UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Caracterização molecular de linhagens de *Campylobacter coli* isoladas de origens diversas

Carolina Nogueira Gomes

Ribeirão Preto
2015

RESUMO

Gomes, C. N. **Caracterização molecular de linhagens de *Campylobacter coli* isoladas de origens diversas.** 2015. 107f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Campylobacter spp., principalmente as espécies *C. coli* e *C. jejuni*, são a causa mais comum de doença bacteriana veiculada por alimentos na Europa, Estados Unidos e alguns outros locais do mundo. No Brasil, há uma escassez de estudos de *C. coli*, o que dificulta avaliar a dimensão do envolvimento dessa bactéria como causadora de doença nos seres humanos e em animais, bem como, determinar o impacto de sua presença em alimentos e no meio ambiente. O objetivo desse trabalho foi caracterizar molecularmente linhagens de *C. coli* isoladas de origens diversas no Brasil pela pesquisa da presença de genes relacionados à virulência por PCR, perfil de sensibilidade a antimicrobianos e pela análise da similaridade genotípica por métodos de tipagem molecular. Adicionalmente, o Índice de Discriminação (*D*) de tais metodologias foi verificado. Foram estudadas 63 linhagens de *C. coli*, isoladas de humanos (12), animais (21), alimentos (10) e ambiente (20), entre os anos de 1995 e 2011, nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais. Todas as linhagens apresentaram os genes *flaA*, *cadF* e *sodB*. O gene *cdtB* foi detectado em 20 (31,7%) linhagens, o gene *flhA* foi detectado em 11 (17,5%) linhagens, o gene *dnaJ* foi encontrado em 10 (15,9%) linhagens, o gene *pldA* foi detectado em sete (11,1%) linhagens, o gene *iamA* foi detectado em três (4,8%) linhagens, os genes *cdtC* e *docA* foram encontrados em duas (3,2%) linhagens, os genes *cdtA* e *crsA* foram encontrados em uma (1,6%) linhagem e os genes *ciaB*, *wlaN*, *virB11* e *racR* não foram detectados. Dentre as 63 linhagens estudadas, 42 foram susceptíveis a todos os antimicrobianos testados. Das 21 linhagens resistentes, 10 (15,9%) foram resistentes a tetraciclina e doxaciclina, seis (9,5%) foram resistentes a ciprofloxacina e uma (1,6 %) foi resistente a eritromicina. Somente quatro (6,3%) linhagens foram resistentes a pelo menos duas diferentes classes de antibióticos testados simultaneamente. O dendrograma de similaridade genética de *Pulsed field gel electrophoresis* (PFGE) agrupou as 63 linhagens estudadas em dois grupos principais denominados PFGE-A e PFGE-B com similaridade genômica de 44,9% entre eles. Entretanto, algumas linhagens isoladas de humanos, animais, ambiente e alimentos apresentaram uma alta similaridade genotípica acima de 80% entre elas e, foram agrupadas em sete subgrupos denominados PFGE-A1 a PFGE-A7. O dendrograma de similaridade genômica das sequências da SVR do gene *flaA* agrupou as linhagens

estudadas em dois grupos principais designados SVR-A e SVR-B, com similaridade acima de 83,1 % entre eles. Ademais, o depósito das sequências da SVR do gene *flaA* no banco de dados *online* demonstrou que os alelos 30 e o 1647 foram os mais frequentemente encontrados e permitiu a comparação das linhagens estudadas com os alelos descritos no banco de dados. Sete alelos, dentre os 22 encontrados, não haviam sido previamente descritos. A análise do *locus* CRISPR por HRMA dividiu as linhagens de *C. coli* em quatro diferentes perfis de *melting*. O *Multilocus sequence typing* (MLST) foi utilizado para tipar 20 linhagens de *C. coli* e foram obtidos 18 STs diferentes dos quais apenas dois já haviam sido previamente descritos. O *D* das metodologias de PFGE, sequenciamento da SVR do gene *flaA*, análise do *locus* CRISPR por HRMA e MLST foi de 0,986, 0,916, 0,550 e 0,989, respectivamente. Pode- se concluir que o potencial patogênico das linhagens de *C. coli* não foi evidenciado o que pode estar relacionado ao fato da maioria dos estudos envolvendo patogênese terem sido realizados para a espécie *C. jejuni*. Algumas linhagens apresentaram-se resistentes aos antimicrobianos testados, o que é preocupante uma vez que tais linhagens podem disseminar genes de resistência a outras isoladas de diversas fontes. Os resultados gerados pelos métodos de tipagem molecular por PFGE e sequenciamento da pequena região variável (SVR) do gene *flaA* demonstraram uma alta similaridade genotípica entre algumas linhagens de *C. coli*, sugerindo que uma possível contaminação tenha ocorrido entre linhagens isoladas de fontes clínicas e não clínicas ao longo de 16 anos no Brasil. Ademais, a análise dos alelos da SVR do gene *flaA* nos permitiu concluir que os alelos prevalentes nas linhagens estudadas diferem daqueles encontrados nos países Europeus. Os dados obtidos por MLST sugerem que as linhagens estudadas possuem uma grande diversidade genética entre si e em comparação com as linhagens isoladas em diferentes locais do mundo. Finalmente, as técnicas de MLST e PFGE foram as mais eficientes e adequadas na genotipagem das linhagens de *C. coli* estudadas.

Palavras-chave: *Campylobacter coli*, genes relacionados à virulência, perfil de sensibilidade a antimicrobianos, PFGE, SVR-*flaA*, Análise do *locus* CRISPR por HRMA e MLST.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1. História e taxonomia

As bactérias que atualmente pertencem ao gênero *Campylobacter* foram possivelmente descritas pela primeira vez em 1886 por Theodor Escherich, que publicou uma variedade de artigos descrevendo a presença de uma bactéria espiralada na biópsia do cólon de crianças que haviam morrido de uma doença denominada por ele de "cólera diarreica". Tempos depois, Escherich observou a presença de organismos espiralados nas fezes de crianças que apresentavam doença entérica (Butzler, 2004).

O reconhecimento desse patógeno como uma importante causa de doenças ocorreu primeiramente no ramo veterinário. Em 1909, dois cirurgiões veterinários, McFadyean e Stockman, reportaram a presença de microrganismos vibróides em fetos abortados de ovelhas. No ano de 1919, Smith e Taylor, propuseram o nome *Vibrio fetus* para os microrganismos isolados de casos de aborto em bovinos nos Estados Unidos (Smith, 1919; Butzler, 2004). Em 1931, Jones e colaboradores atribuíram a diarreia de bezerros à infecção por uma bactéria com características morfológicas similares às descritas acima e a denominaram *Vibrio jejuni*. Da mesma maneira, treze anos mais tarde Doyle denominou de *Vibrio coli* microrganismos vibróides associados a diarreia em suínos (Butzler, 2004).

O primeiro relato de infecções em humanos causada por bactérias do gênero, atualmente conhecido como *Campylobacter*, foi feito em Illinois em 1938. As infecções foram associadas ao consumo de leite cru por 355 pacientes e o microrganismo isolado da hemocultura desses pacientes foi denominado *Vibrio jejuni.* No ano de 1947, na França, Vicent e colaboradores isolaram *Vibrio fetus* da hemocultura de três mulheres grávidas que haviam sido internadas com sepse, duas delas abortaram e o exame da placenta revelou a presença de áreas de necrose e inflamação (Butzler, 2004).

O gênero *Campylobacter*, cuja palavra de origem grega significa bacilo curvo, foi inicialmente proposto por Sebald e Véron em 1963. Baseados na relação Citosina/Guanina do DNA o gênero *Vibrio* foi separado do gênero *Campylobacter* após verificarem que o teor de Guanina/Citosina das bactérias do gênero *Vibrio* oscilava em torno de 47% enquanto que no gênero *Campylobacter* essa variação era de 30 a 40% (Ketley, 1997). Em 1973, Véron e Chatelain publicaram um estudo mais detalhado envolvendo a taxonomia desses microrganismos e consideraram quatro espécies como pertencentes ao gênero *Campylobacter: Campylobacter fetus*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter sputorum* (Engberg, 2006).

O isolamento de *Campylobacter* a partir de fezes de pacientes com diarreia se tornou eficaz após 1973, quando Butzler e colaboradores propuseram um novo método de cultivo para essa bactéria. Quatro anos depois, Skirrow desenvolveu um suplemento seletivo contendo vancomicina, polimixina B e trimetropima, o que possibilitou o diagnóstico e isolamento de *Campylobacter* com a inibição da microbiota acompanhante. Objetivando facilitar o processo de isolamento, Blaser e colaboradores propuseram uma nova mistura de drogas contendo vancomicina, trimetropima, polimixina B, anfotericina B e cefalotina. Segundo os autores o número de isolamentos de *Campylobacter* utilizando esse suplemento foi semelhante ao isolamento de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. (Blaser *et al*., 1980).

Assim, a partir da década de 80, microrganismos similares a *Campylobacter* foram isolados de fontes ambientais, alimentos, animais e humanos. Estudos envolvendo os "*Campylobacter-like organisms* (CLO)" foram, gradativamente, identificando novas espécies de *Campylobacter* ou variantes bioquímicas das espécies pré-estabelecidas. Comparações utilizando uma porção do 16S rRNA identificaram clades distintas dentro do gênero e novos gêneros. Dessa maneira, várias espécies do grupo CLO foram transferidas, como por exemplo o *C. pylori* que passou a pertencer ao gênero *Helicobacter*, e ocorreu a criação do gênero *Arcobacter* (Goodwin *et al.*, 1989; On, 2001; Engberg, 2006). Em 1991, Vandamme e colaboradores propuseram uma revisão completa da taxonomia e nomenclatura do gênero *Campylobacter* a partir da análise dos dados de hibridização DNA-rRNA e análise de dados fenotípicos e genéticos (Vandamme *et al.*, 1991). Estes microrganismos ficaram agrupados na superfamília rRNA VI que compreende os grupos homólogos I, II e III representados pelos gêneros *Campylobacter*, *Arcobacter* e *Helicobacter*, respectivamente. Devido à estreita relação filogenética e similares características fenotípicas e genotípicas entre os grupos I e II foi proposto a criação e inclusão de ambos na família *Campylobacteraceae* (Engberg, 2006).

