EPPS et al., 2013).

Dessa forma, e de acordo com o exposto acima, o isolamento e o estudo de *C. jejuni* não são muito frequentes no nosso país, o que dificulta avaliar a real dimensão do envolvimento dessa espécie bacteriana como causadora de doença nos seres humanos e em

animais, bem como, determinar o impacto da sua presença em alimentos e no meio-ambiente (AQUINO et al., 2002; SCARCELLI et al., 2005; ANDRADE et al., 2007; AQUINO et al., 2010; BIASI et al., 2011; QUETZ et al., 2012; ROSSI et al., 2012; MELO et al., 2013).

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

- O potencial patogênico das linhagens de *C. jejuni* estudadas foi evidenciado devido à alta frequência da maioria dos genes de virulência pesquisados;
- A resistência à ciprofloxacina, tetraciclina e doxiciclina encontrada em uma porcentagem significativa das linhagens de *C. jejuni* estudadas é motivo de preocupação, pois, estes são os antimicrobianos de escolha para o tratamento da campylobacteriose;
- Os resultados de PFGE, sequenciamento da SVR do gene *flaA*, análise do *locus* CRISPR por HRMA, MLST e análise de SNPs no genoma completo demonstraram uma alta similaridade genética entre algumas linhagens de *C. jejuni* estudadas, e, portanto, sugerem que uma possível contaminação possa ter ocorrido entre fontes clínicas e não clínicas e entre humanos e animais, ao longo de 20 anos no Brasil;
- Pela análise dos alelos obtidos a partir do sequenciamento da SVR do gene *flaA* podemos concluir que os alelos prevalentes obtidos nas linhagens de *C. jejuni* do presente estudo são diferentes daqueles encontrados em outros países;
- Os dados obtidos pelos resultados do MLST demonstraram que não houve a predominância de um ST dentre as linhagens de *C. jejuni* estudadas e isoladas no Brasil e que as mesmas possuem usualmente uma grande diversidade entre si e em comparação com as linhagens isoladas em diferentes locais do mundo;
- As metodologias de análise de SNPs no genoma completo e PFGE foram as mais eficientes, dentre as metodologias de tipagem molecular, em diferenciar as linhagens de *C. jejuni* estudadas, de acordo com o valor do índice de discriminação;
- Todas as técnicas de tipagem molecular utilizadas no presente estudo conseguiram fornecer informações epidemiológicas concordantes e consistentes;
- A alta correlação encontrada entre os resultados de perfil de resistência fenotípico e a análise *in silico* de genes de resistência e pontos de mutação para os antibióticos ciprofloxacina, tetraciclina e eritromicina demonstra a capacidade do sequenciamento do genoma completo como uma ferramenta eficaz na determinação do perfil de resistência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAY, S.; KAYMAN, T.; OTLU, B.; HIZLISOY, H.; AYDIN, F.; ERTAS, N. Genetic diversity and antibiotic resistance profiles of *Campylobacter jejuni* isolates from poultry and humans in Turkey. **International Journal of Food Microbiology**, v.178, p.29-38, 2014.

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal **Relatório Anual**, 2017 http://abpa-br.com.br/storage/files/3678c_final_abpa_relatorio_anual_2016_portugues_web_reduzido.pdf; Acessado em 02 de novembro de 2017.

AHAMED, M.U.; DUNN, L.; IVANOVA, E.P. Evaluation of current molecular approaches for genotyping of *Campylobacter jejuni* strains. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.9, n.5, p.375-385, 2012.

ALLARD, M.W. The future of whole-genome sequencing for public health and the clinic. **Journal of Clinical Microbiology**, v.54, n.8, p.1946-1948, 2016.

ALLOS, B.M. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. **Clinical Infectious Diseases**, v.32, n.8, p.1201-1206, 2001.

ANDRADE, M.C.R.; GABEIRA, S.C.O.; ABREU-LOPES, D.; ESTEVES, W.T.C.; VILARDO, M.C.B.; THOMÉ, J.D.S.; CABELLO, P.H.; LAURIA-FILGUEIRAS, A.L. Circulation of *Campylobacter* spp. in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) held in captivity: a longitudinal study. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.102, n.1, p.53-57, 2007.

AQUINO, M.H.C.; FILGUEIRAS, A.L.L.; FERREIRA, M.C.S.; OLIVEIRA, S.S.; BASTOS, M.C.; TIBANA, A. Antimicrobial resistance and plasmid profiles of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from human and animal sources. **Letters in Applied Microbiology**, n.34, p.149-153, 2002.

AQUINO, M.H.C.; FILGUEIRAS, A.L.L.; MATOS, R.; SANTOS, K.R.N.; FERREIRA, T.; FERREIRA, M.C.S. Diversity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* genotypes from human and animal sources from Rio de Janeiro, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.88, n.2, p.214-217, 2010.

ARSENAULT, J.; BERKE, O.; MICHEL, P.; RAVEL, A.; GOSSELIN, P. Environmental and demographic risk factors for campylobacteriosis: do various geographical scales tell the same story? **BMC Infectious Diseases**, v.12, p.318, 2012.

BACON, D.J.; ALM, R.A.; BURR, D.H.; HU, L.; KOPECKO, D.J.; EWING, C.P.; TRUST, T.J.; GUERRY, P. Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176. **Infection and Immunity**, v.68, n.8, p.4384-4390, 2000.

BAE, J.S.; YUKI, N.; KUWABARA, S.; KIM, J.K.; VUCIC, S.; LIN, C.S.; KIERNAN, M.C. Guillain-Barré syndrome in Asia. **Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry**, v.85, p.905-911, 2014.

BEHRINGER, M.; MILLER, W.G.; OYARZABAL, O.A. Typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from live broilers and retail broiler meat by *flaA*-RFLP, MLST, PFGE and REP-PCR. **Journal of Microbiological Methods**, v.84, n.2, p.194-201, 2011.

BIASI, R.S.; MACEDO, R.E.F.; MALAQUIAS, M.A.S.; FRANCHIN, P.R. Prevalence, strain identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered pig carcasses in Brazil. **Food Control**, v.22, p.702-707, 2011.

