



# Universidad Austral de Chile

Facultad de Ciencias

Escuela de Ciencias

## **PROFESOR PATROCINANTE:**

Dr. Heriberto Fernández Jaramillo

Instituto de Microbiología Clínica

Facultad de Medicina

## **ESPECIES DEL GENERO *CAMPYLOBACTER* Y DEL GENERO *ARCOBACTER* EN MUESTRAS DE DEPOSICIONES HUMANAS Y ANIMALES**

**Tesis de Grado presentada como  
parte de los requisitos para optar  
al Grado de Licenciado e Ciencias  
Biológicas.**

**MARYORIS GLADYS JARA GACITUA**

**VALDIVIA – CHILE**

**2006**

**Este trabajo fue realizado en el  
Instituto de Microbiología  
Clínica de la Facultad de  
Medicina y contó con el  
financiamiento del Proyecto  
FONDECYT 1030245**

***Dedicada a mis Padres Gladys e Iván:***

*Doy gracias a Dios, por poderles brindar este día y agradecer todos los sacrificios que han hecho, por todo el amor, confianza y comprensión que me entregan y por haberme dejado esta maravillosa herencia.*

*Con Amor Maryoris.*

## **AGRADECIMIENTOS**

- Quiero expresar mi afecto y agradecimiento al Profesor Heriberto Fernández, por toda la confianza, apoyo, sabiduría, amistad y dedicación que me ha entregado.
- A todo el personal del Instituto de Microbiología Clínica, en especial a la Sra. Isolde, Sra. Paty y don Pancho, gracias por la linda amistad y apoyo que me brindaron.
- A mis compañeros de instituto en especial a María Paz, Mario, Ingrid, Luis Ruiz y Luis Collado, gracias por toda la ayuda, preocupación y por todos los momentos que pasamos juntos, que hicieron más gratas las largas jornadas de trabajo.
- A Victoria, Pamela y Loreto, gracias por ayudarme en la recolección de muestras.
- A mi hermano y amigo Ronald, gracias por el amor que me entregas.
- A mi tía Lida por quererme y apoyarme desde el día que nací.
- A mi hermano Víctor y Alicia, por todo el cariño y gran apoyo que me dan.
- A mi gran amiga Tere, por estar siempre conmigo, por todo el cariño, apoyo y confianza que depositas en mí. Por hacerme parte de tu vida y compartir tu familia y amistades conmigo, gracias por ayudarme a crecer.
- A la Sra. Teresita, gracias por hacerme sentir como alguien más de su linda familia.
- A mis amigas y compañeras de carrera Karin, Yovi, Carito, Loreto y en especial a mi amiga Fernanda, gracias por la linda amistad que nos une y por todos los momentos que compartimos, por su incondicional apoyo durante toda mi vida universitaria.
- A mis amigos Pato, Mauro, Pili, Meche, Xime, Luti, Gladys, Rosita, Vivi y Luis, gracias por toda la ayuda, el cariño, preocupación y linda amistad que me han entregado.

## INDICE

Materia	Página
1. RESUMEN	1
1.2 SUMMARY	2
2. INTRODUCCION	3
3. MATERIAL Y MÉTODOS	11
3.1 Obtención de Muestras y Transporte	11
3.2 Método de Aislamiento	12
3.2.1 <u>Campylobacter</u>	12
3.2.2 <u>Arcobacter</u>	12
3.3 Identificación	14
3.3.1 Identificación Presuntiva	14
3.3.2 Identificación Definitiva	14
3.3.2.1 <u>Campylobacter</u>	14
3.3.2.2 <u>Arcobacter</u>	16
3.4 Medios de cultivo y reactivos utilizados	20
3.4.1 Medio de transporte Cary-Blair líquido	20
3.4.2 Agar Sangre	20
3.4.3 Medio Skirrow Modificado	21
3.4.4 <i>Arcobacter</i> Selective Isolation Broth (caldo Houf)	22
3.4.5 <i>Arcobacter</i> Selective Isolation Agar (medio Houf)	23

## INDICE

<b>Materia</b>	<b>Página</b>
<b>3.4.6 Medio para H<sub>2</sub>S</b>	<b>23</b>
<b>3.4.7 Solución de Hipurato de Sodio</b>	<b>24</b>
<b>3.4.8 Solución de Ninhidrina al 3%</b>	<b>24</b>
<b>3.4.9 Agar DNA</b>	<b>25</b>
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>26</b>
<b>5. DISCUSIÓN</b>	<b>32</b>
<b>6. LITERATURA CITADA</b>	<b>39</b>

## 1. RESUMEN

En este estudio se determinó la frecuencia de aislamiento de especies de *Campylobacter* y *Arcobacter* en un total de 305 muestras fecales, 85 de origen humano y 220 de origen animal. En el aislamiento de ambas bacterias, se utilizaron las técnicas de filtración sobre agar sangre y siembra en medios selectivos. La identificación de especie se realizó según el esquema de Lior para *Campylobacter* sp. y la técnica de múltiplex PCR descrita por Houf, para *Arcobacter* sp.

La prevalencia de *Campylobacter* sp. en niños con diarrea fue de 25,7%, mientras que en niños sin diarrea no fueron obtenidos cultivos positivos para esta bacteria. En cuanto a la búsqueda de *Arcobacter* sp. sólo se detectó, en niños con diarrea, una muestra positiva, correspondiente al 2,9%.

En animales, *Campylobacter* sp. fue aislado desde perros (22,9%), gatos (31,3%), gallinas (38,1%) y patos (15,0%). En tanto que *Arcobacter* sp. sólo fue aislado de gallinas (22,2%). Estos resultados concuerdan con los obtenidos anteriormente en esta ciudad y en otros países de América Latina.

Respecto a los medios de cultivos utilizados, la siembra en los medios selectivos de Skirrow y Houf, obtuvieron un rendimiento superior a la técnica de filtración sobre agar sangre, considerándose una buena opción para el aislamiento de estas bacterias.

## 1.2 SUMMARY

In this study, the isolation frequency of *Campylobacter* and *Arcobacter* was determined in 305 fecal samples, 85 of human and 220 of animal origin. For the isolation of both kinds of bacteria selective media and filtration technique on blood agar plates were used. The identification of *Campylobacter* was made following Lior's scheme whereas *Arcobacter* was identified by the PCR technique described by Houf.

The prevalence of *Campylobacter* in diarrheic children was 25.7% being this bacterium not found in normal children. *Arcobacter* was found only in one (2.9%) child with diarrhea.

With regard to animals, *Campylobacter* was isolated from dogs (22.9%), cats (31.3%), hens (38.1%) and ducks (15.0%). *Arcobacter* was isolated only from hens (22.2%). These results are in accordance with that obtained previously in Valdivia and also in other regions of Latin America.

The performances of the selective media described by Skirrow and Houf were higher than that showed by the filtration technique, being considered as a suitable option for the isolation of these bacteria.



## 2. INTRODUCCION

En los últimos años, las especies termotolerantes de *Campylobacter* y *Arcobacter*, han emergido como una causa común de gastroenteritis en seres humanos. Estos microorganismos, ampliamente distribuidos en el mundo, tienen como reservorios naturales una gran variedad de especies animales, tanto domésticas como de vida libre, los cuales pueden ser fuente de contaminación para el ser humano, el medio ambiente y alimentos de origen animal (Fernández et al. 2004; Fernández et al. 2005; Giacoboni et al. 1999; Giacoboni et al. 1999; Lerner et al. 1994; Mansfield y Forsythe, 2000; Tresierra et al. 1995).