Atualmente o gênero *Campylobacter* é composto por 26 espécies denominadas: *Campylobacter avium*; *Campylobacter canadensis*; *Campylobacter coli*; *Campylobacter concisus*; *Campylobacter cuniculorum*; *Campylobacter curvus*; *Campylobacter fetus* (*Campylobacter fetus* subsp *fetus*, *Campylobacter fetus* subsp *venerealis*, *Campylobacter fetus* subsp *testudium*); *Campylobacter gracilis*; *Campylobacter helveticus*; *Campylobacter hominis*; *Campylobacter hyointestinalis* (*Campylobacter hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *Campylobacter hyointestinalis* subsp. *lawsonii*); *Campylobacter insulaenigrae*; *Campylobacter jejuni* (*Campylobacter jejuni* subsp. *doylei*, *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni*); *Campylobacter lanienae*; *Campylobacter lari (Campylobacter lari* subsp *concheus*); *Campylobacter mucosalis*; *Campylobacter peloridis*; *Campylobacter rectus*;

Campylobacter showae; *Campylobacter sputorum* (*Campylobacter sputorum* bv *sporutum*, *Campylobacter sputorum* bv *faecalis*, *Campylobacter sputorum* bv *paraureolyticus*); *Campylobacter subantarcticus*; *Campylobacter upsaliensis*; *Campylobacter ureolyticus*; *Campylobacter corcagiensis; Campylobacter volucris* e *Campylobacter iguaniorum* (Fitzgerald, 2015).

Vale ressaltar, que as espécies *C. coli* e *C. jejuni* são os patógenos mais frequentemente relatados em casos de gastrenterite bacteriana aguda em humanos (Merchant-Patel *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2011; EFSA, 2015; CDC, 2015).

1.2. Características do microrganismo

O gênero *Campylobacter* compreende microrganismos gram-negativos de morfologia diversificada, apresentando-se, usualmente, na forma espiral ou curva, possuem de 0,2 a 5,0 µm de diâmetro por 0,5 a 5,0 µm de comprimento, não produzem esporos e são móveis devido à presença de um único flagelo polar em uma ou em ambas as extremidades, com exceção da espécie *C. gracilis* que não possui flagelo e da espécie *C. showae* que possui múltiplos flagelos (Silva *et al.*, 2011).

São microrganismos fastidiosos, e requerem condições específicas para o seu crescimento sendo nutricionalmente exigentes e incapazes de se proliferar na presença de ar atmosférico. A maioria das espécies crescem sob condições de microaerofilia com metabolismo respiratório complexo, necessitando de uma atmosfera que contenha baixas concentrações de oxigênio e maiores concentrações de hidrogênio e de dióxido de carbono (Gunther; Chen, 2009; John *et al.*, 2011).

A concentração de oxigênio ideal para a multiplicação de *Campylobacter* spp. é de 5%, sendo que em concentrações inferiores a 3% ou superiores a 15% sua multiplicação é inibida. Ademais, as espécies desse gênero são capnofílicas, ou seja, requerem cerca de 10% de CO_2 para a sua multiplicação (Garenaux *et al.*, 2008; John *et al.*, 2011).

As espécies de *Campylobacter* se desenvolvem em temperaturas que variam de 25ºC a 42ºC, entretanto, as espécies *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* e *C. upsaliensis* são classificadas como termotolerantes por apresentarem temperatura ótima de multiplicação em torno de 42ºC, sendo incapazes de se multiplicar em temperaturas inferiores a 37ºC (Fitzgerald, 2015).

O crescimento de *Campylobacter* spp. não ocorre em ambientes com atividade de água (a_w) menor do que 0,987, são microrganismos sensíveis a concentrações de NaCl maiores do que 2%, não são termo resistentes, sendo facilmente destruídos pelo processo de

pasteurização e o pH ótimo para a multiplicação das bactérias desse gênero varia entre 6,5 e 7,5. Em culturas antigas, ou sob condições adversas de cultivo, as células de *Campylobacter* spp. podem adquirir formas esféricas ou cocóides que são denominadas formas viáveis, porém não cultiváveis (VNC) e representam um estágio degenerativo do seu ciclo de vida, no entanto, não ocorre a perda da capacidade infectante (Nachamkin, 2007). A transição da morfologia celular vibróide para a forma cocóide ocorre na fase estacionária do crescimento e, durante esse processo, não são detectáveis por metodologias convencionais de diagnóstico (Butzler, 2004; Garenaux *et al.*, 2008).

Campylobacter spp. apresenta metabolismo oxidativo e não utiliza carboidratos como fonte de energia. A obtenção de energia ocorre através da oxidação de aminoácidos ou ácidos intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico. São produtores de oxidase, catalase, reduzem nitrato a nitrito, mas não hidrolisam ureia, gelatina, caseína, amido ou tirosina (Holt *et al*., 2000). São sensíveis ao oxigênio e a espécies reativas de oxigênio, dessa maneira a utilização de meios seletivos para os processos de isolamento e cultivo, contendo um ou mais redutores de oxigênio, tais como sangue, sulfato ferroso, piruvato de sódio, FBP [(0.05% de sulfato ferroso, 0.05% de piruvato de sódio, 0.05% de metabissulfito de sódio) diluído em água estéril], se faz necessário (Corry *et al.*, 1995; John *et al.*, 2011). Algumas das características citadas acima são utilizadas para a confirmação do gênero *Campylobacter* spp. e diferenciação das espécies (Tabela 1).

No entanto, devido ao fato desses microrganismos serem fastidiosos, complexos e bioquimicamente inertes, uma variedade de métodos fenotípicos e genotípicos tem sido utilizados no processo de identificação de membros desse grupo (Fitzgerald; Nachamkin, 2007).

Os membros desse gênero estão amplamente distribuídos na natureza e têm sido isolados de humanos, mamíferos, aves, répteis, moluscos e protozoários (Fitzgerald; Nachamkin, 2007). Estima-se que o manuseio, preparação e consumo de carne de frango seja responsável por 20-30% dos casos de infecção por *Campylobacter* em humanos, enquanto que 50-80% dos reservatórios desse patógeno são atribuídos as aves de maneira geral (EFSA, 2010).

Tabela 1. Propriedades fenotípicas de algumas espécies de *Campylobacter*.

Testes	Espécies					
	C.coli	*C.jejuni*	*C.fetus*	*C.lari*	*C.upsaliensis*	*C.hyointestinalis*
Oxidase	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	-	+
H_2S (TSI)	V	-	-	-	-	+
Redução de NO_3	+	+	+	+	+	+
Hidrolise do Hipurato	-	+	-	-	-	-
Hidrolise do Acetato de Hidroxila	+	+	-	-	+	-
Crescimento a:						
25ºC	-	-	+	-	-	V
37ºC	+	+	+	+	+	+
42°C	+	+	-	+	+	V
1% de Glicina	+	+	+	V	+	V
Sensibilidade a:						
Ácido Nalidixico	S	S	V	R	S	R
Cefalotina	R	R	S	R	S	S

Modificado de Murray *et al*., editores: *Manual of Clinical Microbiology*, 2007, *American Society for Microbiology*. +, reação positiva; -, reação negativa; V, reação variável; S, sensível; R, resistente

1.3. Manifestações clínicas e patogênese

A doença causada por *Campylobacter coli* é denominada campilobacteriose e a contaminação por este agente enteropatogênico está associada à ingestão de alimentos, tais como carne de aves, suínos e bovinos, leite não pasteurizado, água e através do contato com animais portadores, incluindo animais de estimação (Moore *et al.*, 2005; Gras *et al.*, 2013).

A campilobacteriose varia tanto em gravidade quanto em duração, apresentando diferentes manifestações clínicas e sendo clinicamente indistinguível das infecções causadas por outros enteropatógenos, como *Salmonella*, *Shigella* e algumas espécies de *Yersinia*, porém a baixa dose infectante de *Campylobacter*, cerca de 500 UFC/mL, pode ser considerada um agravante (Allos, 2001).

Os surtos relacionados à infecção por *Campylobacter* são raros, porém bem documentados, a maioria dos casos são esporádicos para os quais o percurso da infecção é raramente estabelecido (Magnusson *et al.*, 2011). A infecção é caracterizada por uma diarreia autolimitada, que pode apresentar-se sanguinolenta ou não, acompanhada de febre, dores abdominais e raramente de vômitos, dor de cabeça e dor muscular. O período de incubação é normalmente de 2 a 5 dias, podendo se estender por até 2 semanas (Butzler, 2004; Young *et*

al., 2007). Em casos mais graves, onde a reposição hidroeletrolítica não se faz suficiente, o uso de antimicrobianos é recomendado (Snelling *et al.*, 2005; Pollett *et al.*, 2012).

Embora a campilobacteriose seja geralmente considerada benigna (Crushell *et al.*, 2004), complicações pós infecção e manifestações extra intestinais podem ser graves e as vezes fatal. Existem relatos de bacteremia, sepse, meningite, artrite reativa, endocardite, aborto, periodontite, celulite e abcessos em locais variados associados a infecção por espécies de *Campylobacter* posteriormente a infeção intestinal (Blaser *et al.*, 1986; Selander, 1993; Butzler, 2004; Man, 2011). As sequelas mais relevantes incluem a síndrome de Guillan-Barré, síndrome de Miller-Fisher, síndrome de Reyter´s e a síndrome Hemolítico-urêmica (Gillespie *et al.*, 2002).

A síndrome de Guillan-Barré é a manifestação mais grave da doença e caracteriza-se por uma reação inflamatória autoimune com perda da bainha de mielina dos nervos periféricos e das raízes nervosas resultando em paralisia neuromuscular aguda (Nachamkin, 2002; Shane; Stern, 2003). O desenvolvimento desta síndrome 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 *Campylobacter*, 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 (Takahashi *et al.*, 2005).

