

Fatores de patogenicidade de *Vibrio* spp. de importância em doenças transmitidas por alimentos

Vibrio spp. pathogenicity factors of importance in foodborne diseases

Débora Rodrigues Silveira^{1*}, Camile Milan¹, Janaina Viana da Rosa¹, Cláudio Dias Timm¹

RESUMO: As bactérias do gênero *Vibrio* habitam ambiente tipicamente marinho e estuarino, sendo comumente isoladas de pescados. As principais espécies de *Vibrio* reportadas como agentes de infecções em humanos são *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* e *V. mimicus*. *V. vulnificus* é considerado o mais perigoso, podendo causar septicemia e levar à morte. *V. parahaemolyticus* é um patógeno importante nas regiões costeiras de clima temperado e tropical em todo o mundo e tem sido responsável por casos de gastroenterites associadas ao consumo de peixes, moluscos e crustáceos marinhos. *V. cholerae* causa surtos, epidemias e pandemias relacionados com ambientes estuarinos. *V. mimicus* pode causar episódios esporádicos de gastroenterite aguda e infecções de ouvido. A patogenicidade das bactérias está ligada à habilidade do micro-organismo em iniciar uma doença (incluindo entrada, colonização e multiplicação no corpo humano). Para que isso ocorra, os micro-organismos fazem uso de diversos fatores. O objetivo desta revisão foi sintetizar o conhecimento disponível na literatura sobre os fatores de patogenicidade de *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* e *V. mimicus*.

PALAVRAS-CHAVE: patogenicidade; pescado; *Vibrio vulnificus*; *Vibrio mimicus*; *Vibrio parahaemolyticus*; *Vibrio cholerae*.

ABSTRACT: Bacteria of the genus *Vibrio* typically inhabit marine and estuarine environment and are commonly isolated from fish. The main *Vibrio* species reported as agents of infections in humans are *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* and *V. mimicus*. *V. vulnificus* is considered the most dangerous, may cause sepsis and lead to death. *V. parahaemolyticus* is an important pathogen in coastal regions of temperate and tropical climates around the world and has been responsible for cases of gastroenteritis associated with consumption of fish, shellfish and marine crustaceans. *V. cholerae* causes outbreaks, epidemics and pandemics related to estuarine environments. *V. mimicus* can cause sporadic episodes of acute gastroenteritis and infections. The pathogenicity of the bacteria is linked to the ability of the micro-organism to initiate a disease (including entry, colonization and multiplication in the human body). For this to occur, the micro-organisms make use of several factors. The objective of this review is to summarize the knowledge available in the literature on the factors of pathogenicity of *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* and *V. mimicus*.

KEYWORDS: pathogenicity; fish; *Vibrio vulnificus*; *Vibrio mimicus*; *Vibrio parahaemolyticus*; *Vibrio cholerae*.

¹Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Campus Capão do Leão – Pelotas (RS), Brasil.

*Autor correspondente: janavrosa@yahoo.com.br

Recebido em: 20/12/2013. Aceito em: 12/02/2016

INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Vibrio* habitam ambiente tipicamente marinho e estuarino, necessitando de cloreto de sódio para o seu crescimento. São comumente isoladas de peixes e crustáceos, sendo capazes também de se multiplicar sem hospedeiro em águas marinhas (TALL *et al.*, 2013; MESSELHÄUSSER *et al.*, 2010). As espécies *parahaemolyticus*, *vulnificus*, *cholerae*, *furnissii*, *metschnikovii*, *mimicus*, *alginolyticus* e *fluvialis* são as principais causadoras de enfermidades em humanos (PENDUKA, 2011).

V. vulnificus (HOLLIS *et al.*, 1976) é considerado o mais perigoso por alguns pesquisadores, devido à sua capacidade de causar septicemia com taxas de mortalidade superiores a 50% em indivíduos portadores de doenças crônico-degenerativas (NASCIMENTO *et al.*, 2001; ULUSARAC; CARTER, 2004).

V. parahaemolyticus é considerado um patógeno importante nas regiões costeiras de clima temperado e tropical em todo o mundo (MARTINEZ-URTAZA *et al.*, 2004). Esse micro-organismo tem sido responsável por casos de gastroenterites associadas ao consumo de peixes, moluscos e crustáceos do mar, crus ou mal cozidos (HEITMANN *et al.*, 2005). Quando infectado, o indivíduo pode apresentar diversos sintomas, como diarreia, dores abdominais, vômito, febre e calafrios. Em casos mais avançados, pode causar disenteria com fezes mucoides e sanguinolentas (KODAMA, 1968). No Brasil, *V. parahaemolyticus* tem sido isolado de água e animais marinhos (COSTA *et al.*, 2010; SOUSA *et al.*, 2004). Por possuir ocorrência sazonal, é encontrado principalmente em estações mais quentes (FUENZALIDA *et al.*, 2006).

V. cholerae é uma espécie causadora de surtos, epidemias e pandemias relacionados com ambientes estuarinos (KAYSNER; DEPAOLA JUNIOR, 2004), sendo a infecção decorrente da ingestão de água e alimentos contaminados. Essa espécie produz a toxina colérica, responsável pelos sintomas clínicos da doença no hospedeiro. Novas variantes patogênicas do *V. cholerae* surgiram e se espalharam pela Ásia e por muitos países africanos, onde o saneamento é precário (SAFA *et al.*, 2010).