BIGGS, P.J.; FEARNHEAD, P.; HOTTER, G.; MOHAN, V.; COLLINS-EMERSON, J.; KWAN, E.; BESSER, T.E.; COOKSON, A.; CARTER, P.E.; FRENCH, N.P. Whole-genome comparison of two *Campylobacter jejuni* isolates of the same sequence type reveals multiple loci of different ancestral lineage. **Plos One**, v.6, n.11, p.1-14, 2011.

BIKARD, D.; HATOUM-ASLAN, A.; MUCIDA, D.; MARRAFFINI, L.A. CRISPR Interference can prevent natural transformation and virulence acquisition during in vivo bacterial infection. **Cell Host & Microbe**, v.12, n.2, p.177-186, 2012.

BISWAS, D.; HANNON, S.J.; TOWNSEND, H.G.; POTTER, A.; ALLAN, B.J. Genes coding for virulence determinants of *Campylobacter jejuni* in human clinical and cattle isolates from Alberta, Canada, and their potential role in colonization of poultry. **International Microbiology**, v.14, n.1, p.25-32, 2011.

BLACK, R.E.; LEVINE, M.M.; CLEMENTS, M.L.; HUGHES, T.P.; BLASER, M.J. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. **Journal of Infectious Diseases**, v.157, p.472-479, 1988.

BOLINGER, H.; KATHARIOU, S. The current state of macrolide resistance in *Campylobacter* spp.: trends and impacts of resistance mechanisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v.83, n.12, p.1-9, 2017.

BOLTON, D.J. *Campylobacter* virulence and survival factors. **Food Microbiology**, v.48, p.99-108, 2015.

BRONOWSKI, C.; JAMES, C.E.; WINSTANLEY, C. Role of environmental survival in transmission of *Campylobacter jejuni*. **FEMS Microbiology Letters**, v.356, p.8-19, 2014.

BUTZLER, J.P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. **Clinical Microbiology and Infection**, v.10, n.10, p.868-876, 2004.

CAMPIONI, F.; FALCÃO, J.P. Genotypic diversity and virulence markers of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A strains isolated from clinical and non-clinical origins. **APMIS**, v.122, n.3, p.215-222, 2014.

CANTERO, G.; CORREA-FIZ, F.; RONCO, T.; STRUBE, M.; CERDÀ-CUÉLLAR, M.; PEDERSEN, K. Characterization of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* broiler isolates by whole-genome sequencing. **Foodborne Pathogens and Disease**, *In press*, 2017.

CAREV, M.; KOVACIC, A.; NOVAK, A.; TONKIC, M.; JERONCIC, A. *Campylobacter jejuni* strains co-resistant to tetracycline and ciprofloxacin in patients with gastroenteritis in Croatia. **Infectious Diseases**, v.49, n.4, p.268-276, 2017.

CARRILLO, C.D.; TABOADA, E.; NASH, J.H.E.; LANTHIER, P.; KELLY, J.; LAU, P.C.; VERHULP, R.; MYKYTCZUK, O.; SY, J.; FINDLAY, W.A.; AMOAKO, K.; GOMIS, S.; WILLSON, P.; AUSTIN, J.W.; POTTER, A.; BABIUK, L.; ALLAN, B. SZYMANSKI, C.M. Genome-wide expression analyses of *Campylobacter jejuni* NCTC11168 reveals coordinate regulation of motility and virulence by *flhA*. **Journal of Biological Chemistry**, v.279, p.20317-20338, 2004.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases**, 2015. Acessado em 29 de outubro de 2017. <http://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/campylobacter/index.html>.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Antibiotic Resistance Threats in the United States**, 2013. Acessado em 23 de novembro de 2017. <http://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>

CLARK, C.G.; BRYDEN, L.; CUFF, W. R.; JOHNSON, P.L.; JAMIESON, F.; CIEBIN, B.; WANG, G. Use of the oxford multilocus sequence typing protocol and sequencing of the flagellin short variable region to characterize isolates from a large outbreak of waterborne *Campylobacter* sp. strains in Walkerton, Ontario, Canada. **Journal of Clinical Microbiology**, v.43, n.5, p.2080-2091, 2005.

CLARK, C.G.; BERRY, C.; WALKER, M.; PETKAU, A.; BARKER, D.O.R.; GUAN, C.; REIMER, A.; TABOADA, E.N. Genomics insights from whole genome sequencing of four clonal outbreak *Campylobacter jejuni* assessed within the global *C. jejuni* population. **BMC Genomics**, v.17, n.990, p.1-16, 2016.

- CLSI. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document M45-A2. Wayne, P.A. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2010.
- CODY, A.J.; BRAY, J.E.; JOLLEY, K.A.; MCCARTHY, N.D.; MAIDEN, M.C.J. Core genome multilocus sequence typing scheme for stable, comparative analyses of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* human disease isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v.55, n.7, p.2086-2097, 2017.
- COKER, A.O.; ISOKPEHI, R.D.; THOMAS, B.N.; AMISU, K.O.; OBI, C.L. Human campylobacteriosis in developing countries. **Emerging Infectious Diseases**, v.8, n.3, p.237-243, 2002.
- COLLADO, L.; MUÑOZ, N.; PORTE, L.; OCHOA, S.; VARELA, C.; MUÑOZ, I. Genetic diversity and clonal characteristics of ciprofloxacin-resistant *Campylobacter jejuni* isolated from Chilean patients with gastroenteritis. **Infection, Genetics and Evolution, In Press**, 2018.
- DASTI, J.I.; TAREEN, A.M.; LUGERT, R.; ZAUTNER, A.E.; GROB, U. *Campylobacter jejuni*: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. **International Journal of Medical Microbiology**, v.300, p.205-211, 2010.
- DATTA, S.; NIWA, H.; ITOH, K. Prevalence of 11 pathogenic genes of *Campylobacter jejuni* by PCR in strains isolated from humans, poultry meat and broiler and bovine faeces. **Journal of Medical Microbiology**, n.52, p.345-348, 2003.
- DAVIS, S.; PETTINGILL, J.B.; LUO, Y.; PAYNE, J.; SHPUNTOFF, A.; RAND, H.; STRAIN, E. CFSAN SNP Pipeline: an automated method for constructing SNP matrices from next-generation sequence data. **Peer J Computer Science**, v.1, n.e20, p.1-11, 2015.
- DE HAAN, C.P.A.; LAMPÉN, K.; CORANDER, J.; HÄNNINEN, M.L. Multilocus Sequence Types of environmental *Campylobacter jejuni* isolates and their similarities to those of human, poultry and bovine *C. jejuni* isolates. **Zoonoses and Public Health**, v.60, n.2, p.125-133, 2013.
- DEARLOVE, B.L.; CODY, A.J.; PASCOE, B.; MÉRIC, G.; WILSON, D.J.; SHEPPARD, S.K. Rapid host switching in generalist *Campylobacter* strains erodes the signal for tracing human infections. **The International Society for Microbial Ecology Journal**, v.10, p.721-729, 2016.