Em alguns casos, a infecção por *Campylobacter* pode desencadear a síndrome de Miller-Fisher, que se caracteriza por perda dos reflexos oculomotores e relativa perda da força nas extremidades e tronco. O processo é mediado por anticorpos autoimune contra a bainha de mielina do sistema nervoso periférico (Overell; Willison, 2005).

Embora saibamos que os mecanismos que envolvem a patogênese de *Campylobacter* spp. estão relacionados aos processos de adesão e invasão ao epitélio intestinal, a elucidação desse processo como um todo não está completa e muito do que se sabe está relacionado, especificamente à espécie *C. jejuni*. Entretanto, foram propostos alguns possíveis mecanismos de patogênese para as espécies consideradas emergentes como é o caso de *Campylobacter coli*.

Após a ingestão, *C. coli* migra através do estômago e atinge o lúmen intestinal. As bactérias desse gênero possuem flagelo que confere a elas a capacidade de mover-se através

da camada de muco que reveste o epitélio intestinal aderindo-se a essas células e posteriormente invadindo-as. Existem evidências que sugerem que estas bactérias podem translocar-se através do epitélio intestinal tanto por via transcelular como por via paracelular (Man, 2011).

Ao atingirem a camada submucosa essas bactérias resistem a fagocitose devido à presença de uma camada protetora envolvendo a bactéria e de um *serum-killing* que, possivelmente, atua inibindo a deposição do sistema complemento sobre a membrana bacteriana durante a fase sistêmica da infecção (Blaser *et al.*, 1987; Pei *et al.*, 1988; Blaser, 1993). Além disso, proteínas efetoras podem ser entregues às células epiteliais do hospedeiro através de um sistema de secreção do tipo IV (T4SS) (Batchelor *et al.*, 2004; Moolhuijzen *et al.*, 2009).

O processo de patogênese também envolve a produção de toxinas, incluindo a toxina distensora citoletal (CDT). A ligação desta toxina à superfície da célula hospedeira é mediada pelas proteínas CdtA e CdtC seguida da entrega de CdtB ao núcleo celular do hospedeiro (Pickett *et al.*, 1996; Fouts *et al.*, 2005; Asakura *et al.*, 2008). Dessa maneira, a bactéria causa danos ao DNA da célula hospedeira e promove a interrupção do ciclo celular. Outras toxinas, como por exemplo a hemolisina, também podem ser produzidas durante o processo de bacteremia promovendo a lise dos eritrócitos (Man, 2011).

1.4. Genes relacionados à virulência

O mecanismo pelo qual o *Campylobacter* spp. causa doença em humanos ainda não está totalmente esclarecido. No entanto, alguns fatores são reconhecidos como importantes no que se refere à virulência desse gênero e estão associados tanto a genes plasmidiais, contidos no plasmídeo pVir, quanto a genes cromossômicos. Esses fatores incluem: motilidade, quimiotaxia, capacidade de colonização, adesão as células intestinais, invasão e translocação epitelial, sobrevivência intracelular e produção de toxinas (Ketley, 1997; Muller *et al.*, 2006; Wieczorek; Osek, 2008; Fernandes *et al.*, 2010).

O flagelo confere ao microrganismo a mobilidade que o torna capaz de se mover contra o peristaltismo e através da camada viscosa de muco do trato gastrointestinal (Park, 2002; Zilbauer *et al.*, 2005). Diversos experimentos envolvendo mutações flagelares demonstraram sua importância nos processos de aderência e invasão (Young *et al.*, 2007). O flagelo de *Campylobacter* spp. sofre modificação pós-traducional por glicosilação, o que é importante para a montagem da maquinaria flagelar, motilidade e virulência (Logan *et al.*,

1989; Guerry *et al.*, 2006). Ademais, o flagelo pode exportar tanto proteínas flagelares como não flagelares desempenhando um importante papel no processo de secreção (Song *et al.*, 2004; Konkel *et al.*,2004). Assim, genes que codificam proteínas flagelares, como por exemplo os genes *flaA* e *flhA*, dentre outros, são frequentemente utilizados como alvo para a caracterização de isolados de *Campylobacter* spp. e investigação da virulência (Ketley, 1997; Meinersmann *et al.*, 1997).

A identificação de adesinas em *Campylobacter* spp. tem sido um grande desafio. Embora as estruturas que estão normalmente envolvidas com o processo de adesão não tenham sido identificadas, muitas outras moléculas são capazes de desempenhar o papel de uma adesina, como por exemplo, as proteínas codificadas pelos genes *cadF*, *docA*, *racR* e *dnaJ* (Muller *et al.*, 2006; Biswas *et al.*, 2011). Estudos utilizando mutantes demonstraram que a ausência das proteínas codificadas por esses genes reduziu a capacidade de colonização dessas bactérias (Konkel *et al.*, 1999; Ziprin *et al.*, 1999; Muller *et al.*, 2006).

De acordo com Linton *et al.* (2000a) o gene *wlaN* codifica a produção da β-1,3 galactosyltransferase que é responsável por estruturas específicas do Lipooligosacarideo (LOS) consideradas críticas para o desenvolvimento de neuropatias após a infecção por *Campylobacter* (Linton *et al.*, 2000) e, assim como os genes *pldA*, *ciaB* e *iam*, está relacionado ao processo de invasão e sobrevivência na célula hospedeira (Bang *et al.*, 2003; Datta *et al.*, 2003; Fernandes *et al.*, 2010; Wieczorek *et al.*, 2013).

O gene *virB11* codifica proteínas do sistema de secreção do tipo IV (T4SS), que é uma maquinaria pela qual a bactéria introduz proteínas efetoras ou DNA em células de hospedeiros eucarióticos ou em outra bactéria, e a sua presença também está relacionada ao processo de invasão. Vale ressaltar que esse gene é o único, dentre os citados, localizado no plasmídeo pVir (Bacon *et al.*, 2000; Wieczorek; Osek, 2008).

As toxinas produzidas por *Campylobacter* também são importantes fatores de patogenicidade. Entretanto, há relativamente pouco conhecimento a respeito dessas estruturas. Sabe-se que a toxina distensora citoletal (CDT) é formada por três subunidades codificadas pelos genes *cdtA*, *cdtB* e *cdtC*, mas sua função específica não está totalmente elucidada. Acredita-se que haja o envolvimento de CDT no processo de diarreia causando alterações na cripta epitelial, o que leva à uma erosão temporária e subsequente perda na função de absorção (Ziprin *et al.*, 1999; van Vliet; Ketley, 2001; Wieczorek; Osek, 2008). Outra toxina descrita para algumas espécies de *Campylobacter* é a hemolisina, que possui a capacidade de promover a lise dos eritrócitos (Man, 2011).

As razões pelas quais as espécies de *Campylobacter* necessitam de uma atmosfera gasosa específica não está completamente elucidada. No entanto, é sabido que essa espécie é particularmente sensível a espécies reativas de oxigênio. Dessa maneira, a presença do gene *sodB*, que codifica a enzima superóxido desmutase, é importante no que se refere a proteção quanto a situações adversas, bem como a presença da proteína regulatória CsrA codificada pelo gene *crsA* (Purdy *et al.*, 1999; Biswas *et al.*, 2011; John *et al.*, 2011).

1.5. Tratamento e susceptibilidade a antimicrobianos

A resistência a antibióticos em bactérias do gênero *Campylobacter* é reconhecida pelo Organização Mundial de Saúde (OMS) como um importante problema em saúde pública (Greig, 2003; McDermott *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2011).

O uso de antibióticos não é usualmente indicado para o tratamento de casos de gastroenterite causados por *Campylobacter coli*. Entretanto, existe uma variedade de infecções sistêmicas e crônicas que estão associadas a infecção por *C. coli* para as quais existe a necessidade do uso de antimicrobianos e nesses casos, os antibióticos de escolha para o tratamento da campilobacteriose são macrolídeos, tetraciclina e fluoroquinolonas (Silva *et al.*, 2011; Duarte *et al.*, 2014). No entanto, o aumento da resistência a esses antibióticos tem comprometido a eficácia dos tratamentos (Aarestrup; Engberg, 2001; Engberg *et al.*, 2001; Gibreel; Taylor, 2006; Alfredson; Korolik, 2007). Alternativamente, o uso da gentamicina vem sendo feito em casos de infecções sistêmicas por linhagens de *Campylobacter coli* multirresistentes (Aarestrup; Engberg, 2001; Silva *et al.*, 2011).

Estudos comparando a evolução dos padrões de resistência a antibióticos das espécies de *Campylobacter* demonstraram um rápido desenvolvimento de resistência tanto em linhagens de origem clínica como em isolados de alimentos (Lucey *et al.*, 2002; Gallay *et al.*, 2007; Mazi *et al.*, 2008; Duarte *et al.*, 2014; Khalid *et al.*, 2015). Existem evidências de que o uso indiscriminado de antibióticos na produção animal ao longo de décadas, a fim de controlar, prevenir e tratar infecções, além de estimular o crescimento dos animais tenha contribuído para o surgimento e propagação da resistência a antibióticos entre as espécies de *Campylobacter* (Rozynek *et al.*, 2007; Igimi *et al.*, 2008).

A aprovação e utilização de fluoroquinolonas em frangos de corte na Europa e nos Estados Unidos foi acompanhada de um aumento significativo da resistência de *Campylobacter* spp. a essa classe de antibióticos tanto em linhagens isoladas de animais como em isoladas de humanos (Smith; Fratamico, 2010). Segundo Luangtongkum *et al.* (2006),

linhagens de *Campylobacter* isoladas a partir de frangos orgânicos, onde o uso de antibióticos não é permitido, são significativamente mais sensíveis aos antibióticos do que linhagens isoladas de frangos de corte criados em granjas convencionais.