Aunque la clasificación de estas bacterias está en continua revisión y modificación, en la actualidad pertenecen a la familia *Campylobacteraceae*, clase *Proteobacteria*, división *Gracillicutes*, que agrupa a dos géneros, *Campylobacter* (género tipo de la familia) con más de veinte especies y subespecies y *Arcobacter* con cuatro especies (On, 2001; Vandamme y De Ley, 1991; Vandamme et al. 1992).

Las primeras observaciones microscópicas de bacterias semejantes a *Campylobacter* fueron hechas por Escherich, en 1886 a partir de materia fecal de niños y gatos con diarrea y, aunque no pudo realizar los aislamientos, las denominó *Vibrio felinus*. Estudios posteriores en el área de la microbiología veterinaria permitieron que, en los años 1909 y 1913, Mac Fadyean y Stockman, llevaran a cabo el primer aislamiento de especies del género *Campylobacter*. Posteriormente, Smith en 1918, estableció la participación de una bacteria microaerófila de morfología similar a las especies del

género *Vibrio*, en el aborto del ganado bovino y ovino. En 1919, estas observaciones se confirmaron cuando Smith y Taylor aislaron un microorganismo de idénticas características en líquidos obtenidos de fetos bovinos abortados al cual denominaron *Vibrio fetus*.

En 1931, Jones y Litle aislaron un vibrión microaerófilo a partir de bovinos con disturbios intestinales, el que era capaz de reproducir la diarrea en animales normales infectados experimentalmente. Fue considerado el agente de diarrea de invierno del ganado, y lo denominaron *Vibrio jejuni*. Posteriormente, en 1944, Doyle aisló un vibrión de similares características a partir de cerdos con diarrea, el que fue denominado *Vibrio coli* y considerado el agente causante de diarrea porcina (Kahler, 1990).

En 1946, Levy establece la primera relación entre los vibriones microaerófilos descritos anteriormente en animales con la producción de diarrea en el hombre, al estudiar un importante brote de gastroenteritis en una población penal del Estado de Illinois, que afectó a 357 personas, observándose en el 20% de las muestras de deposiciones, la presencia de formas bacterianas semejantes a vibrios, las cuales no se consiguieron aislar por los métodos habituales. Luego, en 1957, E. King, estudiando cepas de vibrios de diferentes orígenes, estableció que existían dos grupos distintos, con características serológicas y bioquímicas diferentes, por lo tanto, no todas eran *Vibrio fetus*, ya que mientras algunos eran capaces de crecer bien a 25 y 37°C, otros lo hacían a 42°C. A estos últimos los denominó "*Vibrio relacionados*", y sugirió que eran causantes de diarrea aguda en el hombre (Fernández y Farase, 2003; Kahler, 1990; Riquelme, 1994; Salazar, 1989).

Fue hasta el año 1963, cuando Sébald y Véron, demostraron que los vibrios microaerófilos descritos tanto en animales como en el hombre, poseían características genotípicas y fenotípicas distintas a las especies del género *Vibrio*. Por lo tanto, basándose en estas y otras diferencias, proponen la creación de un nuevo género, llamado *Campylobacter* proveniente del griego *Campylo*: curvo y *bacter*: bacteria (Fernández, 1984; Figueroa et al. 1982)

Los primeros aislamientos a partir de deposiciones humanas fueron realizados por Cooper y Slee (1971) en Australia y Dekeyser et al. (1972) en Europa. Posteriormente, autores como Butzler y Skirrow (1979), Blazer et al. (1979) y Bolton y Robertson (1982), desarrollaron medios selectivos que facilitaron el aislamiento de estos microorganismos, estableciendo su participación en diferentes cuadros infecciosos en el hombre (Fernández y Farase, 2003)

El género *Campylobacter* comprende bacilos Gram negativos de morfología curva, espiralada o con forma de "S" itálica, con un tamaño que varía entre los 0,2 a 0,9  $\mu\text{m}$  de ancho y 0,5 a 5  $\mu\text{m}$  de largo. Son móviles por flagelación monótrica o anfítrica, que le proporciona un moviendo característico, con giros rápidos sobre su propio eje en forma de sacacorchos, característica por la cual su presencia puede ser distinguida de otras bacterias, por microscopía de contraste de fase (Fernández, 1983; Fernández, 1992; Fernández et al. 2000; Karmali y Fleming, 1979; Pead, 1979).

Para su desarrollo requieren de un tiempo de incubación, que va desde 48 horas para especies pertenecientes al grupo termotolerante (*C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari*), hasta 5 a 7 días para otras especies integrantes de la familia, junto con una atmósfera de

microaerofilia estricta, cuya composición fluctúa entre un 5 – 10% de  $O_2$  y un 3 – 10% de  $CO_2$ . También requieren de una temperatura y pH determinados, siendo para las especies termotolerantes los 42°C la temperatura ideal y a la cual alcanzan su mayor desarrollo, pudiendo también ser incubadas a 37°C. Para el grupo de los no termotolerantes, 37°C es la temperatura a la que mejor se desarrollan. Respecto al pH del medio, este deberá encontrarse en el rango de 6,5 a 7,5 (Doyle y Roman, 1981; Fernández, 1984; Fernández et al. 2000; Hodge y Krieg, 1994; Luechtefeld y Wang, 1982; Murray, 1995).

No forman esporas pero, en cultivos de varios días (más de tres), adquieren formas esféricas u ovoides, que han perdido su capacidad para multiplicarse en medios de cultivos inertes, siendo consideradas como formas viables no cultivables (Boucher, 1994). Son quimioorganotróficos, no utilizan los hidratos de carbono como fuente principal de energía, siendo los aminoácidos u otros compuestos intermediarios del ciclo de los ácidos tricarbónicos, necesarios para su desarrollo. Además son oxidasa positivos y catalasa positivos o variables (Fernández et al. 2000; Mehlman y Romero, 1982; Smibert, 1978).

En general, las colonias de *Campylobacter* son pequeñas, planas, lisas, brillantes y efusas, con tendencia a difundirse a lo largo de la estría de inoculación. En ocasiones cuando el medio es fresco y contiene bastante humedad, se observa la formación de un velo sobre la superficie del agar, lo cual se debe al movimiento activo de las bacterias. Como consecuencia de una incubación prolongada, se pueden observar colonias un

tanto convexas, de color ámbar y que a veces presentan un brillo metálico (Fernández, 1984; Hernández, 2002).

*Campylobacter* es un germen ubicuo, cuyo reservorio natural es el tracto gastrointestinal de una amplia variedad de animales, tanto domésticos como de vida libre, de los cuales se pueden destacar perros, gatos, bovinos, ovinos, porcinos, equinos, roedores y aves en general, incluyendo aves de corral y silvestres. También ha sido aislado de agua, alimentos de origen animal como carne y leche, medio ambiente y ser humano (Blaser, 1983; Fernández, 1983; Fernández et al. 2000; Figueroa y Araya, 1985; Fox, 1982).

La transmisión de la infección es por vía fecal-oral, ya sea por la ingestión de agua o alimentos contaminados o por el contacto directo con deposiciones de animales portadores o enfermos (Blaser, 1983; Fernández, 1988; Fernández et al. 2000).

Las especies que producen manifestaciones clínicas en el hombre son *Campylobacter jejuni*, *C. coli* y *C. lari*, induciendo cuadros de diarrea inflamatoria que pueden caracterizarse por deposiciones disgregadas o acuosas, con presencia de sangre y mucus, las que se ven favorecidas por los factores de predisposición del huésped y mecanismos de patogenicidad de la bacteria (Butzler, 1981; Fernández et al. 2000; Fernández y Farase, 2003; Hernández, 2002; Skirrow y Benjamin, 1977).