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 of Applied Microbiology**, v.29, p.406-410, 1999.

DENIS, M.; REFRÉGIER-PETTON, J.; LAISNEY, M.J.; ERMEL, G.; SALVAT, G. *Campylobacter* contamination in French chicken production from farm to consumers. Use of a PCR assay for detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, n.2, p.255-267, 2001.

DINGLE, K.E.; COLLES, F.M.; WAREING, D.R.; URE, R.; FOX, A.J.; BOLTON, F.E.; BOOTSMA, H.J. WILLENS, R.J.; URWIN, R.; MAIDEN, M.C. Multilocus sequence typing system for *Campylobacter jejuni*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, n.1, p.14-23, 2001.

DUARTE, A.; SANTOS, A.; MANAGEIRO, V.; MARTINS, A.; FRAQUEZA, M. J.; CANIÇA, M.; DOMINGUES, F. C.; OLEASTRO, M. Human, food and animal *Campylobacter* spp. isolated in Portugal: High genetic diversity and antibiotic resistance rates. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.44, n.4, p.306-313, 2014.

EL-ADAWY, H.; HOTZEL, H.; TOMASO, H.; NEUBAUER, H.; TABOADA, E.; EHRLICH, R.; HAFEZ, H.M. Detection of genetic diversity in *Campylobacter jejuni* isolated from a commercial turkey flock using *flaA* typing, MLST analysis and microarray assay. **Plos One**, v.8, n.2, p.1-11, 2013.

EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. **EFSA Journal**, v.15, p.1-228, 2017a.

EFSA. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. **EFSA Journal**, v.15, n.12, p.1-212, 2017b.

ENDTZ, H.P.; RUIJS, G.J.; VAN KLINGEREN, B.; JANSEN, W.H., VAN DER REYDEN, T.; MOUTON, R.P. Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.27, p.199-208, 1991.

ENGBERG, J. Contributions to the epidemiology of *Campylobacter* infections - A review of clinical and microbiological studies. **Danish Medical Bulletin**, v.53, n.4, p.361-389, 2006.

EPPS, S.V.R.; HARVEY, R.B.; HUME, M.E.; PHILLIPS, T.D.; ANDERSON, R.C.; NISBET, D.J. Foodborne *Campylobacter*: Infections, metabolism, pathogenesis and

reservoirs. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.10, p.6292-6304, 2013.

FIELDS, J.A.; THOMPSON, S.A. *Campylobacter jejuni* CsrA mediates oxidative stress responses, biofilm formation, and host cell invasion. **Journal of Bacteriology**, v.190, n.9, p.3411-3416, 2008.

FILGUEIRAS, A.L.L.; HOFER, E. Occurrence of thermophilic *Campylobacter* in different points of a sewage-treatment station in Rio de Janeiro, RJ. **Revista De Microbiologia**, v.20, n.3, p.303-308, 1989.

FITZGERALD, C. *Campylobacter*. **Clinics in Laboratory Medicine**, v.35, p.289-298, 2015.

FITZGERALD, C.; STANLEY, K.; ANDREW, S.; JONES, K. Use of pulsed-field gel electrophoresis and flagellin gene typing in identifying clonal groups of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in farm and clinical environments. **Applied and Environmental Microbiology**, v.67, n.4, p.1429-1436, 2001.

FITZGERALD, C.; NACHAMKIN, I. *Campylobacter* and *Arcobacter*. In: Murray, P.R.; Baron, E.J.; Jorgensen, J.H.; Landry, M.L.; Pfaller, M.A. **Manual of Clinical Microbiology**. Washington: ASM PRESS, p.933-942, 2007.

FOXMAN, B.; ZHANG, L.; KOOPMA, J.S.; MANNING, S.D.; MARRS, C.F. Choosing an appropriate bacterial typing technique for epidemiologic studies. **Epidemiologic Perspectives & Innovations**, n.2, p.01-08, 2005.

FRANCHIN, P.R.; OGLIARI, P.J.; BATISTA, C.R.V. Frequency of thermophilic *Campylobacter* in broiler chickens during industrial processing in a Southern Brazil slaughterhouse. **British Poultry Science**, n.2, p.127-132, 2007.

FRAZÃO, M.R.; MEDEIROS, M.I.C.; DUQUE, S.S.; FALCÃO, J.P. Pathogenic potential and genotypic diversity of *Campylobacter jejuni*: a neglected food-borne pathogen in Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, v.66, n.3, p.350-359, 2017.

GALLAY, A.; PROUZET-MAULÉON, V.; KEMPF, I.; LEHOURS, P.; LABADI, L.; CAMOU, C.; DENIS, M.; DE VALK, H.; DESENCLOS, J. C.; MÉGRAUD, F. *Campylobacter* antimicrobial drug resistance among humans, broiler chickens, and pigs, France. **Emerging Infectious Diseases**, v.13, n.2, p.259-266, 2007.