Estudos realizados por Gallay *et al*. (2007) e de Han *et al*. (2009) demonstraram que a utilização de uma política de regulação limitando o uso de antibióticos em animais para consumo resultou em uma redução da resistência a fluoroquinolonas. No entanto, outros estudos sugerem que a resistência pode persistir por longos períodos de tempo (Nelson *et al.*, 2007; Price *et al.*, 2007).

Vale ressaltar que, por razões ainda não esclarecidas, a espécie *C. coli* é comumente mais resistente a múltiplos antibióticos do que os isolados de *C. jejuni* (D'Lima *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2011).

1.6. Métodos de tipagem de *Campylobacter*

A caracterização de isolados patogênicos desempenha um papel fundamental na epidemiologia de doenças infecciosas, gerando as informações necessárias para a identificação, rastreamento e intervenção em surtos de doenças (Urwin; Maiden, 2003). A habilidade de metodologias em discriminar linhagens de uma mesma espécie tem aumentado e com isso tem crescido a compreensão a respeito da transmissão, patogênese e filogenia de muitas espécies bacterianas (Foxman *et al.*, 2005).

Os métodos tradicionais de tipagem bacteriana são baseados em características fenotípicas, como sorotipo, biotipo, fagotipo e susceptibilidade a antimicrobianos, entre outros. Entretanto, tais métodos de tipagem são, muitas vezes, limitados por sua baixa capacidade de diferenciação entre linhagens de uma determinada espécie e também por sua baixa reprodutibilidade (Olive; Bean, 1999). Dessa maneira, métodos genotípicos têm sido cada vez mais utilizados na identificação, caracterização e estudos epidemiológicos e taxonômicos bacterianos complementando os métodos convencionais baseados em características fenotípicas e auxiliando na compreensão da estrutura genômica de diferentes patógenos (Cooper; Feil, 2004).

O sucesso da implementação de um método de tipagem molecular depende do seu poder discriminatório, que mede a capacidade de um método em atribuir um padrão molecular específico para um isolado, a proporção de linhagens distintas designadas por um método e a reprodutibilidade do método (Hunter, 1990; Maslow *et al.*, 1993). A concordância epidemiológica, ou seja, a similaridade entre o agrupamento de determinadas linhagens por

um determinado método, as informações epidemiológicas disponíveis para essas linhagens, e a possibilidade de automação para que se tenha um elevado rendimento também são considerações importantes (van Belkum *et al.*, 2007)

Vários métodos de tipagem molecular, tais como *pulsed field gel electrophoresis* (PFGE), sequenciamento da pequena região variável *(short variable region, SVR)* do gene *flaA*, *clustered, regularly interspaced short palindromic repeats* (CRISPR), *high resolution melting analysis* (HRMA), *multilocus sequence typing* (MLST) entre outros, têm sido utilizados nos estudos epidemiológicos e na caracterização da diversidade genotípica de bactérias do gênero *Campylobacter* (Price *et al.*, 2007; Aquino *et al.*, 2010; Ahmed *et al.*, 2012; Wieczorek *et al.*, 2013).

1.6.1. *Pulsed field gel electrophoresis* (PFGE)

A técnica de PFGE foi descrita pela primeira vez em 1984 por Schwartz e Cantor como uma ferramenta para estudar o DNA cromossômico de organismos eucariotos. É considerada a técnica de escolha para a tipagem de patógenos causadores de doenças de origem alimentar em investigações epidemiológicas. E tem se mostrado um método de genotipagem altamente eficaz (Tenover *et al.*, 1997) e com um bom poder discriminatório sendo utilizado com sucesso em estudos epidemiológicos de vários patógenos, dentre eles, o *Campylobacter coli* (Fitzgerald *et al.*, 2001; Ribot *et al.*, 2001; Karenlampi *et al.*, 2007; Ragimbeau *et al.*, 2008; Behringer *et al.*, 2011; Melero *et al.*, 2012; Wieczorek *et al.*, 2013).

Esta técnica baseia-se na construção de *plugs* de agarose a partir de uma suspensão bacteriana. Posteriormente, a bactéria inteira que se encontra embebida no *plug* é lisada através do 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. De maneira geral, todos esses fragmentos podem ser separados em um padrão de bandas distintas por PFGE quando submetidos a uma corrente elétrica em diferentes ângulos pré-determinados por curtos períodos de tempo (pulsos). Nessa técnica a corrente elétrica é aplicada, primeiramente, em uma direção a partir de um conjunto de eletrodos, em seguida, a corrente migra para um segundo conjunto de eletrodos por um curto período de tempo e então, migra para um terceiro conjunto de eletrodos. Assim, o DNA migra de forma serpentiforme através do gel e os fragmentos gerados pela digestão da enzima são separados com eficiência (Tenover *et al.*, 1997).

A análise do padrão de bandas das diferentes linhagens é realizado por *softwares* especializados que comparam as linhagens estabelecendo a similaridade genômica entre elas (Singh *et al.*, 2006).

Assim, o PFGE é uma das técnicas de tipagem molecular que possui um grande poder discriminatório e vem sendo aplicada com sucesso na tipagem de uma quantidade numerosa de espécies bacterianas, incluindo linhagens de *Campylobacter coli* e *Campylobacter jejuni*, isoladas no Brasil e em outros locais do mundo (Tenover *et al.*, 1997; Ribot *et al.*, 2001; Denis *et al.*,2008; Goering, 2010; O'Leary *et al.*,2011; Abley *et al.*, 2012; Wieczorek *et al.*, 2013).

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

O sequenciamento de genes específicos tem se mostrado altamente eficiente no estudo da variabilidade genética das espécies bacterianas. No que se refere ao gênero *Campylobacter*, o sequenciamento da pequena região variável (*short variable region*, SVR) do gene *flaA* é comumente utilizado para tipagem de linhagens isoladas de diversas origens e vários estudos mostram que esta metodologia vem sendo utilizada com sucesso para tal finalidade (Meinersmann *et al.*, 1997; Ragimbeau *et al.*, 2008; Schweitzer *et al.*, 2011; Giacomelli *et al.*, 2012).

O flagelo das espécies de *Campylobacter* tem sido considerado um importante fator de virulência devido ao alto poder imunogênico da proteína flagelina e por desempenhar um importante papel na secreção de fatores de virulência (Konkel *et al.*, 2004). O *locus* do gene que codifica a flagelina é composto por dois genes, *flaA* e *flaB*, os quais estão dispostos em *tandem* dentro do genoma de *Campylobacter* e suas sequências são 95% homólogas. Ambos os genes possuem aproximadamente 1730 pb e estão separados por uma região intergênica de aproximadamente 200 pb altamente variável (Nuijten *et al.*, 1990; Wassenaar; Newell, 2000). Enquanto a expressão do gene *flaA* parece ser extremamente importante para o processo de colonização, mutações no gene *flaB* refletem em uma pequena diferença nos processos de motilidade e colonização (Wassenaar *et al.*, 1991; Guerry, 2007). Dessa maneira, o sequenciamento da *SVR* do gene *flaA* tem sido descrito como uma metodologia simples e altamente reprodutível, sendo amplamente utilizada em estudos de caracterização molecular de espécies de *Campylobacter* (Meinersmann *et al.*, 1997). Ademais, a utilização dessa técnica torna possível a comparação das linhagens estudadas com outras linhagens isoladas no

mundo todo, através dos genótipos presentes no banco de dados disponível *online*: http://pubmlst.org/campylobacter/flaA/.

Torna-se importante salientar que, até o momento não existem estudos publicados, realizados no Brasil, que utilizaram essa metodologia para comparar linhagens isoladas de diferentes fontes e ao longo de vários anos.

1.6.3. Análise do *locus* CRISPR por HRMA

A análise da hipervariação do *locus* CRISPR (*clustered, regularly interspaced short palindromic repeats*) de *Campylobacter* spp. através da técnica de HRMA *(high resolution melting analysis*) foi uma metodologia recentemente desenvolvida por Price e colaboradores (2007). O sistema CRISPR é formado por sequências repetidas contendo de 23 a 47 pb separadas por espaçadores de tamanho similar. Os espaçadores são porções de ácidos nucleicos não pertencentes à célula bacteriana, como por exemplo, DNA de fagos ou até mesmo de plasmídeos. Tais elementos podem proteger a bactéria contra elementos genéticos móveis, em particular os bacteriófagos, plasmídeos e transposons (Sorek *et al.*, 2008; Garneau *et al.*, 2010; Bikard *et al.*, 2012). Devido ao alto polimorfismo característico das sequências CRISPRs, as mesmas vêm sendo utilizadas com sucesso para subtipar linhagens de *Mycobacterium tuberculosis* (Groenen *et al.*, 1993), *Yersinia pestis* (Pourcel *et al.*, 2005), *Salmonella enterica* de diversas sorovariedades (Wehnes *et al.*, 2014), *Campylobacter jejuni* (Schouls *et al.*, 2003; Kovanen *et al.*, 2014), entre outros.

O HRMA consiste em uma técnica pós-reação de polimerase em cadeia (PCR), que detecta a variação da sequência de nucleotídeos no *locus* específico através da análise dos perfis das temperaturas de *melting* (Levesque *et al.*, 2011). É considerado o método mais simples para genotipagem e determinação de mutações, pois não são necessárias separações ou processamento de amostras posteriormente a PCR. Após a amplificação por PCR, as curvas de *melting* são geradas por monitoramento da fluorescência de um corante (*dye*) intercalante de dupla-fita de DNA que não inibe a PCR quando usado em uma alta concentração garantindo, dessa maneira, uma completa intercalação aos *amplicons* gerados (Reed *et al.*, 2007; Hofinger *et al.*, 2009). O *dye* possui alta fluorescência quando ligado às moléculas de DNA e baixa fluorescência quando não ligado. A amplificação é seguida pela etapa de desnaturação térmica do produto da PCR. Nesse momento, as moléculas do agente intercalante de DNA são liberadas levando a mudanças na fluorescência. O resultado é um perfil de *melting* característico de cada *amplicon* (Ruskova; Raclavsky, 2011).