Las bacterias que constituyen el actual género *Arcobacter* fueron aisladas por primera vez en el año 1977 por Ellis y col., a partir de fetos bovinos abortados. En un comienzo fueron consideradas como organismos aerotolerantes capaces de crecer a 30°C, muy semejantes al género *Campylobacter* e incorporadas a éste, pasando a conformar las

especies *Campylobacter butzleri*, *C. cryaerophilus*, *C. skirrowii* y *C. nitrofigilis*. Antecedentes proporcionados por el área molecular (inmunotipificación e hibridación del DNA), permitieron comprobar que no existía una relación genotípica con el género *Campylobacter*. Fue así como, en 1991, Vandamme propone el nuevo género *Arcobacter* para clasificar estos microorganismos (Neil, 1978; Thompson et al. 1988; Vandamme et al. 1991; Vandamme et al. 1992; Wesley et al. 1995).

El género *Arcobacter* (del latín *arcus*: arco y del griego *bacter*: bacteria), pertenece a la familia *Campylobacteraceae*, clase *Proteobacteria*, división *Gracillicutes* y se reconocen cuatro especies: *A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii* y *A. nitrofigilis* (On, 2001; Vandamme et al. 1992).

Este género posee características morfológicas similares al género *Campylobacter*, pero se diferencia por su tamaño que fluctúa entre los 0,2 a 0,6  $\mu\text{m}$  de diámetro y 1 a 3  $\mu\text{m}$  de largo y por su capacidad de crecer en condiciones de aerobiosis y de microaerofilia, en un rango de temperatura entre los 15 y 37°C, con un óptimo de 30°C. Es de crecimiento relativamente lento y se desarrolla bien en medios que contengan peptona y extracto de levadura, además son catalasa y oxidasa positivos (Atabay y Corry, 1998; De Oliveira et al. 1999; Eifert et al. 2003; Fera et al. 2003; Golla et al. 2002; Jonson y Murano, 1999; Öngör et al. 2004; Tee et al. 1988).

Los reservorios naturales del género *Arcobacter* son muy variados, se pueden destacar el tracto intestinal de hombres y animales, órganos reproductivos de animales, depósitos de agua, alcantarillado y plantas de ambiente salino. También ha sido aislado de fetos abortados de porcinos, bovinos, ovinos y equinos, leche de vacas con mastitis

y suinos con problemas reproductivos (Anderson et al. 1993; De Oliveira et al. 1997; De Oliveira et al. 2001; Nachamkim y Blaser, 2000).

La vía de transmisión para el hombre es fecal-oral y está dada por el consumo de agua, leche no pasteurizada, alimentos crudos o mal cocidos de origen animal, como carne de bovino, porcino y aves que estén contaminadas con el microorganismo (Cancino, 2002; Doyle y Roman, 1982; Fathey et al. 1995; Giacoboni et al. 1997; Jacob et al. 1998).

De las cuatro especies que conforman este género, sólo tres de ellas provocan manifestaciones clínicas en el hombre. *A. butzleri* y *A. cryaerophilus*, han sido aisladas de pacientes con bacteremia, apendicitis, endocarditis, peritonitis y diarrea, mientras que *A. skirrowii* sólo ha sido asociada a un caso de diarrea crónica en adulto (Anderson et al. 1993; Engberg et al. 2000; Houf et al. 2001; Hsueh et al. 1997; Woo et al. 2001).

Las infecciones por *Campylobacter* y *Arcobacter* constituyen zoonosis de distribución mundial que han sido descritas tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. En nuestro país la epidemiología se asocia más con contaminación fecal del ambiente, afectando principalmente a niños de corta edad, lo cual ha motivado la búsqueda de las diferentes fuentes de contaminación aceptándose, hoy, que los animales son el principal reservorio y vía de contagio. Es por esta razón que en este estudio se pretende entregar datos actualizados sobre la presencia de estos microorganismos en nuestro medio, para lo cual nos hemos propuesto la siguiente hipótesis y objetivos.

## Hipótesis de Trabajo

*Campylobacter sp.* y *Arcobacter sp.* son agente causal de diarrea en niños menores de cinco años y pueden ser aislados de reservorios animales.

## Objetivo General

Establecer la frecuencia de aislamientos de especies de *Campylobacter* y *Arcobacter* en materia fecal de niños y animales.

## Objetivos Específicos

1. Establecer la frecuencia de aislamiento de especies de los géneros *Campylobacter* y *Arcobacter* en niños con diarrea.
2. Establecer la frecuencia de portadores de *Campylobacter* y *Arcobacter* en niños sin diarrea.
3. Establecer la frecuencia de aislamiento de especies de los géneros *Campylobacter* y *Arcobacter* en deposiciones de animales (aves y mamíferos).
4. Establecer la frecuencia de los diferentes biotipos de *Campylobacter* aislados.
5. Comparar la eficacia del aislamiento de estas bacterias utilizando medios selectivos y el aislamiento por filtración.



### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 Obtención de Muestras y Transporte

Entre Noviembre del 2004 y Octubre del 2005, se estudiaron un total de 305 muestras fecales, 85 de origen humano y 220 de origen animal.

De las muestras humanas, 35 corresponden a niños con diarrea y 50 a niños sin diarrea, todos menores de cinco años de edad, provenientes de los siguientes lugares:

- Servicio de Pediatría del Hospital Regional de Valdivia
- Consultorio Francia
- Hogar Belén
- CONIN
- Consulta Particular

Las muestras de origen animal corresponden a 105 perros, 32 gatos, 63 gallinas y 20 patos, las cuales fueron obtenidas en los siguientes lugares:

- Clínicas Veterinarias
- Zonas rurales de la región

Todas las muestras fueron tomadas con tórula estéril, mediante hisopado rectal o cloacal, o bien por evacuación espontánea, colocadas en medio de transporte Cary-Blair líquido (aprox. 3ml) y almacenadas a 4°C hasta el momento de siembra, la cual no excedió de 48 horas.

### **3.2 Método de Aislamiento**

Las muestras fueron procesadas dentro del tiempo señalado, utilizando medios de cultivos, que permitieran el aislamiento de especies del género *Campylobacter* y *Arcobacter* (Esquema I).