GE, B.; WANG, F.; SJOLUND-KARLSSON, M.; MCDERMOTT, P.F. Antimicrobial resistance in *Campylobacter*: susceptibility testing methods and resistance trends. **Journal of Microbiological Methods**, v.95, n.1, p.57-67, 2013.

GIACOMELLI, M.; ANDRIGHETTO, C.; ROSSI, F.; LOMBARDI, A.; RIZZOTTI, L.; MARTINI, M.; PICCIRILLO, A. Molecular characterization and genotypic antimicrobial resistance analysis of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from broiler flocks in northern Italy. **Avian Pathology**, v.41, n.6, p.579-588, 2012.

GILMOUR, M.W.; GRAHAM, M.; REIMER, A.; VAN DOMSELAAR, G. Public health genomics and the new molecular epidemiology of bacterial pathogens. **Public Health Genomics**, v.16, p.25-30, 2013.

GOERING, R.V. Pulsed Field gel electrophoresis: A review of application and interpretation in the molecular epidemiology of infectious disease. **Infectious, Genetics and Evolution**, v.10, n.7, p.866-875, 2010.

GOMES, F.R.; CURCIO, B.R.; LADEIRA, S.R.L.; FERNÁNDEZ, H.; MEIRELES, M.C.A. *Campylobacter jejuni* occurrence in chicken fecal samples from small properties in Pelotas, southern of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, n.3, p.375-378, 2006.

GOMES, C.N.; SOUZA, R.A.; PASSAGLIA, J.; DUQUE, S.S.; MEDEIROS, M.I.C.; FALCÃO, J.P. Genotyping of *Campylobacter coli* strains isolated in Brazil suggests possible contamination amongst environmental, human, animal and food sources. **Journal of Medical Microbiology**, v.65, p.80-90, 2016.

GONZALEZ, I.; GRANT, K.A.; RICHARDSON, P.T.; PARK, S.F.; COLLINS, M. D. Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. **Journal of Clinical Microbiology**, v.35, n.3, p.759-763, 1997.

GOODWIN, C.S.; ARMSTRONG, J.A.; CHILVERS, T.; PETERS, M.; COLLINS, M.D.; SLY, L.; MCCONNELL, W.; HARPER, W.E.S. Transfer of *Campylobacter-pylori* and *Campylobacter-mustelae* to *Helicobacter* gen-nov as *Helicobacter pylori* comb-nov and *Helicobacter mustelae* comb-nov, respectively. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.39, n.4, p.397-405, 1989.

GOODWIN, S.; MCPHERSON, J.D., MCCOMBIE, R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. **Nature Reviews Genetics**, v.17, p.333-351, 2016.

GOUALIÉ, G.B.; AKPA, E.E.; KAKOU-N'GAZOA, E.S.; GUESSENND, N.; BAKAYOKO, S.; NIAMKÉ, L.S.; DOSSO, M. Prevalence and Antimicrobial Resistance of Thermophilic *Campylobacter* Isolated from Chicken in Côte d'Ivoire. **International Journal of Microbiology**, v.2012, p.1-5, 2012.

GUERRY, P. *Campylobacter* flagella: not just for motility. **Trends in Microbiology**, v.15, p.456-461, 2007.

HADDEN, R.D.M.; GREGSON, N.A. Guillain-Barré syndrome and *Campylobacter jejuni* infection. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, p.145S-154S, 2001.

HAN, F.; LESTARI, S.I.; PU, S.; GE, B. Prevalence and antimicrobial resistance among *Campylobacter* spp. in Louisiana retail chickens after the enrofloxacin ban. **Foodborne and Pathogens Diseases**, v.6, p.163-171, 2009.

HICKEY, T.E.; MCVEIGH, A.L.; SCOTT, D.A.; MICHIELUTTI, R.E.; BIXBY, A.; CARROLL, S.A.; BOURGEOIS, A.L.; GUERRY, P. *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin mediates release of interleukin-8 from intestinal epithelial cells. **Infection and Immunity**, v.68, n.12, p.6535-6541, 2000.

HOFINGER, B.J.; JING, H.C.; HAMMOND-KOSACK, K.E.; KANYUKA, K. High-resolution melting analysis of cDNA-derived PCR amplicons for rapid and cost-effective identification of novel alleles in barley. **Theoretical and Applied Genetics**, v.119, n.5, p.851-865, 2009.

HORVATH, P.; BARRANGOU, R. CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. **Science**, v.327, p.167-170, 2010.

HUMPHREY, T.; O'BRIEN, S.; MADSEN, M. *Campylobacter* as zoonotic pathogens: a food production perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v.117, p.237-257, 2007.

HUNTER, P.R.; GASTON, M.A. Numerical index of the discriminatory of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. **Journal of Clinical Microbiology**, v.26, n.11, p.2465-2466, 1988.

IOVINE, N.M. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. **Virulence**, v.4, n.3, p.230-240, 2013.

KAAKOUSH, N.O.; Castaño-Rodríguez, N.; Mitchell, H.M.; Man, S.M. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v.28, n.3, p.687-720, 2015.

KARENLAMPI, R.; RAUTELIN, H.; HANNINEN, M.L. Evaluation of genetic markers and molecular typing methods for prediction of sources of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* infections. **Applied and Environmental Microbiology**, v.73, n.5, p.1683-1685, 2007.

KEEGAN, V.A.; MAJOWICZ, S.E.; PEARL, D.L.; MARSHALL, B.J.; SITTLER, N.; KNOWLES, L.; WILSON, J.B. Epidemiology of enteric disease in C-EnterNet's pilot site - Waterloo region, Ontario, 1990 to 2004. **Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology**, v.20, p.79-87, 2009.

KETLEY, J.M. Pathogenesis of enteric infection by *Campylobacter*. **Microbiology**, v.143, p.5-21, 1997.

KONELL, K.; GELINSK, M.A.; BENETTI, T.M.; ABRAHÃO, W.M. Detection of thermophilic *Campylobacter* sp. in raw chicken sausages by methods ISO 10272:2006 in Curitiba - Parana State - Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.45, p.1551-1554, 2014.