A patogenicidade das bactérias está ligada à habilidade do micro-organismo em iniciar uma doença (incluindo entrada, colonização e multiplicação no corpo humano). Para que isso ocorra, os micro-organismos fazem uso de diversos fatores que estabelecem a sua patogenicidade, como secreção de polissacarídeos (cápsula), produção de enzimas extracelulares, síntese de proteínas que contribuem para a aderência nos tecidos humanos e a capacidade de adquirir ferro a partir da transferrina (VIEIRA, 2009).

O objetivo desta revisão foi sintetizar o conhecimento disponível na literatura sobre os fatores de patogenicidade das principais espécies de *Vibrio* reportadas como agentes de infecções em humanos: *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* e *V. mimicus*.

Vibrio vulnificus

Não existe informação adequada que permita distinguir entre estirpes virulentas e não virulentas de *V. vulnificus*. Devido a isso, todas as cepas de *V. vulnificus* são consideradas igualmente patogênicas (AMARO *et al.*, 1994; STELMA JUNIOR *et al.*, 1992).

A cápsula polissacarídica (PSC) é considerada o principal fator de patogenicidade de *V. vulnificus*. É uma estrutura de polímeros que cobre a superfície da bactéria constituída principalmente por polissacarídeos, mas também possui proteínas e uma grande variedade de carboidratos ricos em aminoácidos. Sua principal função é a proteção da bactéria, conferindo resistência à fagocitose pelos macrófagos e à ação bactericida (WRIGHT *et al.*, 1981; LITWIN *et al.*, 1996). De acordo com a presença e a quantidade de PSCs produzidas por uma determinada cepa de *V. vulnificus*, não é possível identificar o nível de patogenicidade expressado por essa cepa (WRIGHT *et al.*, 1990). Estudos com isolados de cepas virulentas e avirulentas demonstraram que, apesar de não haver correlação entre a patogenicidade dos isolados clínicos e ambientais, existe correlação entre a patogenicidade e a opacidade de colônias. Todas as cepas virulentas possuem colônias opacas e são encapsuladas, ao passo que aquelas não encapsuladas e translúcidas são avirulentas (SIMPSON *et al.*, 1987). Já foram descritos quatro genes responsáveis pela síntese da PSC (SMITH; SIEBELING, 2003), são eles *cap10*, *cap59*, *cap60* e *cap64*. Esses genes são necessários para a patogenicidade em modelos de infecção em camundongos (JANBON, 2004).

O *V. vulnificus* possui também estruturas proteicas presentes na sua superfície que são chamadas de fimbrias ou pili, são curtas, finas e rígidas. Essas estruturas servem para a bactéria se aderir firmemente às paredes dos tecidos do hospedeiro (GANDER; LAROCCO, 1989).

O *V. vulnificus* produz uma citotoxina extracelular e uma série de enzimas hidrolíticas responsáveis pela rápida degradação do tecido muscular durante a infecção. Já foram identificados três diferentes biotipos de *V. vulnificus*. Aproximadamente 85% das cepas isoladas de amostras clínicas pertencem ao biotipo 1, o biotipo 2 provoca infecções em enguias e o biotipo 3 foi identificado recentemente e está associado a bacteremia veiculada por alimentos de origem marinha (HUSS *et al.*, 2004).

O biotipo 1 foi dividido em cinco grupos, de acordo com o perfil de lipopolissacarídeo (LPS) determinado por meio de reações com anticorpos monoclonais (MARTIN; SIEBELING, 1991). Porém, esses anticorpos foram utilizados para examinar cepas de origem ambiental, clínica e de frutos do mar comercializados. Grande parte dessas cepas não foi tipável, demonstrando, assim, que o LPS é muito heterogêneo antígenicamente (GULIG, 2005). O biotipo 2 possui um único tipo de LPS, do sorogrupo E (BIOSCA *et al.*, 1996). O biotipo 3 está associado com bacteremia veiculada a alimentos de origem marinha. Esses biotipos foram separados de acordo com características bioquímicas, como produção de indol, descarboxilação da ornitina e crescimento a 42°C (AMARO *et al.*, 1994; CERDÀ-CUÉLLAR *et al.*, 2001).

V. vulnificus produz pelo menos dois tipos de hemolisinas. A primeira, chamada de citolisina, é termolábil, lisa os eritrócitos de coelho em ágar sangue produzindo uma zona de β -hemólise e é citotóxica a uma variedade de linhagens celulares (GRAY; KREGER, 1985). A outra hemolisina foi detectada pela primeira vez por CHANG *et al.* (1997) e sua ação pode ser observada em placas de ágar sangue contendo eritrócitos de carneiro, sendo o micro-organismo capaz de provocar uma mudança na cor do meio, de vermelha para marrom, formando colônias de cor esverdeada (α -hemólise).

V. vulnificus possui o sistema de toxRS, uma proteína transmembrana, ativadora de transcrição, que regula a expressão do gene da hemolisina, chamado *vvhA* (LEE *et al.*, 2000). O sistema toxRS desempenha importante papel na regulação da expressão de genes de patogenicidade em infecções em ratos, no entanto sua ação na expressão de genes ainda necessita de mais estudos (LEE *et al.*, 1999).