Assim, a análise do *locus* CRISPR por HRMA pode ter um alto poder discriminatório entre as linhagens, uma vez que as sequências CRISPRs são altamente variáveis (Price *et al.*, 2007; Merchant-Patel *et al.*, 2010). Ademais, a eficiência de tal metodologia foi utilizada com sucesso na tipagem de *Campylobacter jejuni* (Price *et al.*, 2007). Entretanto, a adequação da metodologia para a tipagem de *Campylobacter coli* ainda não foi avaliada.

1.6.4. *Multilocus sequence typing* (MLST)

A metodologia do MLST foi proposta por Maiden e colaboradores como uma metodologia capaz de superar os problemas de reprodutibilidade inter-laboratoriais e a grande dificuldade de se analisar as relações genéticas entre isolados de diferentes locais do mundo em laboratórios distintos (Maiden *et al.*, 1998).

Essa metodologia baseia-se no sequenciamento de alguns genes essenciais ou de manutenção, denominados genes *housekeeping*. Após o sequenciamento, as sequências são depositadas em um banco de dados *online* sendo cada sequência correspondente a um alelo. Sequências distintas são caracterizadas como diferentes alelos e recebem, arbitrariamente, um número de identificação. O conjunto de alelos de cada amostra bacteriana dá origem ao *sequence typing* (ST) que é utilizado em análises filogenéticas, populacionais e evolucionárias (Maiden *et al.*, 1998; Urwin; Maiden, 2003).

O MLST possui a vantagem de ser altamente reprodutível além do fato de que seus resultados podem ser disponibilizados em bancos de dados *online*, o que possibilita a análise comparativa da diversidade genética de bactérias isoladas em diferentes regiões do mundo (Maiden *et al.*, 1998).

Para as espécies de *Campylobacter*, especialmente, *Campylobacter jejuni*, a padronização dessa técnica foi realizada por Dingle e colaboradores no ano de 2001. Desde então, essa técnica vem sendo utilizada com êxito na subtipagem de linhagens de *Campylobacter* spp., sendo considerada, atualmente, o método de tipagem “padrão ouro” para esse gênero (Dingle *et al.*, 2001; Schouls *et al.*, 2003; Ragimbeau *et al.*, 2008; Asakura *et al.*, 2012; Duarte *et al.*, 2014).

1.7. Epidemiologia

Zoonoses transmitidas por alimentos são uma importante causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que mais de

dois milhões de pessoas morrem a cada ano de doenças diarreicas causadas principalmente pela ingestão de alimentos contaminados (WHO, 2005; EFSA, 2007).

A campilobacteriose é uma zoonose de distribuição mundial com repercussões significativas no nível da Saúde Pública e com um elevado impacto socioeconômico (CDC, 2015). De acordo com a *European Food Safety Authority* (EFSA, 2009) esta doença tem adquirido uma crescente importância a partir do início dos anos 2000, sendo mais frequentemente reportada do que a salmonelose.

Recentemente, a *European Food Safety Authority* (EFSA, 2015) descreveu os possíveis fatores que influenciam a ocorrência das infecções por *Campylobacter* sendo eles: a idade, com predominância em crianças menores de 5 anos de idade; a temporada, uma vez que, um número mais elevado de casos de campilobacteriose é relatado durante os meses de verão; a linhagem infectante, pois algumas estirpes são menos patogênicas do que outras e a imunidade do hospedeiro.

Segundo dados do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC, 2015) dos Estados Unidos, bactérias do gênero *Campylobacter* são a principal causa de gastroenterite em humanos no país, afetando cerca de 2,4 milhões de pessoas a cada ano. Da mesma maneira, a União Europeia estima que ocorram cerca de nove milhões de casos ao ano, apesar de apenas 200.000 casos serem reportados. O custo da campilobacteriose na Europa devido à perda de produtividade e gastos com o sistema de Saúde Pública é estimado em torno de 2,4 bilhões de euros por ano (EFSA, 2015).

No Japão, o *Campylobacter* é uma das causas mais comuns de gastroenterite em humanos, da mesma maneira no Canadá estima-se a ocorrência de mais de 600 mil casos ao ano (Thomas *et al.*, 2006). Na Austrália, a estimativa é de que ocorram mais de 200.000 casos anualmente (Stafford *et al.*, 2008) e os gastos com infecções entéricas excedem 1,2 bilhões de dólares anualmente (Abelson *et al.*,2006).

A significativa diferença entre o número de casos reportados e a estimativa da ocorrência de infecções por bactérias do gênero *Campylobacter*, principalmente as espécies *C. coli* e *C. jejuni*, se justifica pelo difícil reconhecimento do patógeno nas doenças gastrointestinais, devido às exigências nutricionais e atmosféricas de crescimento. Além disso, a infecção por esse patógeno não é de notificação obrigatória em muitos países incluindo o Brasil (Jore *et al.*, 2010; Havelaar *et al.*, 2013; EFSA, 2015).

No Brasil, assim como em muitos países em desenvolvimento, o isolamento e o estudo de *Campylobacter*, especialmente *C. coli*, não são muito frequentes, além de pontuais e

dispersos pelo país, o que dificulta avaliar a dimensão do envolvimento dessa bactéria como causadora de doença nos seres humanos e em animais, bem como, determinar o impacto de sua presença em alimentos e no meio ambiente (Scarcelli *et al.*, 2005; Franchin *et al.*, 2007; Aquino *et al.*, 2010; Blasi *et al.*, 2011).

Conclusões

7. CONCLUSÕES

- O potencial patogênico das linhagens de *Campylobacter coli* estudadas não foi evidenciado o que pode estar relacionado ao fato da maioria dos estudos envolvendo o processo de patogênese de *Campylobacter* terem sido realizados para a espécie *Campylobacter jejuni* e não especificamente para *Campylobacter coli*.

- A resistência a eritromicina, ciprofloxacina, tetraciclina e doxaciclina encontrada em algumas linhagens de *Campylobacter coli* estudadas é preocupante, pois tais bactérias podem disseminar genes de resistência à outras *C. coli* isoladas de fontes clinicas e não clínicas no Brasil.

- Os resultados de PFGE e sequenciamento da pequena região variável (*short variable region*, SVR) do gene *flaA* demonstraram uma alta similaridade genética entre algumas linhagens estudadas, sugerindo que o meio ambiente e os alimentos tem sido uma possível fonte de contaminação para humanos e animais, ao longo de 16 anos, no Brasil.

- A análise dos alelos gerados a partir do sequenciamento da SVR do gene *flaA* nos permite concluir que os alelos prevalentes nas *C. coli* estudadas são diferentes daqueles encontrados nos países Europeus.

- A análise do *locus* CRISPR por HRMA demonstrou ser uma metodologia com baixo poder discriminatório e inadequada para a tipagem de *Campylobacter coli*.

- Os dados de MLST sugerem que as linhagens tipadas isoladas de diversas fontes no Brasil, ao longo de 16 anos, possuem uma grande diversidade entre si e em comparação com outras linhagens isoladas em diferentes locais do mundo.

- As técnicas de MLST e PFGE foram mais eficientes em diferenciar as linhagens em comparação ao sequenciamento da pequena região variável do gene *flaA* e análise do *locus* CRISPR por HRMA, de acordo com o índice de discriminação (*D*).

Referências bibliográficas [1]

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

8. REFERÊNCIAS

Aarestrup, F. M.; Engberg, J. Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*. **Veterinary Research,** v. 32, n. 3-4, p. 311-321, 2001.

Abelson, P. M.; Potter, F.; Hall, G. The annual cost of Foodborne illnesses in Australia. **Australian Government of helath and ageing, Canberra**, 2006.

Abley, M. J;Wittum, T. E.; Moeller, S. J.; Zerby, H. N.; Funk, J. A. Quantification of *Campylobacter* in swine before, during and after the slaughter process. **Journal of Food Protection**, v.75, p.139–143, 2012.

Ahmed, 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.

Alfredson, D. A.; Korolik, V. Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. **Fems Microbiology Letters,** v. 277, n. 2, p. 123-132, 2007.

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

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.

Asakura, H.; Brüggemann, H.; Sheppard, S. K.; Ekawa, T.; Meyer, T. F.; Yamamoto, S.; Igimi, S. Molecular Evidence for the Thriving of Campylobacter jejuni ST-4526 in Japan. **Plos One,** v. 7, n. 11, p. 15, 2012.

Asakura, M.; Samosornsuk, W.; Hinenoya, A.; Misawa, N.; Nishimura, K.; Matsuhisa, A.; Yamasaki, S. Development of a cytolethal distending toxin (cdt) gene-based species-specific multiplex PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter fetus*. **Fems Immunology and Medical Microbiology,** v. 52, n. 2, p. 260-266, 2008.

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.

Bang, D. D.; Nielsen, E. M.; Scheutz, F.; Pedersen, K.; Handberg, K.; Madsen, M. PCR detection of seven virulence and toxin genes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from Danish pigs and cattle and cytolethal distending toxin production of the isolates. **Journal of Applied Microbiology,** v. 94, n. 6, p. 1003-1014, 2003.

Batchelor, R. A.; Pearson, B. M.; Friis, L. M.; Guerry, P.; Wells, J. M. Nucleotide sequences and comparison of two large conjugative plasmids from different *Campylobacter* species. **Microbiology-Sgm,** v. 150, p. 3507-3517, 2004.

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.

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.

Blaser, M. J. Role of the s-layer proteins of *campylobacter fetus* in serum-resistance and antigenic variation - a model of bacterial pathogenesis. **American Journal of the Medical Sciences,** v. 306, n. 5, p. 325-329, 1993.

Blaser, M. J.; Hardesty, H. L.; Powers, B.; Wang, W. L. Survival of *Campylobacter fetus* subsp *jejuni* in biological milieus. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 11, n. 4, p. 309-313, 1980.