KONKEL, M.E.; KIM, B.J.; KLENA, J.D.; YOUNG, C.R.; ZIPRIN, R. Characterization of thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. **Infectious and Immunology**, v.66, p.362-366, 1998.

KONKEL, M.E.; GRAY, S.A.; KIM, B.J.; GARVIS, S.G.; YOON, J. Identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on the *cadF* virulence gene and its product. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, n.3, p.510-517, 1999.

KOOLMAN, L.; WHYTE, P.; BURGESS, C.; BOLTON, D. Distribution of virulence-associated genes in a selection of *Campylobacter* isolates. **Foodborne Pathogens and Diseases**, v.12, p.424-432, 2015.

KOVANEN, S.M.; KIVISTÖ, R.I.; ROSSI, M.; HÄNNINEN, M.L. A combination of MLST and CRISPR typing reveals dominant *Campylobacter jejuni* types in organically farmed laying hens. **Journal of Applied Microbiology**, v.117, n.1, p.249-257, 2014.

LAHTI, E.; LOFDAHL, M.; AGREN, J.; HANSSON, I.; ENGVALL, E.O. Confirmation of a campylobacteriosis outbreak associated with chicken liver pâté using PFGE and WGS. **Zoonoses and Public Health**, v.64, p.14-20, 2017.

LÉVESQUE, S.; MICHAUD, S.; ARBEIT, R.D.; FROST, E.H. High-resolution melting system to perform multilocus sequence typing of *Campylobacter jejuni*. **Plos One**, v.6, n.1, p.1-9, 2011.

LIN, J.; MICHEL, L.O.; ZHANG, Q. CmeABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.46, p.2124-32, 2002.

LINTON, D.; LAWSON, A. J.; OWEN, R. J.; STANLEY, J. PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. **Journal of Clinical Microbiology**, v.35, n.10, p.2568-2572, 1997.

LINTON, D.; GILBERT, M.; HITCHEN, P.G.; DELL, A.; MORRIS, H.R.; WAKARCHUK, W.W.; GREGSON, N.A.; WREN, B.W. Phase variation of a β -1,3 galactosyltransferase involved in generation of the ganglioside GM1-like lipo-oligosaccharide of *Campylobacter jejuni*. **Molecular Microbiology**, v.37, p.501-514, 2000.

LIU, L.; LI, Y.; LI, S.; HU, N.; HE, Y.; PONG, R.; LIN, D.; LU, L.; LAW, M. Comparison of next-generation sequencing systems. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.2012, p. 1-11, 2012.

LLARENA, A.K.; HUNEAU, A.; HAKKINEN, M.; HÄNNINEN, M.L. Predominant *Campylobacter jejuni* sequence types persist in Finnish chicken production. **Plos One**, v.10, n.2, p.1-18, 2015.

LLARENA, A.K.; TABOADA, E.; ROSSI, M. Whole-genome sequencing in epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v.55, p.1269-1275, 2017.

LOMAN, N.J.; PALLEN, M.J. Twenty years of bacterial genome sequencing. **Nature Reviews Microbiology**, v.13, p.787-794, 2015.

MAIDEN, M.C.J.; BYGRAVES, J.A.; FEIL, E.; MORELLI, G.; RUSSELL, J.E.; URWIN, R.; ZHANG, Q.; ZHOU, J.; ZURTH, K.; CAUGANT, D.A.; FEATHERS, I.M.; ACHTMAN, M.; SPRATT, B.G. Multilocus sequence typing: A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.95, n.6, p.3140-3145, 1998.

MAN, S.M. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v.8, p.669-685, 2011.

MAROTTA, F.; GAROFOLO, G.; DI DONATO, G.; APREA, G.; PLATONE, I.; CIANCIavicchia, S.; ALESSIANI, A.; DI GIANNATALE, E. Population diversity of *Campylobacter jejuni* in poultry and its dynamic of contamination in chicken meat. **Biomed Research Interantional**, v.2015, p.1-10, 2015.

MEINERSMANN, R.J.; HELSEL, L.O.; FIELDS, P.I.; HIETT, K.L. Discrimination of *Campylobacter jejuni* isolates by *flaA* gene sequencing. **Journal of Clinical Microbiology**, v.35, n.11, p.2810-2814, 1997.

MELERO, B.; JUNTUNEN, P.; HÄNNINEN, M.L.; JAIME, I.; ROVIRA, J. Tracing *Campylobacter jejuni* strains along the poultry meat production chain from farm to retail by pulsed-field gel electrophoresis, and the antimicrobial resistance of isolates. **Food Microbiology**, n.32, p.124-128, 2012.

MELO, R.T.; NALEVAIKO, P.C.; MENDONÇA, E.P.; BORGES, L.W.; FONSECA, B.B.; BELETTI, M.E.; ROSSI, D.A. *Campylobacter jejuni* strains isolated from chicken meat harbour several virulence factors and represent a potential risk to humans. **Food Control**, v.33, p.227-231, 2013.

METZKER, M.L. Sequencing technologies - the next generation. **Nature Reviews Genetics**, v.11, p.31-46, 2010.

MONTEVILLE, M.R.; YOON, J.E.; KONKEL, M.E. Maximal adherence and invasion of INT 407 cells by *Campylobacter jejuni* requires the CadF outer-membrane protein and microfilament reorganization. **Microbiology**, v.149, p.153-165, 2003.

MOORE, J.E.; CORCORAN, D.; DOOLEY, J.S.G.; FANNING, S.; LUCEY, B.; MATSUDA, M.; MCDOWELL, D.A.; MÉGRAUD, F.; MILLAR, B.C.; O'MAHONY, R.; O'RIORDAN, L.; O'ROURKE, M.; RAO, J.R.; ROONEY, P.J.; SAILS, A.; WHYTE, P. *Campylobacter*. **Veterinary Research**, v.36, n.3, p.351-382, 2005.