#### **3.2.1 Campylobacter:**

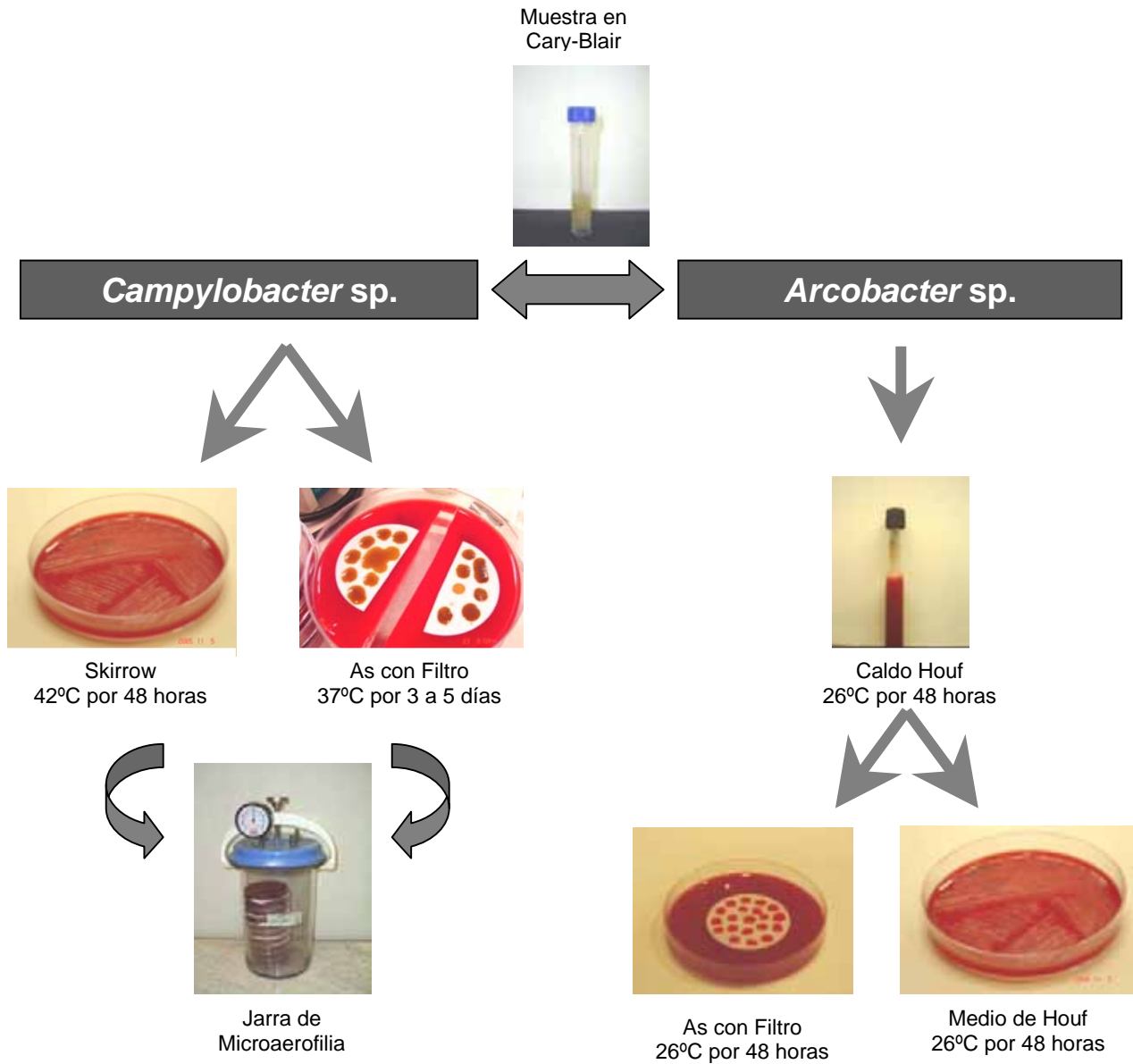
Se depositaron 2 a 3 gotas de la muestra previamente homogeneizada, en un extremo de la placa de medio selectivo Skirrow modificado, una vez transcurrido el tiempo de secado, se diseminó por estrías y se incubó en microaerofilia, a 42°C por 48 horas. En forma paralela se usaron 200 µl de la muestra, los que fueron depositados sobre un filtro de triacetato de celulosa, de 47 mm de diámetro y poros de 0,45 µm colocado sobre la superficie de una placa de agar sangre. Después de 30 min aproximadamente los filtros fueron retirados en forma aséptica y las placas incubadas en microaerofilia a 37°C por 3 a 5 días.

#### **3.2.2 Arcobacter:**

Se depositaron 200 µl de la muestra, en tubos que contenían el caldo de enriquecimiento Houf, los que fueron incubados a 26°C, en aerobiosis por 48 horas. Transcurrido este tiempo, se tomaron 2 a 3 gotas del caldo y se sembraron en una placa de Houf sólido. En forma paralela se tomaron 200 µl del caldo y se depositaron en una placa de agar sangre con filtro. Una vez retirado el filtro, ambas placas fueron incubadas a 26°C en aerobiosis por 48 horas.

## ESQUEMA I

**Procesamiento de muestras para el aislamiento de especies del género *Campylobacter* y *Arcobacter*.**



### 3.3 Identificación

#### 3.3.1 Identificación Presuntiva

Una vez concluido el periodo de incubación, las placas fueron examinadas macroscópicamente seleccionando las colonias sospechosas, las que se sometieron a un estudio de morfología bacteriana a través de la tinción de Gram, utilizando fucsina en vez de safranina como colorante de contraste. Además se realizaron preparaciones a fresco, las que fueron observadas en microscopía de contraste de fase, para ver motilidad característica. Si las colonias correspondían a bacilos gram negativos curvos, con movimiento similar a un sacacorchos, se les realizaron las pruebas de catalasa y oxidasa, identificándose presuntivamente como *Campylobacter sp.* o *Arcobacter sp.*, según el medio de crecimiento, la temperatura y al atmósfera de incubación.

#### 3.3.2 Identificación Definitiva

##### 3.3.2.1 Campylobacter:

Aquellas cepas definidas como *Campylobacter sp.*, fueron identificadas a través de las pruebas bioquímicas descritas por Vandamme y De Ley en 1991 (Tabla 1 Pág.17), determinándose, además de especie, los distintos biotipos propuestos por Lior en 1984 (Tabla 2 Pág. 17).

- **Producción de ácido sulfhídrico**

Esta prueba se realiza depositando una asada abundante de un cultivo bacteriano de 24 horas, en el tercio superior del medio de cultivo para  $H_2S$ , teniendo cuidado que el inóculo quede suspendido sin disgregarse. Este medio se incuba en baño termorregulado a  $37^{\circ}C$  por 2 horas. La reacción se considera positiva, cuando aparece alrededor del inóculo una coloración negra, que indica la producción de hidrógeno sulfurado (Fig.1).

- **Hidrólisis de Hipurato de Sodio**

Se suspende una asada de la cepa en estudio en 0,4 ml de una solución de hipurato de sodio al 1%, posteriormente se incuba en baño termorregulado a  $37^{\circ}C$  por 2 horas. Al término de este periodo se agregan 0,2 ml del reactivo de ninhidrina al 3,5%, reincubándose por 10 minutos más. La reacción se considera positiva cuando aparece una coloración azul violeta en el medio, lo que indica la presencia de glicina, uno de los productos finales de la hidrólisis del hipurato y se considera negativa cuando no hay cambio de color en el medio manteniendo la coloración amarilla de la ninhidrina (Fig. 2).

- **Crecimiento a  $26^{\circ}C$ ,  $37^{\circ}C$  y  $42^{\circ}C$**

Se realiza sembrando las cepas en placas de agar sangre e incubándolas en microaerofilia a sus respectivas temperaturas. La presencia de desarrollo bacteriano en el área sembrada se considera un crecimiento positivo.

- **Sensibilidad al ácido nalidíxico y cefalotina**

La sensibilidad se estableció simultáneamente para varias cepas, tomando un inóculo de la bacteria y sembrándola radialmente alrededor de cada sensidisco, tanto de ácido nalidíxico como de cefalotina. Las placas fueron incubadas a 37°C en microaerofilia por 48 horas. Se consideraron sensibles las cepas que presentaron inhibición del crecimiento alrededor del sensidisco y aquellas que no presentaron inhibición fueron consideradas resistentes (Fig.3).

- **Hidrólisis de DNA**

Se toma un inóculo denso de un cultivo bacteriano de 24-48 horas y se deposita en el medio DNAsa propuesto por Lior (1984), luego se incuba a 42°C en microaerofilia por 48 horas. La reacción se considera positiva cuando hay hidrólisis del DNA, apareciendo un halo claro que tiende a una coloración rosada muy suave alrededor del inóculo y es considerada negativa, cuando no hay cambio de color en el medio (Fig. 4).