Existem outras enzimas produzidas por *V. vulnificus*, como proteases, fosfolipases, lecitinases e quitinases, que são auxiliares à sobrevivência do *V. vulnificus* na água do mar e responsáveis por sua colonização e multiplicação nos tecidos de moluscos bivalves e no homem, constituindo fatores de patogenicidade em potencial. As proteases que já foram identificadas possuem atividade caseinolítica, elastolítica e colagenolítica e são produzidas tanto por cepas não virulentas como por virulentas (MORENO; LANDGRAF, 1998). As lipases são enzimas que quebram lipídios e, apesar de a sua produção por cepas de *V. vulnificus* já ter sido observada, sua função na patogenicidade ainda não foi determinada (TESTA *et al.*, 1984).

Recentemente, uma toxina de grande tamanho, chamada RTX, presente em *V. vulnificus*, tem sido implicada na patogenicidade da bactéria em camundongos. Estudos indicam que o conjunto de genes *rtx* é consistente com *rtxCA* e operons *rtxBDE* de *V. cholerae*, que é uma espécie estreitamente relacionada com *V. vulnificus*, os quais são responsáveis pela ativação e secreção de RTX-A, um membro da família *rtx*, que promove a despolimerização da actina celular (FULLNER; MEKALANOS, 2000; LIN *et al.*, 1999).

A aquisição de ferro é necessária para a patogenicidade do *V. vulnificus*. Algumas cepas conseguem burlar os mecanismos sequestrantes de ferro do hospedeiro humano. A infecção bem-sucedida parece necessitar de um aumento na saturação de transferrina. *V. vulnificus* produz simultaneamente fenolato e sideróforos de hidroxamato, os quais permitem que as cepas virulentas adquiram ferro a partir da transferrina altamente saturada (MORRIS *et al.*, 1987; LITWIN *et al.*, 1996). Ação semelhante foi observada em relação a outras proteínas que se ligam ao ferro, tais como a lactoferrina e ferritina (SIMPSON *et al.*, 1987). Aparentemente, a clivagem das proteínas é causada por uma exoprotease, liberando, desse modo, ferro para os sideróforos (LITWIN *et al.*, 1996).

Vibrio parahaemolyticus

A patogenicidade dessa bactéria está associada à produção de hemolisina termoestável direta (TDH), hemolisina termoestável relacionada com Tdh (TRH) (WEST *et al.*, 2013) e/ou urease (*ureR*) (PARANJPYE *et al.*, 2012).

A TDH possui capacidade de hemólise, atuando diretamente nos eritrócitos de diversas espécies (ZHAO *et al.*, 2011). É uma enterotoxina citotóxica que atua dentro e fora da célula hospedeira, levando à morte por formação de poros na membrana e, conseqüentemente, à apoptose (NAIM *et al.*, 2001).

O gene *trh* é imunologicamente igual ao *tdh*, no entanto ambas as hemolisinas possuem diferenças químicas significantes e atividade de lise de eritrócitos diferente (HONDA *et al.*, 1988). A presença desse gene está correlacionada com a produção de urease (gene *ure*), sendo estes geneticamente interligados (KELLY; STROH, 1989). A urease inibe a síntese de muco na parede intestinal, facilitando a colonização de bactérias e provável formação de úlceras (SIDEBOTHAM; BARON, 1990).

Seis cepas de *V. parahaemolyticus* isoladas da Ásia e do Peru, de pré-pandemias e pandemias, foram estudadas a fim de analisar a evolução do *V. Parahaemolyticus*, especificamente as diferenças genéticas que contribuem para patogenicidade. Após os estudos, os perfis genéticos que codificam toxinas (Tdh e Trh) revelaram que as cepas *trh* + *e* *tdh* + tinham diferentes tipos de ilhas de patogenicidade e elementos móveis, bem como diferenças estruturais entre as ilhas de patogenicidade do *tdh* das cepas que resultaram em pré-pandemia e pandemia. A conclusão foi de que as cepas pandêmicas estão intimamente relacionadas e que os surtos recentes da América do Sul causados por *V. parahaemolyticus* estão intimamente ligados a surtos na Índia (CHEN *et al.*, 2011).

Algumas cepas de *V. parahaemolyticus* utilizam o sistema de secreção tipo III, que está implicado na sobrevivência da bactéria no meio ambiente. Esse sistema contém fatores de patogenicidade que causam a lise da célula hospedeira infectada para permitir a liberação de nutrientes (BURDETTE *et al.*, 2008). Desde a sua descoberta, na década de 1950, *V. parahaemolyticus* tem sido considerado patógeno extracelular. No entanto, um estudo recente mostrou que o sistema media a invasão bacteriana em células hospedeiras, e, portanto, a patogenia de *V. parahaemolyticus* está sendo revista (ZHANG *et al.*, 2012).

V. parahaemolyticus é capaz de produzir a adesina MAM7, que facilita a fixação bacteriana nas células hospedeiras por meio da interação com fibronectina, ácido fosfatídico e fosfolipídios da membrana celular, resultando em um complexo tripartido sobre a superfície da célula afetada (KRACHLER *et al.*, 2011).