MÜLLER, J.; SCHULZE, F.; MÜLLER, W.; HÄNEL, I. PCR detection of virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* strains with differential ability to invade Caco-2 cells and to colonize the chick gut. **Veterinary Microbiology**, n.113, p.123-129, 2006.

NELSON, J. M.; CHILLER, T. M.; POWERS, J. H.; ANGULO, F. J. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: A public health success story. **Clinical Infectious Diseases**, v.44, n.7, p.977-980, 2007.

OLIVE, D.M.; BEAN, P. Principles and applications of methods for DNA-Based typing of microbial organisms. **Journal of Clinical Microbiology**, n.6, p.1661-1669, 1999.

ON, S.L.W. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, p.1S-15S, 2001.

OPORTO, B.; JUSTE, R.A.; LÓPEZ-PORTOLÉZ, J.A.; HURTADO, A. Genetic diversity among *Campylobacter jejuni* isolates from healthy livestock and their links to humans isolates in Spain. **Zoonoses and Public Health**, v.58, n.5, p.365-375, 2011.

OHISHI, T.; AOKI, K.; ISHII, Y.; USUI, M.; TAMURA, Y.; KAWANISHI, M.; OHNISHI,

K.; TATEDA, K. Molecular epidemiological analysis of human and chicken derived isolates of *Campylobacter jejuni* in Japan using next-generation sequencing. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v.23, p.165-172, 2017.

PARKER, C.T.; MILLER, W.G.; HORN, S.T.; LASTOVICA, A.J. Common genomic features of *Campylobacter jejuni* subsp. *doylei* strains distinguish them from *C. jejuni* subsp. *jejuni*. **BMC Microbiology**, v.7, p.1471-1480, 2007.

PAYOT, S.; BOLLA, J.M.; CORCORAN, D.; FANNING, S.; MÉGRAUD, F.; ZHANG, Q. Mechanisms of fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter* spp. **Microbes and Infection**, v.8, n.7, p.1967-1971, 2006.

PEDONESE, F.; NUVOLONI, R.; TURCHI, B.; TORRACCA, B.; DI GIANNATALE, E.; MAROTTA, F.; CERRI, D. Prevalence, phenotypic and genetic diversity of *Campylobacter* in poultry fresh meat and poultry products on retail sale in Tuscany (Italy). **Veterinaria Italiana**, v.53, n.1, p.29-37, 2017.

POLY, F.; GUERRY, P. Pathogenesis of *Campylobacter*. **Current Opinion in Gastroenterology**, v.24, p.27-31, 2008.

PRICE, E.P.; SMITH, H.; HUYGENS, F.; GIFFARD, P.M. High-Resolution DNA melt curve analysis of the clustered, regularly interspaced short-palindromic-repeat locus of *Campylobacter jejuni*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.73, n.10, p.3431-3436, 2007.

PRICE, L.B.; LACKEY, L.G.; VAILES, R.; SILBERGELD, E. The persistence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* in poultry production. **Environmental Health Perspectives**, v.115, n.7, p.1035-1039, 2007.

POLLETT, S.; ROCHA, C.; ZERPA, R.; PATIÑO, L.; VALENCIA, A.; CAMIÑA, M.; GUEVARA, J.; LOPEZ, M.; CHUQUIRAY, N.; SALAZAR-LINDO, E.; CALAMPA, C.; CASAPIA, M.; MEZA, R.; BERNAL, M.; TILLEY, D.; GREGORY, M.; MAVES, R.; HALL, E.; JONES, F.; ARRIOLA, C.S.; ROSENBAUM, M.; PEREZ, J.; KASPER, M. *Campylobacter* antimicrobial resistance in Peru: a ten-year observational study. **BMC Infectious Diseases**, v.12, n.193, p.1-7, 2012.

QUETZ, J.D.; LIMA, I.F.; HAVT, A.; DE CARVALHO, E.B.; LIMA, N.L.; SOARES, A.M.; MOTA, R.M.; GUERRANT, R.L.; LIMA, A.A. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in children from communities in Northeastern Brazil: molecular detection and relation to nutritional status. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.67, n.3, p.220-227, 2010.

QUETZ, J.D.; LIMA, I.F; HAVT, A.; PRATA, M.M; CAVALCANTE, P.A.; MEDEIROS, P.H; CID, D.A.; MORAES, M.L; REY, L.C.; SOARES, A.M, MOTA, R.M.; WEIGL, B.H.; GUERRANT, R.L.; LIMA, A.A. *Campylobacter jejuni* infection and virulence-associated genes in children with moderate to severe diarrhoea admitted to emergency rooms in northeastern Brazil. **Journal of Medical Microbiology**, v.61, n.4, p.507-513, 2012.

RAGIMBEAU, C.; SCHENEIDER, F.; LOSCH, S.; EVEN, J.; MOSSONG, J. Multilocus sequence typing, pulsed-field gel electrophoresis, and *fla* short variable region typing of clonal complexes of *Campylobacter jejuni* strains of human, bovine, and poultry origins in Luxembourg. **Applied and Environmental Microbiology**, v.74, n.24, p.7715-7722, 2008.

REED, G.H.; KENT, J.O.; WITWERT, C.T. High-resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics. **Pharmacogenomics**, v.8, n.6, p.597-608, 2007.

REVEZ, J.; LLARENA, A.K.; SCHOTT, T.; KUUSI, M.; HAKKINEN, M.; KIVISTO, R.; HANNINEN, M.L.; ROSSI, M. Genome analysis of *Campylobacter jejuni* strains isolated from a waterborne outbreak. **BMC Genomics**, v.15, n.768, p.1-8, 2014.

RIBOT, E.M.; FITZGERALD, C.; KUBOTA, K.; SWAMINATHAN, B.; BARRETT, T.J. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Campylobacter jejuni*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, n.5, p.1889-1894, 2001.

RIVERA-AMILL, V.; KIM, B.J.; SESHU, J.; KONKEL, M.E. Secretion of the virulence-associated *Campylobacter* invasion antigens from *Campylobacter jejuni* requires a stimulatory signal. **Journal of Infectious Diseases**, v.183, n.11, p.1607-1616, 2001.