### 3.3.2.2 Arcobacter:

Las cepas definidas presuntivamente como *Arcobacter sp.* fueron identificadas en forma definitiva mediante la técnica de Múltiple PCR propuesta por Houf et al. el año 2000.





**Figura 1.** Producción de H<sub>2</sub>S. El tubo del lado izquierdo muestra una reacción positiva y el tubo del lado derecho y una reacción negativa.

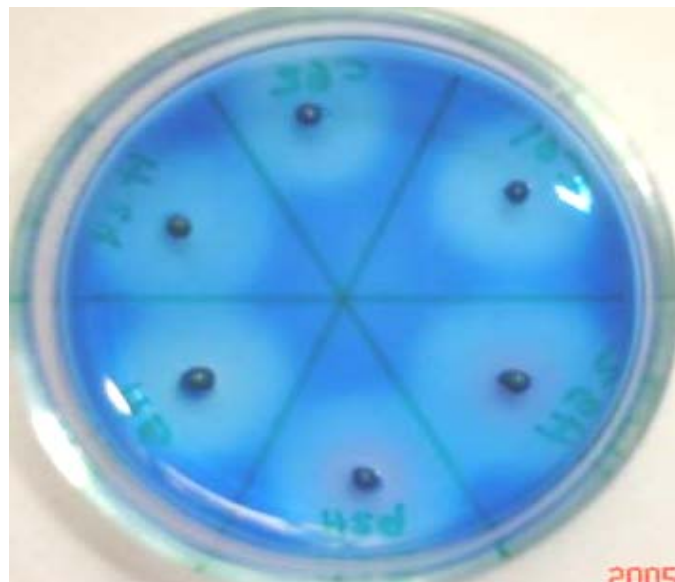


**Figura 2.** Hidrólisis del hipurato. El tubo del lado izquierdo muestra una reacción positiva y el tubo del lado derecho y una reacción negativa.





**Figura 3.** Sensibilidad al ácido nalidíxico. El halo de inhibición en torno al sensidisco indica que la bacteria es sensible al antibiótico.



**Figura 4.** Hidrólisis de DNA. El halo claro alrededor del inóculo indica reacción positiva.

### 3.4 Medios de cultivo y reactivos utilizados:

#### 3.4.1 Medio de transporte Cary-Blair líquido

Fórmula para 1000 ml

NaCl	5,0 g
Tioglicolato de sodio	1,5 g
L-Cisteína	0,5 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,1 g
CaCl <sub>2</sub>	0,1 g
NaHSO <sub>3</sub>	0,1 g
Agua destilada	1000 ml

Se disuelven todos los componentes menos la L-Cisteína en el agua destilada, se esteriliza en el autoclave (121°C por 15 min.). Luego se deja enfriar para adicionar la L-Cisteína y se distribuyen asépticamente alícuotas de 3 ml en tubos de plástico con tapa rosca, previamente esterizados.

#### 3.4.2 Agar Sangre

Fórmula para 1000 ml

Medio base:

Agar Mueller – Hinton (Oxoid, CM 337)	38 g
Extracto de levadura (Oxoid, L 21)	5 g
Agua destilada	950 ml

Sangre desfibrinada de cordero o humana 50 ml

Se disuelve el medio base en el agua destilada, se lleva a ebullición y se esteriliza en autoclave (121°C por 15 min.). Luego se deja enfriar hasta una temperatura de 50°C para adicionar la sangre, homogenizar y distribuir asépticamente en placas de Petri.

### 3.4.3 Medio Skirrow Modificado

Fórmula para 1000 ml

#### Medio base:

Agar Brucella	43 g
Agua destilada	950 ml
Sangre desfibrinada de cordero o humana	50 ml

#### Mezcla antibiótica:

Vancomicina	10 mg
Trimetoprim	5 mg
Polimixina B	2.500 U.I
Cefalotina	10 mg

#### Suplemento FBP:

Sulfato ferroso	0.5 g
Metabisulfito de sodio	0.5 g
Piruvato de sodio	0.5 g

Se disuelve el medio base y el suplemento FBP en el agua destilada, se lleva a ebullición y se esteriliza en autoclave (121°C por 15 min.). Luego se deja enfriar hasta

una temperatura de 50°C, se le adiciona la mezcla antibiótica y la sangre, se homogeniza y se distribuye asépticamente en placas de Petri.

#### **3.4.4 *Arcobacter* Selective Isolation Broth (caldo Houf)**

Fórmula para 1000 ml

##### Medio base:

<i>Arcobacter</i> broth (Oxoid. CM 965)	24 g
Agua destilada	950 ml
Sangre desfibrinada de cordero o humana	50 ml

##### Mezcla antibiótica:

Anfotericina B	10 mg
Cefoperazona	16 mg
5-fluorouracil	100 mg
Novobiocina	32 mg
Trimetoprim	64 mg

Se disuelve el medio base en el agua destilada, se lleva a ebullición y se esteriliza en autoclave (121°C por 15 min.). Luego se deja enfriar para adicionar la mezcla antibiótica y la sangre, se homogeniza y se distribuyen asépticamente alícuotas de 10 ml en tubos de vidrio.

### 3.4.5 *Arcobacter* Selective Isolation Agar (medio Houf)

Fórmula para 1000 ml

Medio base:

<i>Arcobacter</i> broth (Oxoid, CM 965)	24 g
Agar bacteriological N° 1 (Oxoid, LP 11)	16 g
Agua destilada	950 ml
Sangre desfibrinada de cordero o humana	50 ml

Mezcla antibiótica:

Anfotericina B	10 mg
Cefoperanzona	16 mg
5-fluorouracil	100 mg
Novobiocina	32 mg
Trimetoprim	64 mg

Se disuelve el medio base en el agua destilada, se lleva a ebullición y se esteriliza en autoclave (121°C por 15 min.). Luego se deja enfriar hasta una temperatura de 50°C, se le adiciona la mezcla antibiótica y la sangre, se homogeniza y se distribuye asépticamente en placas de Petri.

### 3.4.6 Medio para H<sub>2</sub>S

Medio base:

Caldo nutriente N° 2	6,25 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (anhidro)	0,295 g

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (anhidro)	0,0575 g
Agar (Oxoid, L 28)	1,25 g
Agua destilada	250 ml
<u>Suplemento FBP:</u>	
Metabisulfito de sodio	0,125 g
Sulfato ferroso	0,125 g
Piruvato de sodio	0,125 g

Se disuelven todos los componentes en el agua destilada, se lleva a ebullición y se distribuye asépticamente a razón de 3 ml por tubo, luego se esteriliza en autoclave (121°C por 15 min.) y se guarda bajo refrigeración.

### 3.4.7 Solución de Hipurato de Sodio

Fórmula para 100 ml

Hipurato de sodio	1 g
Agua destilada	100 ml

Se disuelve el hipurato de sodio en agua destilada estéril y se distribuye a razón de 0,4ml por tubo. Se mantiene refrigerado hasta su uso.

### 3.4.8 Solución de Ninhidrina al 3%

Fórmula para 100 ml

Ninhidrina	3,5 g
Butanol	50 ml

Acetona 50 ml

Envasar el reactivo en frasco ámbar protegido de la luz.