Outros importantes fatores de patogenicidade associados a *V. parahaemolyticus* são regulados por AphA. A proteína AphA reguladora de *V. parahaemolyticus* tem 85% de identidade com a de *V. cholerae*. Segundo WANG *et al.* (2013), AphA é necessária para a formação de biofilme em *V. parahaemolyticus*. Essa proteína também é necessária para a melhor movimentação de

V. parahaemolyticus, por influenciar na expressão do flagelo. A deleção *aphA* não tem efeito sobre enterotoxigenicidade.

Vibrio cholerae

Após ser ingerido, *V. cholerae* tem mecanismos para percepção de mudanças nas condições ambientais e responde por meio da ativação de uma série de genes cujos produtos são essenciais para a colonização e o estabelecimento da doença no hospedeiro, incluindo os genes que codificam a toxina da cólera e a toxina coreguladora pili, entre outros. A ativação desses genes de patogenicidade é dependente de dois fatores de transcrição (*toxR* e *TCPP*) localizados no interior da membrana. Ambos possuem domínios capazes de captar sinais ambientais, e, quando as condições são favoráveis ao micro-organismo, *toxR* e *TCPP* ativam o promotor *toxT* e este então ativa os genes de patogenicidade diretamente (MORGAN *et al.*, 2011).

Antes de se estabelecer a infecção propriamente dita é necessária a colonização que, no caso do *V. cholerae*, se dá por intermédio de uma pili tipo IV (T4P), que é codificada por um complexo gênico *txcP*. T4P são organelas adesivas que se ligam especificamente a receptores da célula hospedeira para facilitar a fixação das bactérias, além de ser capaz de formar microcolônias que protegem a bactéria das defesas do hospedeiro e concentram as toxinas secretadas (LIM *et al.*, 2010).

Dois genes com potencial patogênico importantes são *ctxA* e *ctxB*, responsáveis por codificar a subunidade grande (A) e a subunidade enzimática de ligação (B), respectivamente, da toxina colérica. Esses genes são encontrados nos sorogrupos O1 e O139, que são os principais causadores de epidemias de cólera (RAYCHOUDHURI *et al.*, 2010). A toxina colérica é capaz de causar diarreia aquosa profusa pela alteração no fluxo de íons ao longo da mucosa intestinal. A subunidade B da toxina colérica se liga a receptores de gangliosídeos GM₁ nas células epiteliais do intestino. A subunidade A é internalizada e ativa a adenilatociclase na célula do hospedeiro, que passa a produzir a proteína G, que ativa a denilato ciclase. Como consequência, o ATP se transforma em AMPcíclico, dando lugar à liberação ativa de água, cloro, bicarbonato e potássio e à inibição da absorção de sódio pelas células do lúmen intestinal, resultando em uma hipersecreção de água e eletrólitos (MEKALANOS, 2011).

Vibrio cholerae produz a enzima neuraminidase, que desempenha um papel significativo na patogênese da cólera, removendo o ácido siálico de gangliosídeos para expor o receptor da toxina colérica, GM₁ (MOUSTAFA *et al.*, 2004), potencializando a ação da toxina pelo aumento do número de receptores. Assim, permite a atuação da fração A, que modifica a fisiologia do mecanismo secretor da membrana citoplasmática das células do intestino delgado, intensificando a reação inflamatória.

O subgrupo O1 de *V. cholerae* é capaz de produzir e secretar uma hemaglutinina solúvel que, em virtude de sua atividade proteolítica, é chamada de Ha/protease (Ha/P). Essa subunidade é responsável pela diarreia, que varia de branda a moderada. Isso se deve ao fato de que Ha/P estimula a produção de

interleucina-8 e a degradação da zônula ocludente na mucosa intestinal, levando a inflamação do tecido e consequente diarreia alternada. Ha/P é um membro de uma família de metaloproteases de zinco que pode clivar e ativar a subunidade da toxina da cólera e a hemolisina produzida por *V. cholerae*. Essa estrutura tem sido considerada em estudos visando a mediar o desprendimento de *Vibrio* da superfície das células hospedeiras. Ha/P também pode causar efeitos patológicos *in vitro* que afetam a morfologia e a função das células epiteliais (JOBLING; HOLMES, 1997).

A presença de flagelo em *V. cholerae* dá mobilidade à bactéria e contribui para a sua patogenicidade. Cepas vacinais vivas atenuadas imóveis são significativamente menos reatogênicas em voluntários humanos, mas a contribuição exata da motilidade à patogenicidade parece ser multifatorial. Motilidade também contribui para a formação de biofilme, o que facilita a persistência no meio ambiente. Assim, o flagelo desempenha um papel fundamental no ciclo de vida de *V. cholerae*, tanto no hospedeiro quanto no ambiente. O flagelo de *V. cholerae* é uma estrutura complexa constituída por várias subunidades estruturais. Uma série de genes é responsável por regular não só a expressão dos genes que codificam para o flagelo, mas também influenciam a expressão de outros genes com funções relacionadas à quimiotaxia. A função quimiotática, que indiretamente potencializa a patogenicidade flagelar, está ligada ao deslocamento do micro-organismo pelo lúmen do intestino delgado para o seu nicho intestinal preferencial (SYED; KLOSE, 2011; BUTLER; CAMILLI, 2004).