Blaser, M. J.; Perez, G. P.; Smith, P. F.; Patton, C. Tenover, F. C.; Lastovica, A. J.; Wang, W. I. Extraintestinal *Campylobacter jejuni* and *campylobacter coli* infections - host factors and strain characteristics. **Journal of Infectious Diseases,** v. 153, n. 3, p. 552-559, 1986.

Blaser, M. J.; Smith, P. F.; Hopkins, J. A.; Heinzer, I.; Bryner, J. H.; Wang, W. L. Pathogenesis of *Campylobacter fetus* infections - serum resistance associated with high-molecular-weight surface-proteins. **Journal of Infectious Diseases,** v. 155, n. 4, p. 696-706, 1987.

Blasi, 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, n. 5, p. 702-707, 2011.

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

Campioni, F.; Falcao, 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.

Carrillo, C. D.; Taboada, E.; Nash, J. H.; 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, n. 19, p. 20327-20338, 2004.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases,** 2015. Acessado em 23 de junho de 2015, disponível em: http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/campylobacter.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet): **FoodNet Surveillance Report for 2011 (Final Report).** Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, 2012.

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.

Cooper, J. E.; Feil, E. J. Multilocus sequence typing - what is resolved? **Trends in Microbiology,** v. 12, n. 8, p. 373-377, 2004.

Corry, J. E. L.; Post, D. E.; Colin, P.; Laisney, M. J. Culture media for the isolation of *Campylobacters*. **International Journal of Food Microbiology,** v. 26, n. 1, p. 43-76, 1995.

Crushell, E.; Harty, S.; Sharif, F.; Bourke, B. Enteric *Campylobacter*: Purging its secrets? **Pediatric Research,** v. 55, n. 1, p. 3-12, 2004.

D'Lima, C. B.; Miller, W. G.; Mandrell, R. E.; Wright, S. L.; Siletzky, R. M.; Carver, D. K.; Kathariou, S. Clonal population structure and specific genotypes of multidrug-resistant *Campylobacter coli* from turkeys. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 73, n. 7, p. 2156-2164, 2007.

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,** v. 52, n. 4, p. 345-348, 2003.

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.

Denis, M.; Chidaine, B.; Laisney, M. J.; Kempf, I.; Rivoal, K.; Mégraud, F.; Fravalo, P. Comparison of genetic profiles of *Campylobacter* strains isolated from poultry, pig and *Campylobacter* human infections in Brittany, France. **Pathologie Biologie,** v. 57, n. 1, p. 23-29, 2009.

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.

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, n. 6, p. 406-410, 1999.

Dingle, K. E.; Van Den Braak, N.; Colles, F. M.; Price, L. J.; Woodward, D. L.; Rodgers, F. G.; Endtz, H. P.; Van Belkum, A.; Maiden, M. C. Sequence typing confirms that *Campylobacter jejuni* strains associated with Guillain-Barre and Miller-Fisher syndromes are of diverse genetic lineage, serotype, and flagella type. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 39, n. 9, p. 3346-3349, 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.

EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. **EFSA Journal,** v. 13(1), p. 3991, 2015.

EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2012. **EFSA Journal 12**, p. 3547–312, 2014.

EFSA. The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. **The EFSA Journal 2010**, 1–288, 2010.

EFSA.The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic.Agents in the European union in2007. **EFSA Journal 223**, p. 223–440, 2009.

EFSA 2007. The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the Europian Union 2006. **The EFSA Journal 2007,** 2007.

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.

Engberg, J.; Aarestrup, F. M.; Taylor, D. E.; Gerner-Smidt, P.; Nachamkin, I. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: Resistance mechanisms and trends in human isolates. **Emerging Infectious Diseases,** v. 7, n. 1, p. 24-34, 2001.

Fernandes, M.; Mena, C.; Silva, J.; Teixeira, P. Study of Cytolethal Distending Toxin (cdt) in *Campylobacter coli* using a Multiplex Polymerase Chain Reaction assay and its distribution among clinical and food Strains. **Foodborne Pathogens and Disease,** v. 7, n. 1, p. 103-106, 2010.

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.; Helsel, L.O.; Nicholson, M. A.; Olsen, S. J.; Swerdlow, D. L.; Flahart, R.; Sexton, J.; Fields, P. I. Evaluation of methods for subtyping *Campylobacter jejuni* during an outbreak involving a food handler. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 39, n. 7, p. 2386-2390, 2001.

Foley, S. L.; Lynne, A. M.; Nayak, R. Molecular typing methodologies for microbial source tracking and epidemiological investigations of Gram-negative bacterial foodborne pathogens. **Infection Genetics and Evolution,** v. 9, n. 4, p. 430-440, 2009.

Fouts, D. E.; Mongodin, E. F.; Mandrell, R. E.; Miller, W. G.; Rasko, D. A; Ravel, J.; Brinkac, L. M.; DeBoy, R. T.; Parker, C. T.; Daugherty, S. C.; Dodson, R. J.; Durkin, A. S.; Madupu, R.; Sullivan, S. A.; Shetty, J. U.; Ayodeji, M. A.; Shvartsbeyn, A.; Schatz, M. C.; Badger, J. H.; Fraser, C. M.; Nelson, K. E. Major structural differences and novel potential virulence mechanisms from the genomes of multiple *Campylobacter* species. **Plos Biology,** v. 3, n. 1, p. 72-85, 2005.

Foxman, B.; Zhang, L.; Koopman, J.S.; Manning, S.D.; MARRS, C. F. Choosing an appropriate bacterial typing technique for epidemiologic studies. **Epidemiologic Perspectives & Innovations**, 2005.

Franchin, P. R.; Battistella, P. M. D.; Vieira, C. R. Evaluation of multi-sequential interventions with water to reduce microbial loading as applied to chicken carcasses during slaughtering - a review. **Worlds Poultry Science Journal**, v.66, p. 203-213, 2010.

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,** v. 48, n. 2, p. 127-132, 2007.

Fridovich, I. Superoxide Dismutases. **Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology,** v. 58, p. 61-97, 1986.

Friedman, C. R.; Hoekstra, R. M.; Samuel, M.; Marcus, R.; Bender, J.; Shiferaw, B.; Reddy, S.; Ahuja, S. D.; Helfrick, D. L.; Hardnett, F.; Carter, M.; Anderson, B.; Tauxe, R. V.; Emerging Infections Program FoodNet Working Group. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infection in the United States: A case-control study in FoodNet sites. **Clinical Infectious Diseases,** v. 38, p. S285-S296, 2004.

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.

Garenaux, A.; Jugiau, F.; Rama, F.; de Jonge, R.; Denis, M.; Federighi, M.; Ritz, M. Survival of *Campylobacter jejuni* strains from different origins under oxidative stress conditions: Effect of temperature. **Current Microbiology,** v. 56, n. 4, p. 293-297, 2008.

Garneau, J. E.; Dupuis, M. È; Villion, M.; Romero, D. A.; Barrangou, R.; Boyaval, P.; Fremaux, C.; Horvath, P.; Magadán, A. H.; Moineau, S. The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA. Nature, v. 468, n. 7320, p. 67, 2010.

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.

Di Giannatale, E.; Di Serafino, G.; Zilli, K.; Alessiani, A.; Sacchini, L.; Garofolo, G.; Aprea, G.; Marotta, F. Characterization of antimicrobial resistance patterns and detection of virulence genes in *Campylobacter* isolates in Italy. **SENSORS**, v.14, p. 3308-3322, 2014.

Gibreel, A.; Taylor, D. E. Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy,** v. 58, n. 2, p. 243-255, 2006.

Gillespie, I. A.; O'Brien, S. J.; Frost, J. A.; Adak, G. K.; Horby, P.; Swan, A. V.; Painter, M. J.; Neal, K. R. *Campylobacter* Sentinel Surveillance Scheme Collaborators. A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: A tool for generating hypotheses. **Emerging Infectious Diseases,** v. 8, n. 9, p. 937-942, 2002.

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

Golden, N. J.; Acheson, D. W. K. Identification of motility and auto agglutination *Campylobacter jejuni* mutants by random transposon mutagenesis. **Infection and Immunity,** v. 70, n. 4, p. 1761-1771, 2002.

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**, n.37, p.375-378, 2006.

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.

Gonzalez-Hein, G; Huaracán, B.; García, P.; Figueroa, G. Prevalence of virulence genes in strains of *Campylobacter jejuni* isolated from human, bovine and broiler. **Brazilian Journal of Microbiology,** v. 44, n. 4, p. 1223-1229, 2013.

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.

Gras, L. M.; Smid, J. H.; Wagenaar, J. A.; Koene, M. G.; Havelaar, A. H.; Friesema, I. H.; French, N. P.; Flemming, C.; Galson, J. D.; Graziani, C.; Busani, L.; VAN Pelt, W. Increased risk for *Campylobacter jejuni* and *C. coli* infection of pet origin in dog owners and evidence for genetic association between strains causing infection in humans and their pets. **Epidemiology and Infection,** v. 141, n. 12, p. 2526-2535, 2013.

Greig, J. R. Quinolone resistance in *Campylobacter*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy,** v. 51, n. 3, p. 740-741, 2003.

Groenen, P. M. A.; Bunschoten, A. E.; van Soolingen, D.; van Embden, J. D. Nature of DNA polymorphism in the direct repeat cluster of *Mycobacterium tuberculosis* - Application for strain differentiation by a novel typing method. **Molecular Microbiology,** v. 10, n. 5, p. 1057-1065, 1993.

Guerry, P. *Campylobacter* flagella: not just for motility. **Trends in Microbiology,** v. 15, n. 10, p. 456-461, 2007.

Guerry, P.; Ewing, C. P.; Schirm, M.; Lorenzo, M.; Kelly, J.; Pattarini, D.; Majam, G.; Thibault, P.; Logan, S. Changes in flagellin glycosylation affect *Campylobacter* autoagglutination and virulence. **Molecular Microbiology,** v. 60, n. 2, p. 299-311, 2006.

Gunther, N. W.; Chen, C. Y. The biofilm forming potential of bacterial species in the genus *Campylobacter*. **Food Microbiology,** v. 26, n. 1, p. 44-51, 2009.