### 3.4.9 Agar DNA

Fórmula para 100 ml

DNA	0,3 g
Cloruro de calcio	1 ml
Cloruro de sodio	10 g
Agar (Tipo L 28)	15 g
Tris buffer 0,05 M (pH 9,0)	100 ml
Azul de toluidina O al 3%	2,5 ml

Primero se disuelven los componentes en el Tris buffer, calentado hasta un poco antes de la ebullición (aprox. 90 a 95°C), luego se espera que enfríe hasta aprox. 50°C. Se le adicionan 2,5 ml de azul de toluidina O al 3%, se mezcla y distribuye a razón de 25 ml por placa. Se guarda a temperatura ambiente en oscuridad.

#### 4. RESULTADOS

**TABLA 3**

**Frecuencia de aislamiento de especies de *Campylobacter* y *Arcobacter* en materia fecal de niños y animales**

Especie	Muestras positivas	
	Nº / (n)	%
<i>Campylobacter</i> sp.	70* / (305)	23,0
<i>Arcobacter</i> sp.	15* / (305)	4,9
Total	85 / (305)	27,9

(\*) Test de Z

$p = 0,0000$  Existen diferencias estadísticamente significativas.

En la tabla 3 se observa que de la 305 muestras analizadas independiente de su origen, 70 (23,0%) fueron positivas para *Campylobacter* sp. y 15 (4,9%) para *Arcobacter* sp., obteniéndose un total de 85 (27,9%) muestras positivas para algunas de las dos especies en estudio.



TABLA 4

Frecuencia de aislamiento de especies de *Campylobacter* y *Arcobacter* en niños con y sin diarrea, menores de cinco años

Niños	<i>Campylobacter</i> sp.		<i>Arcobacter</i> sp.	
	Nº / (n)	%	Nº / (n)	%
Con diarrea	9* / (35)	25,7	1* / (35)	2,9
Sin diarrea	0 / (50)	0	0 / (50)	0

(\*) Test de Z

$p = 0,0168$  Existen diferencias estadísticamente significativas.

En la tabla 4 se observa que de las 35 muestras de niños con diarrea procesadas, 9 (25,7%) presentaron cultivos positivos para *Campylobacter*, en tanto que sólo 1 (2,9%) muestra resultó ser positiva para *Arcobacter*. Por otra parte, en las 50 muestras de niños sin diarrea estudiadas, no se detectaron cultivos positivos para ninguno de los dos géneros.

TABLA 5

Frecuencia de aislamiento de especies de *Campylobacter* y *Arcobacter* en deposiciones de aves (gallinas y patos) y mamíferos (perros y gatos)

Animales	<i>Campylobacter</i> sp.		<i>Arcobacter</i> sp.	
	Nº / (n)	%	Nº / (n)	%
Perros	24 / (105)	22,9	0 / (105)	0,0
Gatos	10 / (32)	31,3	0 / (32)	0,0
Gallinas	24* / (63)	38,1	14* / (63)	22,2
Patos	3 / (20)	15,0	0 / (20)	0,0

(\*) Test de Z

$p = 0,0806$  Existen diferencias estadísticamente significativas.

Observando los resultados expuestos en la tabla 5, se aprecia que *Campylobacter* fue aislado en 24 (22,9%) de 105 muestras de perro, 10 (31,3%) de 32 muestras de gato, 24 (38,1%) de 63 muestras de gallinas y 3 (15%) de 20 muestras de patos. En tanto que, *Arcobacter* sólo se aisló en 14 (22,2%) de las 63 muestras de gallinas procesadas, no siendo detectado en el resto de las muestras de animales.

**TABLA 6**

**Frecuencia de aislamientos de biotipos de las especies de *Campylobacter* en niños y animales**

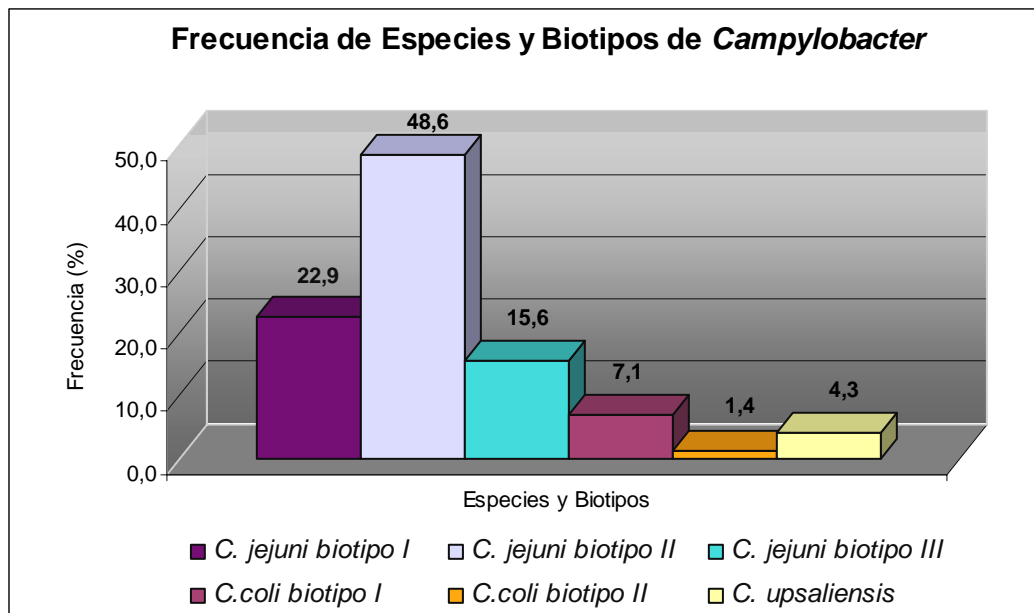
<b>Especie</b>	<b>Biotipo</b>	<b>Nº / (n)</b>	<b>%</b>
<i>Campylobacter jejuni</i>	Biotipo I	16 / (70)	22,9
	Biotipo II	34 / (70)	48,6
	Biotipo III	11 / (70)	15,7
	<b>Total</b>	61* / (70)	87,1
<i>Campylobacter coli</i>	Biotipo I	5 / (70)	7,1
	Biotipo II	1 / (70)	1,4
	<b>Total</b>	6* / (70)	8,6
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	<b>Total</b>	3 / (70)	4,3

(\*) Test de Z

$p = 0,0000$  Existen diferencias estadísticamente significativas.

La tabla 6 muestra que de las 70 cepas de *Campylobacter* aisladas de diversos orígenes, 61 (87,1%) corresponden a la especie *C. jejuni*, 6 (8,6%) a la especie *C. coli* y sólo 3 (4,3%) fueron identificadas como *C. upsaliensis*. En cuanto a los biotipos más frecuentes, estos se detallan en el siguiente gráfico:

**GRÁFICO 1**



En el gráfico 1 se observa que de *C. jejuni* biotipo II fue el más frecuente encontrado con un 48,6%, seguido del biotipo I con un 22,9% y el biotipo III con un 15,6%, en tanto que para *C. coli* el biotipo más frecuente fue el I con un 7,1%, seguido del biotipo II con un 1,4%. Además se aislaron cepas de *C. upsaliensis* correspondientes al 4,3% del total de cepas de *Campylobacter* aisladas.

TABLA 7

Frecuencia de aislamiento de especies de *Arcobacter* en muestras de niños con diarrea y aves (gallinas)

Origen	<i>A. butzleri</i>		<i>A. cryaerophilus</i>	
	Nº / (n)	%	Nº / (n)	%
Niños c/ diarrea	1 / (1)	100,0	0 / (1)	0,0
Gallinas	2* / (14)	14,3	12* / (14)	85,7
Total	3 / (15)	20,0	12 / (15)	80,0

(\*) Test de Z

$p = 0,0007$  Existen diferencias estadísticamente significativas.