Segundo RUTHERFORD *et al.* (2011), os gradientes dos fatores de transcrição AphA e HapR estabelecem os padrões de expressão gênica em relação à população bacteriana, sendo AphA o principal regulador de *quorum sensing* em baixa densidade celular e HapR o principal regulador que opera em alta densidade populacional. *V. cholerae* produz ainda a RTX, toxina que causa despolimerização das fibras de actina e ligações covalentes destas em dímeros, trímeros e multímeros maiores (FULLNER; MEKALANOS, 2000).

Vibrio mimicus

V. mimicus foi considerado, até 1981, como *Vibrio cholerae* não-O1 sacarose negativa (DAVIS *et al.*, 1981). Fenotipicamente, as funções do *V. mimicus* são, em sua maioria, idênticas ou semelhantes às encontradas em *Vibrio cholerae* e por isso inicialmente foi nomeado *Vibrio cholerae* não-O1 sacarose negativa, devido a essa semelhança (DESMARCHELIER; REICHEL, 1984). É uma bactéria não halofílica que pode causar episódios esporádicos de gastroenterite aguda e infecções de ouvido.

V. mimicus produz uma hemolisina termolábil chamada enterotoxina VMH (SHINODA *et al.*, 2004) capaz de levar à formação de poros de 2,8 a 3,5 nm de diâmetro na superfície da célula hospedeira e induzir a produção de AMP cíclico em enterócitos. Dessa forma, ativa canais de íons cloro, provocando desequilíbrio de eletrólitos e gerando diarreia (BI *et al.*, 2001;

LI *et al.*, 2005). Produz também uma hemolisina termoestável, Vm-TDH, relacionada com o TDH do *V. parahaemolyticus*, que possui a capacidade de produzir diarreia tipo disenteria. O *V. mimicus* obtém esse gene por transferência horizontal de DNA, já que o gene do TDH se encontra em um transposon (TERAI *et al.*, 1991).

V. mimicus também produz proteases, sendo uma delas conhecida como VMP, que é capaz de mudar a permeabilidade dos vasos sanguíneos e gerar edema (CHOWDHURY *et al.*, 1989).

CONCLUSÃO

Vibrio spp. possuem ampla distribuição em ambientes aquáticos naturais e podem se tornar fatores de risco para o homem, como agentes de doenças transmitidas por alimentos. No entanto, ainda é escasso o conhecimento sobre o impacto desse gênero para a saúde pública, sendo necessários novos estudos com vistas ao melhor entendimento da patogenia de cada espécie.

REFERÊNCIAS

- AMARO, C.; BIOSCA, E.G.; FOUZ, B.; TORANZO, A.E.; GARAY, E. Role of iron, capsule, and toxins in the pathogenicity of *Vibrio vulnificus* biotype 2 for mice. *Infection and Immunity*, v. 62, p. 759-763, 1994.
- BI, K.S.; MIYOSHI, K.; TOMOCHIKA, S.; SHINODA, S. Detection of Virulence Associated Genes in Clinical Strains of *Vibrio mimicus*. *Microbiology and Immunology*, v. 45, n. 8, p. 613-616, 2001.
- BIOSCA, E.G.; OLIVER, J.D.; AMARO, C. Phenotypic characterization of *Vibrio vulnificus* biotype 2, a lipopolysaccharide-based homogeneous O serogroup within *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 62, n. 3, p. 918-927, 1996.
- BURDETTE, D.L.; YARBROUGH, M.L.; ORVEDAHL, A.; GILPIN, C.J.; ORTH, K. *Vibrio parahaemolyticus* orchestrates a multifaceted host cell infection by induction of autophagy, cell rounding, and then cell lysis. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, v. 105, n. 34, p. 12497-12502, 2008.
- BUTLER, S.M.; CAMILLI, A. Both chemotaxis and net motility greatly influence the infectivity of *Vibrio cholerae*. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, v. 101, n. 14, p. 5018-5023, 2004.
- CERDÀ-CUÉLLAR, M.; PERMIN, L.; LARSEN, J.L.; BLANCH, A.R. Comparison of selective media for the detection of *Vibrio vulnificus* in environmental samples. *Journal of Applied Microbiology*, v. 91, n. 2, p. 322-327, 2001.
- CHANG, T.M.; CHUANG, Y.C.; SU, J.H.; CHANG, M.C. Cloning and sequence analysis of a novel hemolysin gene (vIly) from *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, n. 10, p. 3851-3857, 1997.
- CHEN, Y.; STINE, O.C.; BADGER, J.H.; GIL, A.I.; NAIR, G.B.; NISHIBUCHI, M.; FOUTS, D.E. Comparative genomic analysis of *Vibrio parahaemolyticus*: serotype conversion and virulence. *BMC genomics*, v. 12, n. 294, p. 12-294, 2011.
- CHOWDHURY, M.A.R.; YAMANACA, H.; MIYOSHI, S. Ecology of *Vibrio mimicus* in aquatic Environments. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 55, n. 8, p. 2073-2078, 1989.
- COSTA, R.A.; SILVA, G.C.; PEIXOTO, J.R.O.; VIEIRA, G.H.F.; VIEIRA, R.H.S.F. Quantification and distribution of *Vibrio* species in water from an estuary in Ceará-Brazil impacted by shrimp farming. *Brazilian Journal of Oceanography*, v. 58, n. 3, p. 1982-436, 2010.
- DAVIS, B.R.; FANNING, G.R.; MADDEN, J.M. Characterization of biochemically atypical *Vibrio cholerae* strains and designation of a new pathogenic species, *Vibrio mimicus*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 14, n. 6, p. 631-639, 1981.
- DESMARCHELIER, P.M.; REICHEL, J.L. A phenotypic and genetic study of sucrose nonfermenting strains of *Vibrio mimicus* and *Vibrio cholerae*. *Current Microbiology*, v. 10, n. 1, p. 41-48, 1984.
- FUENZALIDA, L.; ARMIJO, L.; ZABALA, B.; HERNÁNDEZ, C.; RIOSECO, M.L.; RIQUELME, C.; ESPEJO, R.T. *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated during investigation of the summer 2006 seafood related diarrhea outbreaks in two regions of Chile. *International Journal of Food Microbiology*, v. 117, n. 3, p. 279-275, 2006.
- FULLNER, K.J.; MEKALANOS, J.J. In vivo covalent cross-linking of cellular actin by the *Vibrio cholerae* RTX toxin. *The EMBO Journal*, v. 19, n. 20, p. 5315-5323, 2000.
- GANDER, R.M.; LAROCCO, M.T. Detection of piluslike structures on clinical and environmental isolates of *Vibrio vulnificus*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 27, p. 1015-1021, 1989.
- GRAY, L.D.; KREGGER, A.S. Purification and characterization of an extracellular cytolysin produced by *Vibrio vulnificus*. *Infection and Immunity*, v. 48, p. 62-72, 1985.
- GULIG, P.A.; BOURDAGE, K.L.; STARKS, A.M. Molecular Pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Journal of Microbiology*, v. 43, p. 118-131, 2005.
- HEITMANN, I.G.; JOFRE, L.M.; HORMAZABAL, O.J.C.; OLEA, A.; VALLEBUONA, C.; VALDES, C. Review and guidelines for treatment of diarrhea caused by *Vibrio parahaemolyticus*. *Revista Chilena de Infectología*, v. 22, n. 2, p. 131-140, 2005.
- HOLLIS, D.G.; WEAVER, R.E.; BAKER, C.N.; THORNSBERRY, C. Halophilic *Vibrio* species isolated from blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 3, n. 4, p. 425-431, 1976.