ROSSI, D.A.; FONSECA, B.B.; MELO, R.T.; FELIPE, G.S.; SILVA, P.L.; MENDONÇA, E.P.; FILGUEIRAS, A.L.L.; BELETTI, M.E. Transmission of *Campylobacter coli* in chicken embryos. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.2012, p.535-543, 2012.

ROBINSON, D.A. Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. **British Medical Journal**, v.282, p.1584, 1981.

RUSKOVA, L.; RACLAVSKY, V. The potential of high resolution melting analysis (HRMA) to streamline, facilitate and enrich routine diagnostics in medical microbiology. **Biomedical Papers-Olomouc**, v.155, n.3, p.239-252, 2011.

SAILS, A.D.; SWAMINATHAN, B.; FIELDS, P.A. Utility of multilocus sequence typing as an epidemiological tool for investigation of outbreaks of gastroenteritis caused by *Campylobacter jejuni*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, p.4733-4739, 2003.

SABAT, A.J.; BUDIMIR, A.; NASHEV, D.; SÁ-LEÃO, R.; VAN DIJL, J.M.; LAURENT, F.; GRUNDMANN, H.; FRIEDRICH, A.W. Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. **Euro Surveillance**, v.18, n.4, p.1-15, 2013.

SAM, W.I.C.; LYONS M.M.; WAGHORN, D.J. Increasing rates of ciprofloxacin resistant *Campylobacter*. **Journal of Clinical Pathology**, v.52, p.709-710, 1999.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D.W. Molecular cloning: a laboratory manual. 3rd ed., New York. **Cold Spring Harbor Laboratory Press**, 2001.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R.M.; HARAKAVA, R.; MIYASHIRO, S.; FERNANDES, F.M.C.; CAMPOS, F.R.; FRANCISCO, W.; GENOVEZ, M.E.; RICHTZENHAIN, L.J. Molecular subtyping of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* strains isolated from different animal species in the state of São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.36, n.4, p.378-382, 2005.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R.M.; HARAKAVA, R.; MIYASHIRO, S.; CAMPOS, F.R.; SOUZA, M.C.A.; CARDOSO, M.V.; TEIXEIRA, S.R.; GENOVEZ, M.E. Use of PCR-RFLP of the *flaA* gene for detection and subtyping of *Campylobacter jejuni* strains potentially related to Guillain-barré syndrome, isolated from humans and animals. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.40, n.4, p.952-959, 2009.

SCHOOLS, L.M.; REULEN, S.; DUIM, B.; WAGWNAAR, J.A.; WILLEMS, R.J.; DINGLE, K.E.; COLLES, F.M.; VAN EMBDEN, J.D. Comparative genotyping of *Campylobacter jejuni* by amplified fragment length polymorphism, multilocus sequence typing, and short repeat sequencing: strain diversity, host range, and recombination. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, n.1, p.15-56, 2003.

SCHWEITZER, N.; DÁN, A.; KASZANYITZKY, E.; SAMU, P.; TÓTH, A.G.; VARGA, J.; DAMJANOVA, I. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates of poultry, swine, and cattle origin collected from slaughterhouses in Hungary. **Journal of Food Protection**, v.74, n.6, p.905-911, 2011.

SEBASTIAN, S. A Case of Guillain-Barré Syndrome in a Primary Care Setting. **The Journal for Nurse Practitioners**, v.8, n.8, p.643-648, 2012.

SHEPPARD, S.K.; DALLAS, J.F.; MACRAE, M.; MCCARTHY, N.D.; SPROSTON, E.L.; GORMLEY, F.J.; STRACHAN, N.J.; OGDEN, I.D.; MAIDEN, M.C.; FORBES, K.J. *Campylobacter* genotypes from food animals, environmental sources and clinical disease in Scotland 2005/6. **International Journal of Food Microbiology**, v.34, n.1-2, p.96-103, 2009.

SIERRA-ARGUELLO, Y.M.; PERDONCINI, G.; MORGAN, R.B.; SALLE, C.T.P.; MORAES, H.L.S.; GOMES, M.J.P.; NASCIMENTO, V.P. Fluoroquinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* isolated from broiler slaughterhouses in southern Brazil. **Avian Pathology**, v.45, n.1, p.66-72, 2016.

SILVA, J.; LEITE, D.; FERNANDES, M.; MENA, C.; GIBBS, P.A.; TEIXEIRA, P. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. **Frontiers in Microbiology**, v.2, p.1-12, 2011.

SILVA, D.T.; TEJADA, T.S.; BLUM-MENEZES, D.; DIAS, P.A.; TIMM, C.D. *Campylobacter* species isolated from poultry and humans, and their analysis using PFGE in southern Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v.217, p.189-194, 2016.

SIMPSON, E.H. Measurement of diversity. **Nature**, v.163, n.4148, p.688-688, 1949.

SINGH, A.; GOERING, R. V.; SIMJEE, S.; FOLEY, S. L.; ZERVOS, M. J. Application of molecular techniques to the study of hospital infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v.19, n.3, p.512, 2006.

SKARP, C.P.A.; HANNINEN, M.L.; RAUTELIN, H.I.K. Campylobacteriosis: the role of poultry meat. **Clinical Microbiology Infectious**, v.22, p.103-109, 2016.

SNELLING, W.J.; MATSUDA, M.; MOORE, J.E.; DOOLEY, J.S.G. Under the microscope: *Campylobacter jejuni*. **Letters in Applied Microbiology**, v.41, p.297-302, 2005.

SOLOMON, E.B.; HOOVER, D.G. *Campylobacter jejuni*: a bacterial paradox. **Journal of Food Safety**, v.19, p.121-136, 1999.

SOREK, R.; KUNIN, V.; HUGENHOLTZ, P. CRISPR - a widespread system that provides acquired resistance against phages in bacteria and archaea. **Nature Reviews Microbiology**, v.6, n.3, p.181-186, 2008.