En la tabla 7 se observa que de las 15 cepas de *Arcobacter* aisladas, 14 fueron de gallinas y sólo 1 se obtuvo de un niño con diarrea. En cuanto a las especies el 80% del total de cepas de *Arcobacter* se identificaron como *A. cryaerophilus* y el 20% como *A. butzleri*.

TABLA 8

Rendimiento de la técnica de filtración sobre agar sangre y la de siembra en medios selectivos en el aislamiento de *Campylobacter* y *Arcobacter*

Método	<i>Campylobacter</i> sp.		<i>Arcobacter</i> sp.	
	Nº / (n)	%	Nº / (n)	%
Filtración sobre agar sangre	43* / (70)	61,4	10** / (15)	66,7
Siembra en medio selectivo	52* / (70)	74,3	13** / (15)	86,7

(\*) (\*\*) Test de Z

(\*)  $p = 0,1477$  Existen diferencias estadísticamente significativas

(\*\*)  $p = 0,3880$  Existen diferencias estadísticamente significativas

En la tabla 8, se puede apreciar que la siembra en medios de cultivos selectivos obtuvo un mayor rendimiento en el aislamiento de especies de *Campylobacter* y *Arcobacter*. Detectando 52 de las 70 muestras positivas para *Campylobacter* y 13 de las 15 muestras positivas para *Arcobacter*.

## 5. DISCUSIÓN

*Campylobacter* sp. y *Arcobacter* sp. se encuentran entre los principales agentes de diarreas infecciosas en casi todos los países del mundo, teniendo una incidencia mucho más alta en niños menores de cinco años. Su vía de transmisión es fecal-oral, ya sea por ingestión de agua o alimentos contaminados o por el contacto directo con deposiciones humanas o de animales de compañía (Blaser, 1983; Megraud y Latrille, 1981; Vizcaya et al. 1999).

Considerando lo anterior, en el presente trabajo se estudiaron en total 305 muestras fecales de niños menores de cinco años con y sin diarrea y de animales domésticos (perros, gatos, gallinas y patos), con el propósito de determinar la frecuencia de aislamiento de *Campylobacter* sp. y *Arcobacter* sp. De ellas, se obtuvo un 27,9% de cultivos positivos, de los cuales el 23,0% fueron identificados como *Campylobacter* sp. y el 4,9% como *Arcobacter* sp.

De las 35 muestras de niños con diarrea estudiadas, el 25,7% resultaron positivas para *Campylobacter* sp., cifra que supera lo encontrado por Fernández (1994) en Valdivia (16,3%), Notario (1985) en Buenos Aires (6,1%), Velasco (2001) en Venezuela (11,8%), Fernández (1985) en Brasil (7,4%) y Blaser (1980) en Bangladesh (10,0%). A su vez, fue similar a la frecuencia encontrada por Cabrera (2000) en Valdivia (23,5%) y Guderiam (1987) en Ecuador (23,0%), aunque menor a lo informado por Bokkenheuser (1979) en Sud África (31,0%).

La frecuencia con que se aisló *Campylobacter* sp. en niños con diarrea (25,7%), está dentro de lo esperado para un país en vías de desarrollo como el nuestro. La alta frecuencia encontrada tal vez se deba a que nuestra región es predominantemente agropecuaria, donde gran parte de la población mantiene contacto con animales como perros, gatos y aves en general. Además, existe un porcentaje importante de personas que ingieren leche no pasteurizada, hecho considerado como fuente de riesgo para adquirir esta infección (Soza et al. 1987).

En las muestras de niños sin diarrea, no se detectaron cultivos positivos para *Campylobacter* sp., resultado que no concuerda con los datos a conocer anteriormente en nuestro país por Fernández (1994) en Valdivia (6,4%) y Soza (1987) en Temuco (4,0%).

La diferencia observada entre la frecuencia de aislamiento de *Campylobacter* sp. en niños con y sin diarrea, demuestra la importancia de estas bacterias como agentes causales de diarrea en niños menores de cinco años.

En cuanto a la búsqueda de *Arcobacter* sp., de las 35 muestras de niños con diarrea mencionadas anteriormente, sólo un 2,9% (una muestra) resultó ser positiva para esta bacteria, cifra que es inferior a la encontrada por Vandenberg (2004) en Bélgica (4,0%). Hasta donde sabemos, en países de América Latina, aún no han sido informados aislamiento de esta especie en humanos con diarrea, salvo en Valdivia por Fernández y col. el año 2004, el que notifico dos casos de diarrea crónica asociada a *Arcobacter butzleri*.

La importancia epidemiológica de determinar la frecuencia de *Campylobacter* sp. y *Arcobacter* sp., en animales que mantienen una estrecha relación con los seres humanos, permite entender la función de estos, como potenciales fuentes de infección para el hombre y en especial para niños (Skirrow, 1981). Por esta razón se estudiaron 105 muestras fecales de perros, obteniendo una frecuencia de aislamiento para *Campylobacter* sp. del 22,9% (24 muestras), cifra que supera lo encontrado por Giacoboni (1999) en Argentina (7,3%), Tresierra (1995) en Perú (12,0%), Mamizuka (1993) en Brasil (17,0%), Wright (1982) en Gran Bretaña (4,6%) y Elegbe (1987) en Nigeria (17,6%). A su vez, fue similar a la frecuencia encontrada por Fernández (1991) en Valdivia (21,9%), pero menor al valor informado por Oval (1999) en Valdivia (31,2%) y Riquelme (1994) en esta misma ciudad (45,1%).

Por otro lado, en gatos se obtuvo una frecuencia de 31,3% de aislamiento, 10 muestras positivas en un total de 32 muestras, cifra que es superior a la encontrada por Riquelme (1994) en Valdivia (20,0%) y Fernández (1988) en Valdivia (22,5%) y Tresierra (1995) en Perú (10,0%).

A pesar a haber utilizado procedimientos similares en el procesamiento de las muestras, la prevalencia de *Campylobacter* sp. en perros y gatos en la ciudad de Valdivia es distinta en comparación a otros estudios realizados anteriormente en la misma ciudad, ya que el porcentaje de *Campylobacter* sp. ha disminuido en perros, pero ha aumentado en gatos. Esto puede deberse a que la mayoría de los gatos muestreados presentaban diarrea, a diferencia de los perros en los cuales los casos de diarrea fueron menores.



Sin embargo, en perros y gatos no se detectó la presencia de *Arcobacter* sp. aunque Vera (2001) encontró una proporción del 3% en perros de Valdivia.

Varios estudios han demostrado que las aves de consumo son uno de los principales reservorios y fuentes de infección, sobre todo en zonas donde es habitual la crianza doméstica de gallinas y patos, constituyendo un importante eslabón en la cadena de las infecciones por *Campylobacter* sp. y *Arcobacter* sp. (Fernández, 1992; Fernández y Pisón, 1996; Fernández y Torres, 2000).

En gallinas, de las 63 muestras cloacales estudiadas, un 38,1% (24 muestras) resultaron positivas para *Campylobacter* sp., porcentaje que supera lo encontrado por Fernández (2000) en Valdivia (25,7%), Oyarzábal (1995) en Argentina (19,7%), Pearson (1996) en el Reino Unido (27,0%), Kapperud (1993) en Noruega (18,0%) y Chuma (1997) en Japón (33,9%), pero inferior a la publicada por Fernández (1994) en Valdivia (60,0%) y Figueroa (1990) en Chile (90,0%), Tresierra (1995) en Perú (44,5%) y Workmann (2005) en Barbados (94,2%).