- HONDA, T.; NI, Y.; MIWATANI, T. Purification and characterization of a hemolysin produced by a clinical isolate of Kanagawa phenomenon-negative *Vibrio parahaemolyticus* and related to the thermostable direct hemolysin. *Infection and Immunity*, v. 56, n. 4, p. 961-965, 1988.
- HUSS, H.H.; ABABOUCHE, L.; GRAM, L. Assessment and management of seafood safety and quality. Fisheries technical paper. *Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO)*, v. 444, p. 31-34, 2004.
- JANBON, G. *Cryptococcus neoformans* capsule biosynthesis and regulation. *FEMS Yeast Research*, v. 4, n. 8, p. 765-771, 2004.
- JOBLING, M.G.; HOLMES, R.K. Characterization of hapR, a positive regulator of the *Vibrio cholerae* HA/protease gene hap, and its identification as a functional homologue of the *Vibrio harveyi* luxR gene. *Molecular Microbiology*, v. 26, n. 5, p. 1023-1034, 1997.
- KAYSNER, C.A.; DEPAOLA JUNIOR, A. *Vibrio*. U.S. Food and Drug Administration, *Bacteriological analytical manual*, Chapter 9. 2004. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070830.htm>>. Acesso em: 29 nov. 2013.
- KELLY, M.T.; STROH, E.M. Urease-positive, Kanagawa-negative *Vibrio parahaemolyticus* from patients and the environment in the Pacific Northwest. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 27, n. 12, p. 2820-2822, 1989.
- KODAMA, T. *Vibrio parahaemolyticus* and the Kanagawa Phenomenon. *Clinical Nutrition*, v. 33, p. 137-141, 1968.
- KRACHLER, A.M.; HAM, H.; ORTH, K. Outer membrane adhesion factor multivalent adhesion molecule 7 initiates host cell binding during infection by Gram-negative pathogens. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, v. 108, n. 28, p. 11614-11619, 2011.
- LEE, S.H.; HAVA, D.L.; WALDOR, M.K.; CAMILLI, A. Regulation and temporal expression patterns of *Vibrio cholerae* virulence genes during infection. *Cell press*, v. 99, n. 6, p. 625-634, 1999.
- LEE, S.E.; SHIN, S.H.; KIM, S.Y.; KIM, Y.R.; SHIN, D.H.; CHUNG, S.S.; LEE, Z.H.; LEE, J.Y.; JOENG, K.C.; CHOI, S.H.; RHEE, J.H. *Vibrio vulnificus* has the transmembrane transcription activator ToxRS stimulating the expression of the hemolysin gene vvhA. *Journal of Bacteriology*, v. 182, n. 12, p. 3405-3415, 2000.
- LI, Y.; OKAMOTO, K.; TAKAHASHI, E. A Hemolysin of *Vibrio mimicus* (VMH) Stimulates Cells to Produce ATP and Cyclic AMP Which Appear to Be Secretory Mediators. *Microbiology and Immunology*, v. 49, n. 1, p. 73-78, 2005.
- LIM, M.S.; DIXON, N.; ZUSHENG, Z.; ANDREW, S.A.; RONALD, K.T.; JOHN, A.T.; LISA, C. *Vibrio cholerae* El Tor TcpA crystal structure and mechanism for pilus-mediated microcolony formation. *Molecular Microbiology*, v. 77, n. 3, p. 755-770, 2010.
- LIN, W.; FULLNER, K.J.; CLAYTON, R.; SEXTON, J.A.; ROGERS, M.B.; CALIA, K.E.; CALDERWOOD, S.B.; FRASER, C.; MEKALANOS, J. Identification of a *Vibrio cholerae* RTX toxin gene cluster that is tightly linked to the cholera toxin prophage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 96, n. 3, p. 1071-1076, 1999.
- LITWIN, C.M.; RAYBACK, T.W.; SKINNER, J. Role of catechol siderophore synthesis in *Vibrio vulnificus* virulence. *Infection and Immunity*, v. 64, n. 7, p. 2834-2838, 1996.