Gurtler, M.; Alter, T.; Kasimir, S.; Fehlhaber, K. The importance of *Campylobacter coli* in human campylobacteriosis: prevalence and genetic characterization. **Epidemiology and Infection,** v. 133, n. 6, p. 1081-1087, 2005.

Hanninen, M. L.; Perko-Mäkelä, P.; Pitkälä, A.; Rautelin, H. A three-year study of *Campylobacter jejuni* genotypes in humans with domestically acquired infections and in chicken samples from the Helsinki area. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 38, n. 5, p. 1998-2000, 2000.

Harrington, C. S.; ThomsonCarter, F. M.; Carter, P. E. Evidence for recombination in the flagellin locus of *Campylobacter jejuni*: Implications for the flagellin gene typing scheme. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 35, n. 9, p. 2386-2392, 1997.

Havelaar, A. H.; Ivarsson, S.; Lofdahl, M.; Nauta, M. J. Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009. **Epidemiology and Infection**, v.141,p. 293–302, 2013.

Hendrixson, D. R.; DiRita, V. J. Identification of *Campylobacter jejuni* genes involved in commensal colonization of the chick gastrointestinal tract. **Molecular Microbiology,** v. 52, n. 2, p. 471-484, 2004.

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**, n. 68, 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.

Hunter, P. R. Reproducibility and indexes of discriminatory power of microbial typing methods. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 28, n. 9, p. 1903-1905, 1990.

Hunter, P. R.; Gaston, M. A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems - an application of simpsons index of diversity. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 26, n. 11, p. 2465-2466, 1988.

Igimi, S.; Okada, Y.; Ishiwa, A.; Yamasaki, M.; Morisaki, N.; Kubo, Y.; Asakura, H.; Yamamoto, S. Antimicrobial resistance of *Campylobacter*: prevalence and trends in Japan.

Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment, v. 25, n. 9, p. 1080-1083, 2008.

Jore S, Viljugrein H, Brun E, et al. Trends in *Campylobacter* incidence in broilers and humans in six European countries, 1997-2007. **Preventive Veterinary Medicine,** v. 93(1), p. 33-41, 2010.

John, A.; Connerton, P. L.; Cummings, N.; Connerton, I. F. Profound differences in the transcriptome of *Campylobacter jejuni* grown in two different, widely used, microaerobic atmospheres. **Research in Microbiology,** v. 162, n. 4, p. 410-418, 2011.

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.

Karenlampi, R.; Rautelin, H.; Schönberg-Norio, D.; Paulin, L.; Hänninen, M. L. Longitudinal study of Finnish Campylobacter jejuni and *C. coli* isolates from humans, using multilocus sequence typing, including comparison with epidemiological data and isolates from poultry and cattle. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 73, n. 1, p. 148-155, 2007.

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

Khalid, M. I.; Tang, J. Y.; Baharuddin, N. H.; Rahman, N. S.; Rahimi, N. F.; Radu, S. Prevalence, Antibiogram, and cdt Genes of Toxigenic *Campylobacter jejuni* in Salad Style Vegetables (Ulam) at Farms and Retail Outlets in Terengganu. **Journal of Food Protection,** v. 78, n. 1, p. 65-71, 2015.

Kim, J. S.; Kim, J. W.; Kathariou, S. Differential effects of temperature on natural transformation to erythromycin and nalidixic acid resistance in *Campylobacter coli*. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 74, n. 19, p. 6121-6125, 2008.

Konkel, M. E.; Kim, B. J.; Klena, J. D.; Young, C. R.; Ziprin, R.. Characterization of the thermal stress response of *Campylobacter jejuni*. **Infection and Immunity,** v. 66, n. 8, p. 3666-3672, 1998.

Konkel, M. E., S. A. Gray, B. J. Kim, S. G. Garvis, and J. Yoon. Identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on the cadF virulence gene and its product. Journal of Clinical Microbiology, v.37, p. 510–517, 1999.

Konkel, M. E.; Klena, J. D.; Rivera-Amill, V.; Monteville, M. R.; Biswas, D.; Raphael, B.; Mickelson, J. Secretion of virulence proteins from *Campylobacter jejuni* is dependent on a functional flagellar export apparatus. **Journal of Bacteriology,** v. 186, n. 11, p. 3296-3303, 2004.

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.

Lara-Tejero, M.; Galan, J. E. CdtA, CdtB, and CdtC form a tripartite complex that is required for cytolethal distending toxin activity. **Infection and Immunity,** v. 69, n. 7, p. 4358-4365, 2001.

Lara-Tejero, M. D.; Galan, J. E. A bacterial toxin that controls cell cycle progression is deoxyribonuclease I-like protein. **Molecular Biology of the Cell,** v. 11, p. 433A-433A, 2000.

Lazou, T.; Houf, K.; Soultos, N.; Dovas, C.; Iossifidou, E. *Campylobacter* in small ruminants at slaughter: Prevalence, pulsotypes and antibiotic resistance. **International Journal of Food Microbiology,** v. 173, p. 54-61, 2014.

Levesque, 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. 9, 2011.

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 beta-1,3 galactosyltransferase involved in generation of the ganglioside GM(1)-like lipo-oligosaccharide of *Campylobacter jejuni*. **Molecular Microbiology,** v. 37, n. 3, p. 501-514, 2000.

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.

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. 18, 2015.

Logan, S. M.; Trust, T. J.; Guerry, P. Evidence for posttranslational modification and gene duplication of *Campylobacter* flagellin. **Journal of Bacteriology,** v. 171, n. 6, p. 3031-3038, 1989.

Louwen, R. P. L.; van Belkum, A.; Wagenaar, J. A.; Doorduyn, Y.; Achterberg, R.; Endtz, H. P. Lack of association between the presence of the pVir plasmid and bloody diarrhea in *Campylobacter jejuni* enteritis. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 44, n. 5, p. 1867-1868, 2006.

Luangtongkum, T.;Morishita, T. Y.; Ison, A. J.; Huang, S.; McDermott, P. F.; Zhang, Q. Effect of conventional and organic production practices on the prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. in poultry. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p.3600–3607, 2006.

Lucey, B.; Cryan, B.; O'Halloran, F.; Wall, P. G.; Buckley, T.; Fanning, S. Trends in antimicrobial susceptibility among isolates of *Campylobacter* species in Ireland and the emergence of resistance to ciprofloxacin. **Veterinary Record,** v. 151, n. 11, p. 317-320, 2002.

Magnusson, S. H.; Guðmundsdóttir, S.; Reynisson, E.; Rúnarsson, A. R.; Harðardóttir, H.; Gunnarson, E.; Georgsson, F.; Reiersen, J.; Marteinsson, V. T. Comparison of *Campylobacter jejuni* isolates from human, food, veterinary and environmental sources in Iceland using PFGE, MLST and *fla*-SVR sequencing. **Journal of Applied Microbiology,** v. 111, n. 4, p. 971-981, 2011.

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.; Feavers, 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, n. 12, p. 669-685, 2011.

Martinez, J. L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. **Environmental Pollution,** v. 157, n. 11, p. 2893-2902, 2009.

Maslow, J. N.; Mulligan, M. E.; Arbeit, R. D. Molecular epidemiology - Application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. **Clinical Infectious Diseases,** v. 17, n. 2, p. 153-164, 1993.

Mateu, E.; Martin, M. Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well? **Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health,** v. 48, n. 8, p. 569-581, 2001.

Mazi, W.; Senok, A.; Al-Mahmeed, A.; Arzese, A.; Bindayna, K.; Botta, G. Trends in antibiotic sensitivity pattern and molecular detection of tet(O)-mediated tetracycline resistance in *Campylobacter jejuni* isolates from human and poultry sources. **Japanese Journal of Infectious Diseases,** v. 61, n. 1, p. 82-84, 2008.

McCarthy, N. D.; Colles, F. M.; Dingle, K. E.; Bagnall, M. C.; Manning, G.; Maiden, M. C, Falush, D. Host-associated genetic import in *Campylobacter jejuni*. **Emerging Infectious Diseases,** v. 13, n. 2, p. 267-272, 2007.

McDermott, P. F.; Bodeis-Jones, S. M.; Fritsche, T. R.; Jones, R. N.; Walker, R. D. Broth microdilution susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and the determination of quality control ranges for fourteen antimicrobial agents. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 43, n. 12, p. 6136-6138, 2005.

Meinersmann, R.; Helsel, L. O.; Fields, P. I.; Hiett, K. L. Discrimination of *Campylobacter jejuni* isolates by *fla* 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,** v. 32, n. 1, p. 124-128, 2012.

Merchant-Patel, S.; Blackall, P. J.; Templeton, J.; Price, E. P.; Tong, S. Y.; Huygens, F.; Giffard, P. M. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Genotyping by High-Resolution Melting Analysis of a *flaA* Fragment. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 76, n. 2, p. 493-499, 2010.

Moolhuijzen, P. M.; Lew-Tabor, A. E.; Wlodek, B. M.; Agüero, F. G.; Comerci, D. J.; Ugalde, R. A.; Sanchez, D. O.; Appels, R.; Bellgard, M. Genomic analysis of *Campylobacter fetus* subspecies: identification of candidate virulence determinants and diagnostic assay targets. **Bmc Microbiology,** v. 9, p. 11, 2009.

Moore, J. E.; Corcoran, D.; Dooley, J. S.; 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.

Muller, 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,** v. 113, n. 1-2, 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.

Nuijten, P. J. M.; Fons, J. A. M.; Asten, V.; Gaastra, W.; van der Zeijsts, B. A. M. Structural and functional-analysis of 2 *Campylobacter jejuni* flagellin genes. **Journal of Biological Chemistry,** v. 265, n. 29, p. 17798-17804, 1990.

O'Leary, A. M.; Whyte, P.; Madden, R. H.; Cormican, M.; Moore, J. E.; Mc Namara, E.; Mc Gill, K.; Kelly, L.; Cowley, D.; Moran, L.; Scates, P.; Collins, J. D.; Carroll, C. V. Pulsed Field Gel Electrophoresis typing of human and retail foodstuff *Campylobacters*: An Irish perspective. **Food Microbiology,** v. 28, n. 3, p. 426-433, 2011.