SOUZA, R.A.; FALCÃO, J.P. A novel high-resolution melting analysis-based method for *Yersinia pseudotuberculosis* genotyping. **Journal of Microbiology Methods**, v.91, n.3, p.329-335, 2012.

STUCKI, U.; FREY, J.; NICOLET, J.; BURNENS, A.P. Identification of *Campylobacter jejuni* on the basis of a species-specific gene that encodes a membrane-protein. **Journal of Clinical Microbiology**, v.33, n.4, p.855-859, 1995.

TAKAHASHI, M.; KOGA, M.; YOKOYAMA, K.; YUKI, N. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* isolated from patients with Guillain-Barre and Fisher syndromes in Japan. **Journal of Clinical Microbiology**, v.43, n.1, p.335-339, 2005.

TENOVER, F.C.; ARBEIT, R.D.; GOERING, R.V. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. **Infection control and Hospital Epidemiology**, v.18, n.6, p.7-20, 1997.

URWIN, R.; MAIDEN, M.C.J. Multi-locus sequence typing: a tool for global epidemiology. **Trends in Microbiology**, v.11, n.10, p.479-487, 2003.

VAN BELKUM, A.; STRUELLENS, M.; DE VISSER, A.; VERBRUGH, H.; TIBAYRENC, M. Role of genomic typing in taxonomy, evolutionary genetics, and microbial epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.3, p.547-560, 2001.

VAN DIJK, E.L.; AUGER, H.; JASZCZYSZYN, Y.; THERMES, C. Ten years of next-generation sequencing technology. **Trends in Genetics**, v.30, n.9, p.418-426, 2014.

VAN VLIET, A.H.M.; KETLEY, J.M. Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, p.45-56, 2001.

VANDAMME, P.; FALSEN, E.; ROSSAU, R.; HOSTE, B.; SEGERS, P.; TYTGAT, R.; DE LEY, J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy - emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen-nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 41, n.1, p.88-103, 1991.

VAZ, C.S.L.; VOSS-RECH, D.; POZZA, J.S.; COLDEBELLA, A.; SILVA, V.S. Isolation of *Campylobacter* from Brazilian broiler flocks using different culturing procedures. **Poultry Sciences**, v.93, p.2887-2892, 2014.

VÉRON, M.; CHATELAIN, R. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* Sebald and Véron and designation of the neotype strain for the type species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Véron. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.23, p.122-134, 1973.

WASSENAAR, T.M.; BLEUMINK-PLUYM, N.M.C.; VAN DER ZEIJST, B.A.M. Inactivation of *Campylobacter jejuni* flagellin genes by homologous recombination demonstrates that *flaA* but not *flaB* is required for invasion. **Embo Journal**, v.10, n.8, p.2055-2061, 1991.

WASSENAAR, T.M.; NEWELL, D.G. Genotyping of *Campylobacter* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, n.66, p.1-9, 2000.

WASSENAAR, T.M.; WAGENAAR, J.A.; RIGTER, A.; FEARNLEY, C.; NEWELL, D.G.; DUIM, B. Homonucleotide stretches in chromosomal DNA of *Campylobacter jejuni* display high frequency polymorphism as detected by direct PCR analysis. **FEMS Microbiology Letters**, v.212, p.77-85, 2002.

WASSENAAR, T.M.; FERNÁNDEZ-ASTORGA, A.; ALONSO, R.; MARTEINSSON, V.T.; MAGNÚSSON, S.H.; KRISTOFFERSEN, A.B.; HOFSHAGEN, M. Comparison of *Campylobacter fla*-SVR genotypes isolated from humans and poultry in three European regions. **Letters in Applied Microbiology**, v.49, n.3, p.388-395, 2009.

WIECZOREK, K.; OSEK, J. Identification of virulence genes in *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolates by PCR. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v.52, n.2, p.211-216, 2008.

WIECZOREK, K.; OSEK, J. Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. **BioMed Research International**, v.2013, p.1-12, 2013.

WIECZOREK, K.; DENIS, E.; LYNCH, O.; OSEK, J. Molecular characterization and antibiotic resistance profiling of *Campylobacter* isolated from cattle in Polish slaughterhouses. **Food Microbiology**, v.34, n.1, p.130-136, 2013.

YANG, W.; ZHANG, M.; ZHOU, J.; PANG, L.; WANG, G.; HOU, F. The molecular mechanisms of ciprofloxacin resistance in clinical *Campylobacter jejuni* and their genotyping characteristics in Beijing, China. **Foodborne Pathogens and Disease**, v.14, n.7, p.386-392, 2017.

YOUNG, K.T.; DAVIS, L.M.; DIRITA, V.J. *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**, v.5, n.9, p.665-679, 2007.

YUKI, N.; HARTUNG, H.P. Guillain-Barre Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v.366, n.24, p.2294-2304, 2012.

YUKI, N.; TAKAHASHI, M.; TAGAWA, Y.; KASHIWASE, K.; TADOKORO, K.; SAITO, K. Association of *Campylobacter jejuni* serotype with antiganglioside antibody in Guillain-Barre syndrome and Fisher's syndrome. **Annual Neurology**, v.42, p.28-33, 1997.

ZHAO, S.; TYSON, G.H.; CHEN, Y.; LI, C.; MUKHERJEE, S.; YOUNG, S.; LAM, C.; FOLSTER, J.P.; WHICHARD, J.M.; MCDERMOTT, P.F. Whole-genome sequencing

analysis accurately predicts antimicrobial resistance phenotypes in *Campylobacter* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v.82, n.2, p.459-466, 2016.

ZILBAUER, M.; DORRELL, N.; WREN, N.W.; BAJAJ-ELLIOTT, M. *Campylobacter jejuni* mediated disease pathogenesis: an update. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.102, p.123-129, 2008.

ZIPRIN, R.L.; YOUNG, C.R.; BYRD, J.A.; STANKER, L.H.; HUME, M.E.; GRAY, S.A. Role of *Campylobacter jejuni* potential virulence genes in cecal colonization. **Avian Diseases**, v.45, n.3, p.549-557, 2001.