- MARTIN, S.J.; SIEBELING, R.J. Identification of *Vibrio vulnificus* O serovars with antilipopopolysaccharide monoclonal antibody. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 29, n. 8, p. 1684-1688, 1991.
- MARTINEZ-URTAZA, J.; LOZANO-LEON, A.; DEPAOLA, A.; ISHIBASHI, M.; SHIMADA, K.; NISHIBUCHI, M.; LIEBANA, E. Characterization of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolates from clinical sources in Spain and comparison with Asian and North American pandemic isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 10, p. 4672-4678, 2004.
- MEKALANOS, J.J. The Evolution of *Vibrio cholerae* as a Pathogen. *Epidemiological and Molecular Aspects on Cholera Infectious Disease*, p. 97-114, 2011. Disponível em: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-60327-265-0_6#page-1>. Acesso em: 07 out. 2013.
- MESSELHÄUSSER, U.; COLDITZ, J.; THÄRIGEN, D.; KLEIH, W.; HÖLLER, C.; BUSCH, U. Detection and differentiation of *Vibrio* spp. in seafood and fish samples with cultural and molecular methods. *International Journal of Food Microbiology*, v. 149, n. 3, p. 360-364, 2010.
- MORENO, M.L.G.; LANDGRAF, M. Virulence factors and pathogenicity of *Vibrio vulnificus* strains isolated from seafood. *Journal of Applied Microbiology*, v. 84, p. 747-751, 1998.
- MORGAN, S.J.; FELEK, S.; GADWAL, S.; KOROPATKIN, N.M.; PERRY, J.W.; BRYSON, A.B.; KRUKONIS, E.S. The two faces of ToxR: activator of ompU, co-regulator of toxT in *Vibrio cholerae*. *Molecular Microbiology*, v. 81, n. 1, p. 113-128, 2011.
- MORRIS JUNIOR, J.G.; WRIGHT, A.C.; SIMPSON, L.M.; WOOD, P.K.; JOHNSON, D.E.; OLIVER, J.D. Virulence of *Vibrio vulnificus*: association with utilization of transferrin-bound iron, and lack of correlation with levels of cytotoxin or protease production. *FEMS Microbiological Letter*, v. 40, n. 1, p. 55-59, 1987.
- MOUSTAFA, I.; CONNARIS, H.; TAYLOR, M.; ZAITSEV, V.; WILSON, J. C.; KIEFEL, M.J.; ITZSTEIN, M.V.; TAYLOR, G. Sialic Acid Recognition by *Vibrio cholerae* Neuraminidase. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 279, n. 39, p. 40819-40826, 2004.
- NAIM, R.; YANAGIHARA, T.I.; HONDA, T. *Vibrio parahaemolyticus* thermostable direct hemolysin can induce an apoptotic cell death in Rat-1 cells from inside and outside of the cells. *FEMS Microbiology Letters*, v. 195, n. 2, p. 237-244, 2001.
- NASCIMENTO, S.M.M.; VIEIRA, R.H.S.F.; THEOPHILO, G.N.D. *Vibrio vulnificus* as a health hazard for shrimp consumers. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 43, n. 5, p. 263-266, 2001.
- PARANJPYE, R.; HAMEL, O.S.; STOJANOVSKI, A.; LIERMANN, M. Genetic Diversity of Clinical and Environmental *Vibrio parahaemolyticus* Strains from the Pacific Northwest. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 78, n. 24, p. 8631-8638, 2012.
- PENDUKA, D. *In-vitro anti-vibrio activities of crude extracts of Garcinia kola seeds*. 2002. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciência Microbiológica). Faculty of Science and Agriculture, University of Fort Hare, Alice, 2011.