Olive, D. M.; Bean, P. Principles and applications of methods for DNA-beased typing of microbial organisms. **Journal of Clinical Microbiology,** v. 37, 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.

Overell, J. R.; Willison, H. J. Recent developments in Miller Fisher syndrome and related disorders. **Current Opinion in Neurology,** v. 18, n. 5, p. 562-566, 2005.

Park, S. F. The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. **International Journal of Food Microbiology,** v. 74, n. 3, p. 177-188, 2002.

Pei, Z. H.; Ellison, R. T.; Lewis, R. V.; Blaser, M. J. Purification and characterization of a family of high molecular-weight surface-array proteins from *Campylobacter fetus*. **Journal of Biological Chemistry,** v. 263, n. 13, p. 6416-6420, 1988.

Pesci, E. C.; Cottle, D. L.; Pickett, C. L. Genetic, enzymatic, and pathogenic studies of the iron superoxide-dismutase of *Campylobacter jejuni*. **Infection and Immunity,** v. 62, n. 7, p. 2687-2694, 1994.

Phillips, I.; Casewell, M.; Cox, T.; De Groot, B.; Friis, C.; Jones, R.; Nightingale, C.; Preston, R.; Waddell, J. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy,** v. 53, n. 1, p. 28-52, 2004.

Pickett, C. L.; Pesci, E. C.; Cottle, D. L.; Russell, G.; Erdem, A. N.; Zeytin, H. Prevalence of cytolethal distending toxin production in *Campylobacter jejuni* and relatedness of *Campylobacter* sp cdtB genes. **Infection and Immunity,** v. 64, n. 6, p. 2070-2078, 1996.

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, p. 7, 2012.

Pourcel, C.; Salvignol, G.; Vergnaud, G. CRISPR elements in *Yersinia pestis* acquire new repeats by preferential uptake of bacteriophage DNA, and provide additional tools for evolutionary studies. **Microbiology-Sgm,** v. 151, p. 653-663, 2005.

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.

Purdy, D.; Cawthraw, S,; Dickinson, J. H.; Newell, D. G.; Park, S. F. Generation of a superoxide dismutase (SOD)-deficient mutant of *Campylobacter coli*: Evidence for the significance of SOD in *Campylobacter* survival and colonization. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 65, n. 6, p. 2540-2546, 1999.

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.; Schneider, 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.; Wittwer, C. T. High-resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics. **Pharmacogenomics,** v. 8, n. 6, p. 597-608, 2007.

Ribot, E.; 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.

Riley, L.W. Analysis of similarity and relatedness in molecular epidemiology. **In: Riley, L.W. (Ed.), Molecular Epidemiology of Infectious Diseases, Principles and Practices.** ASM Press, Washington DC**,** p. 91–124, 2004.

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.

Rozynek, E.; Antos-Bielska, M.; Dzierzanowska-Fangrat, K.; Szczepańska, B.; Trafny, E. A. Genetic Similarity of *Campylobacter* Isolates in Humans, Food, and Water Sources in Central Poland. **Foodborne Pathogens and Disease,** v. 7, n. 5, p. 597-600, 2010.

Rozynek, E.; Dzierzanowska-Fangrat, K.; Korsak, D.; Wardak, S.; Szych, J.; Dzierzanowska, D. Prevalence of antimicrobial resistance among Polish Campylobacter jejuni and Campylobacter coli strains isolated from humans and chicken meat. **International Journal of Antimicrobial Agents,** v. 29, p. S241-S242, 2007.

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.

Scallan, E.; Hoekstra, R. M.; Angulo, F. J.; Tauxe, R. V.; Widdowson, M. A.; Roy, S. L; Jones, J. L.; Griffin, P. M. Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens. **Emerging Infectious Diseases,** v. 17, n. 1, p. 7-15, 2011.

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 Sao Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology,** v. 36, n. 4, p. 378-382, 2005.

Schouls, L. M.; Reulen, S.; Duim, B.; Wagenaar, 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. 15-26, 2003.

Schwarz, S.; Kehrenberg, C.; Walsh, T. R. Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. **International Journal of Antimicrobial Agents,** v. 17, n. 6, p. 431-437, 2001.

Schwartz D.C.; Cantor, C.R. Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis. **Cell**, n.37, p.67-75, 1984.

Schweitzer, N.; Dán, Á.; Kaszanyitzky, É.; Samu, P.; Tóth, Á. 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.

Selander, B.; Rydberg, J.; Lenner, C.; Hagerstrand, I. Unusual infectious complication in a pregnant woman. Spontaneous abortion caused by *Campylobacter coli*. **Lakartidningen**, v. 90, p. 4356-4357, 1993.

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. 134, n. 1-2, p. 96-103, 2009.

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. 12, 2011.

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.

Smith, J. L.; Fratamico, P. M. Fluoroquinolone Resistance in *Campylobacter*. **Journal of Food Protection,** v. 73, n. 6, p. 1141-1152, 2010.

Smith, T. The etiological relation of spirilla (*Vibrio fetus*) to bovine abortion. **Journal of Experimental Medicine,** v. 30, n. 4, p. 313-323, 1919.

Snelling, W. J.; Matsuda, M.; Moore, J. E.; Dooley, J. Under the microscope - Campylobacter jejuni. **Letters in Applied Microbiology,** v. 41, n. 4, p. 297-302, 2005.

Song, Y. C.; Jin, H.; Louie, D. N.; Lau, Y.; Zhang, R.; Weerasekera, S.; Al Rashid, L. A.; Ward, S. D. FlaC, a protein of *Campylobacter jejuni* TGH 9011 (ATCC 43431) secreted trough the flagellar apparatus, binds epithelial cells and influences cell invasion. **Molecular Microbiology**, v. 53 (2), p. 541-553, 2004.

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.

Srinivasan, V.; Gillespie, B. E.; Lewis, M. J.; Nguyen, L. T.; Headrick, S. I.; Schukken, Y. H.; Oliver, S. P. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of Escherichia coli isolated from dairy cows with mastitis. **Veterinary Microbiology,** v. 124, n. 3-4, p. 319-328, 2007.

Stafford, R. J.; Schluter, P. J.; Wilson, A. J.; Kirk, M. D.; Hall, G.; Unicomb, L.; OzFoodNet Working Group. Population-attributable risk estimates for risk factors associated with *Campylobacter* infection, Australia. **Emerging Infectious Diseases,** v. 14, n. 6, p. 895-901, 2008.

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 islotated 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. 426-439, 1997.

Thomas, M. K.; Charron, D. F.;Waltner-Toews, D.;Schuster, C.; Maarouf, A. R.; Holt, J. D. A role of high impact weather events in waterborne disease outbreaks in Canada, 1975-2001. **International Journal of Environmental Health Research,** v. 16, p. 167-180, 2006.

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.; Tassios, P. T.; Dijkshoorn, L.; Haeggman, S.; Cookson, B.; Fry, N. K.; Fussing, V.; Green, J.; Feil, E.; Gerner-Smidt, P.; Brisse, S.; Struelens, M.; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID); Study Group on Epidemiological Markers (ESGEM). Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. **Clinical Microbiology and Infection,** v. 13, p. 1-46, 2007.

van Vliet, A. H. M.; Ketley, J. M. Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection. **Journal of Applied Microbiology,** v. 90, p. 45S-56S, 2001.

Vandamme, P.; Falsen, E.; Rossau, R.; Hoste, B.; Segers, P.; Tytgat, R.; De Ley, J. Revision of *Campylobacte*, *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.

Wassenaar, T. M.; Bleuminkpluym, N. M. C.; Vanderzeijst, 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.; 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.

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

Wehnes, C. A.; Rehberger, T. G.; Barrangou, R.; Smith, A. H. Short communication: Determination of *Salmonella* clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) diversity on dairy farms in Wisconsin and Minnesota. **Journal of Dairy Science,** v. 97, n. 10, p. 6370-6377, 2014.

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.

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.

Wirz, S. E.; Overesch, G.; Kuhnert, P.; Korczak, B. M. Genotype and antibiotic resistance analyses of *Campylobacter* isolates from ceca and carcasses of slaughtered broiler flocks. **Applied and Environmental Microbiology,** v. 76, n. 19, p. 6377-6386, 2010.

World Health Organization (WHO). Who health topics related to foodborne diseases, 2015. Acessado em 23 de junho de 2015, disponível em: http://www.who.int/foodsafety/areas_work/foodborne-diseases/en/.

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.

Zhang, M. J.; Liu, X.; Xu, X.; Gu, Y.; Tao, X.; Yang, X.; Yan, G.; Zhang, J. Molecular subtyping and antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter coli* isolates from diarrheal patients and food-producing animals in China. **Foodborne Pathogens and Disease,** v. 11, n. 8, p. 610-619, 2014.

Zilbauer, M.; Dorrell, N.; Boughan, P. K.; Harris, A.; Wren, B. W.; Klein, N. J, Bajaj-Elliott, M. Intestinal innate immunity to *Campylobacter jejuni* results in induction of bactericidal human beta-defensins 2 and 3. **Infection and Immunity,** v. 73, n. 11, p. 7281-7289, 2005.

Ziprin, R. L.; Young, C. R.; Byrd, J. A.; Stanker, L. H.; Hume, M. E; Gray, S. A.; Kim, B. J; Konkel, M. E. Role of *Campylobacter jejuni* potential virulence genes in cecal colonization. **Avian Diseases,** v. 45, n. 3, p. 549-557, 2001.

Ziprin, R. L.; Young, C. R.; Stanker, L. H.; Hume, M. E.; Konkel, M. E. The absence of cecal colonization of chicks by a mutant of Campylobacter jejuni not expressing bacterial fibronectin-binding protein. **Avian Diseases,** v. 43, n. 3, p. 586-589, 1999.