- RAYCHOUDHURI, A.; MUKHERJEE, P.; RAMAMURTHY, T.; NANDY, R.K.; TAKEDA, Y.; NAIR, G.B.; MUKHOPADHYAY, A.K. Genetic analysis of CTX prophages with special reference to ctxB and rstR alleles of *Vibrio cholerae* O139 strains isolated from Kolkata over a decade. *FEMS Microbiology Letters*, v. 303, n. 2, p. 107-115, 2010.
- RUTHERFORD, S.T.; VAN KESSEL, J.C.; SHAO, Y.; BASSLER, B.L. AphA and LuxR/HapR reciprocally control quorum sensing in vibrios. *Genes e Development*, v. 25, p. 397-408, 2011.
- SAFA, A.; NAIR, G.B.; KONG, R.Y.C. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends in microbiology*, v. 18, n. 1, p. 46-54, 2010.
- SHINODA, S.; NACAGAWA, T.; BI, K. Distribution of virulence associated genes in *Vibrio mimicus* isolates from clinical and environmental origins. *Microbiology and Immunity*, v. 48, n. 7, p. 547-551, 2004.
- SIDEBOTHAM, R.L.; BARON, J.H. Hypothesis, *Helicobacter pylori*, urease, mucus and gastric ulcer. *Lancet*, v. 335, n. 8683, p. 193-195, 1990.
- SIMPSON, L.M.; WHITE, V.K.; ZANE, S.F.; OLIVER, J.D. Correlation between virulence and colony morphology in *Vibrio vulnificus*. *Infection and Immunity*, v. 55, n. 1, p. 269-272, 1987.
- SMITH, A.B.; SIEBELING, R.J. Identification of genetic loci required for capsular expression in *Vibrio vulnificus*. *Infection and Immunity*, v. 71, p. 1091-1097, 2003.
- SOUSA, O.V.; VIEIRA, R.H.S.; MENEZES, F.G.R.; REIS, C.M.F.; HOFER, E. Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* in oyster, *Crassostrea rhizophorae*, collected from a natural nursery in the Cocó river estuary, Fortaleza, Ceará, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 46, n. 2, p. 36-4665, 2004.
- STELMA JUNIOR, G.N.; REYES, A.L.; PEELER, J.T.; JOHNSON, C.H.; SPAULDING, P.L. Virulence characteristics of clinical and environmental isolates of *Vibrio vulnificus*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, p. 2776-2782, 1992.
- SYED, K.A.; KLOSE, K.E. *Vibrio cholerae* flagellar synthesis and virulence. In: GOWDER, S. *Cholera*. InTech, 2011. Disponível em: <http://cdn.intechopen.com/pdfs/34051/InTech-vibrio_cholerae_flagellar_synthesis_and_virulence.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2013.
- TALL, A.; HERVIO-HEATH, D.; TEILLON, A.; BOISSET-HELBERT, C.; DELESMONT, R.; BODILIS, J.; TOURON-BODILI, A. Diversity of *Vibrio* spp. isolated at ambient environmental temperature in the Eastern English Channel as determined by *pyrH* sequencing. *Journal of applied microbiology*, v. 114, n. 6, p. 1713-1724, 2013.
- TERAI, A.; BABA, K.; SHIRAI, H. Evidence for insertion sequence mediated spread of the thermostable direct hemolysin gene among *Vibrio* species. *Journal of Bacteriology*, v. 173, n. 16, p. 5036-5046, 1991.
- TESTA, J.; DANIEL, L.W.; KREGER, A.S. Extracellular phospholipase A2 and lysophospholipase produced by *Vibrio vulnificus*. *Infection and Immunity*, v. 45, n. 2, p. 458-463, 1984.
- ULUSARAC, O.; CARTER, E. Varied clinical presentations of *Vibrio vulnificus* infections: a Report of Four Unusual Cases and Review of the Literature. *Southern Medical Journal*, v. 97, n. 2, p. 163-168, 2004.
- VIEIRA, M.A.M. Ilhas de patogenicidade. *O Mundo da Saúde*, v. 33, n. 4, p. 406-414, 2009.
- WANG, L.; LING, Y.; JIANG, H.; QIU, Y.; QIU, J.; CHEN, H.; YANG, R.; ZHOU, D. AphA is required for biofilm formation, motility, and virulence in pandemic *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*, v. 160, n. 3, p. 245-251, 2013.
- WEST, C.K.G.; KLEIN, S.L.; LOVELL, C.R. High Frequency of Virulence Factor Genes *tdh*, *trh*, and *tlh* in *Vibrio parahaemolyticus* Strains Isolated from a Pristine Estuary. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 79, n. 7, p. 2247-2252, 2013.
- WRIGHT, A.C.; SIMPSON, L.M.; OLIVER, J.D.; MORRIS, J.G. Phenotypic evaluation of acapsular transposon mutants of *Vibrio vulnificus*. *Infection and Immunity*, v. 58, p. 1769-1773, 1990.
- WRIGHT, A.C.; SIMPSON, L.M.; OLIVER, J.D. Role of iron in the pathogenesis of *Vibrio vulnificus* infections. *Infection and Immunity*, v. 34, n. 2, p. 503-507, 1981.
- ZHANG, L.; KRACHLER, A.M.; BROBERG, C.A.; LI, Y.; MIRZAEI, H.; GILIP, C.J.; ORTH, K. Type III effector VopC mediates invasion for *Vibrio* species. *Cell Reports*, v. 1, n. 5, p. 453-460, 2012.
- ZHAO, Y.; TANG, X.; ZHAN, W. Cloning, expressing, and hemolysis of *tdh*, *trh* and *tlh* genes of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Ocean University of China*, v. 10, n. 3, p. 275-279, 2011.