Por otra parte, se analizaron 20 muestras cloacales de patos, obteniéndose un 15,0% de aislamiento para *Campylobacter* sp., cifra que es baja en comparación al 26,0% encontrado por Tresierra (1995) en Perú.

La frecuencia con que se encontró *Campylobacter* sp. en gallinas y patos es baja, en comparación con la informada por los autores antes mencionados, sin embargo, queda reflejado el carácter de reservorio y eventual fuente de infección para el ser humano en nuestra zona. El riesgo de contagio desde las aves doméstica a sus consumidores, se relaciona con el grado de aislamiento de *Campylobacter* sp. en el tracto intestinal de

aves el que, a su vez, parece estar correlacionado con su presencia en la carne y menudencias, después del faenamiento (Fernández y Torres, 2000; Leyán, 1999; Tresierra et al. 1995).

Respecto a *Arcobacter* sp. no se obtuvieron resultados positivos en las muestras de patos analizadas. Sin embargo, en gallinas se obtuvo un 22,2% de aislamiento de esta bacteria, porcentaje que resulta difícil de comparar, ya que gran parte de los estudios indican que *Arcobacter* sp. se encuentra en carcasa de aves, siendo escasos aquellos que señalan su presencia en el tracto intestinal (De Oliveira et al. 2001; Eifert et al. 2003; Ruiz, 2005).

Tanto en estudios realizados en seres humanos, la especie *C. jejuni*, siempre ocupa un porcentaje mayor de aislamiento, lo cual se refleja también en nuestros resultados (Fernández, 1983; Fernández y Figueroa, 1987).

Como se aprecia en la tabla 6, de las 70 cepas de *Campylobacter* aisladas de diversos orígenes, 61 (87,1%) corresponden a la especie *C. jejuni*, 6 (8,6%) a la especie *C. coli* y sólo 3 (4,3%) fueron identificadas como *C. upsaliensis*.

En cuanto a los biotipos propuestos por Lior (1969), tenemos que para *C. jejuni* el biotipo más frecuente fue el II con un 48,6%, seguido del biotipo I con un 22,9% y por último el biotipo III con un 15,7%. En tanto que, para *C. coli* el más frecuente fue el I con un 7,1% y por último el II con un 1,4%. Resultados similares a estos, en cuanto al orden de frecuencia, fueron obtenidos por Fernández en el sur de Chile, en las muestras de niños y animales domésticos (Fernández y Kahler, 1994).

Es importante también señalar, que en este trabajo sólo se aislaron dos de las especies termotolerantes clásicas de *Campylobacter* sp., siendo estas *C. jejuni* y *C. coli* pero, además, se detectaron cepas de *C. upsaliensis*, cuyo porcentaje corresponde al 4,3% del total de las muestras positivas de *Campylobacter*, cifra superior a la encontrada por Riquelme (1994) en la misma ciudad. Otros estudios señalan que esta especie de *Campylobacter*, está siendo aislada cada vez con mayor frecuencia en perros, animal que constituye su reservorio natural (Bourke et al.1998).

De las 15 cepas de *Arcobacter* aisladas, 14 fueron de gallinas y sólo una se obtuvo de un niño con diarrea. En cuanto a las especies el 80% del total de cepas de *Arcobacter* se identificaron como *A. cryaerophilus* y el 20% como *A. butzleri*.

Respecto al rendimiento de la técnica de filtración sobre agar sangre y la de siembra en medios selectivos, se puede señalar que para la búsqueda de especies del género *Campylobacter*, resultó ser más efectiva la siembra en medio de cultivo selectivo, detectando 52 muestras positivas, correspondientes al 74,3% del total de aislamientos de *Campylobacter* sp., hecho que concuerda con estudios realizados por Riquelme (1994) en Valdivia y Soza (1987) en Temuco. En tanto que, para el aislamiento de especies del género *Arcobacter*, el medio de cultivo selectivo también obtuvo un mayor rendimiento, detectando 13 muestras positivas, correspondientes al 86,7% del total de aislamientos de esta bacteria. Resultados similares e éste fueron obtenidos por Ruiz (2005) en esta misma ciudad (78%).

En ambos casos la siembra en medios selectivos, obtuvo un rendimiento superior, comprobándose que esta técnica es una buena opción para el aislamiento de

*Campylobacter* sp. y *Arcobacter* sp., ya que la mezcla antibiótica favorece el desarrollo de la bacteria que se quiere aislar, actuando al mismo tiempo como inhibidor de otras bacterias y hongos contaminantes.

Los resultados presentes en este trabajo, proporcionan suficiente evidencia como para concluir, que tanto *Campylobacter* sp. como *Arcobacter* sp. son agentes causales de diarrea en niños menores de cinco años. Siendo los animales un importante reservorio y potenciales fuentes de infección para el ser humano, riesgo que se incrementa en esta región, donde parte de la población habita en zonas rurales, manteniendo un estrecho contacto con animales domésticos y aves.

Finalmente, consideramos necesaria la realización de estudios posteriores, que contribuyan a clarificar los aspectos epidemiológicos de estas bacterias en nuestro país. Además de la creación de programas educativos, que entreguen información clara sobre la prevención de las infecciones intestinales que afectan que afectan a los niños.

## 6. LITERATURA CITADA

**Anderson, K., Anderson, D., Kiehlbauch, J., McClure, H. And Wachsmuth, I.K. (1993)** *Arcobacter (Campylobacter) butzleri*-associated diarrheal illness in a nonhuman primate population. *Infect. Ummun.*, 61: 2220-2223.

**Atabay, H. And Corry, J. (1998)** Evaluation of a new *Arcobacter* enrichment medium and comparison with two media developed for enrichment of *Campylobacter ssp.* *Int. J. of Food Microbiol.*, 41: 53-58.

**Blaser, M.J., Berkowitz, I.D., La Force, F.M., Cravens, J., Reller, I. And Wang, W.I. (1979)** *Campylobacter* enteritis: Clinical and epidemiological features. *Ann. Intern. Med.*, 91: 179-185.

**Blaser, M.J., Glass, R.I., Hug., M.I., Stoll, B., Hibriya, G. And Alim, A. (1980)** Isolation of *Campylobacter fetus ssp. jejuni* from Bangladesh children. *J. Clin. Microbiol.*, 12: 744-7.

**Blaser, M.J. (1983)** Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. *Epidemiol. Rev.*, 5: 157-176.

**Bokkenheuser, V.D., Richardson, N.J., Bryner, J., Roux, D., Schutte, A., Koorhof, H., Freiman, I. And Hartman, E. (1979)** Detection of enteric *Campylobacteriosis* in Children. J. Clin. Microbiol., 9: 227-232.

**Bolton, F.J. And Robertson, I.A. (1982)** A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni/coli*. J. Clin. Path., 35: 462-467.

**Boucher, S.N., Slater, E.R., Chamberlain, A.H.I. And Adams, M.R. (1994)** Production and Viability of Cocoid Forms of *Campylobacter jejuni*. J. App. Bacteriol., 77: 303-307.

**Bourke, B., Voon Loong, C., And Philip, S. (1998)** *Campylobacter upsaliensis*: Waiting in the Wings. Clin. Microbiol. Rev., 11: 440-449.

**Butzler, J.P. And Skirrow, M.B. (1979)** *Campylobacter* Enteritis. Clin. Gastroenterol., 8: 737-736.

**Butzler, J. (1981)** *Campylobacter* Enteritis Acute Enteritis Infections in Children. New Prospect for Treatment and Prevention., 2: 63-72.

**Cabrera, J. (2000)** Prevalencia de especies de la familia *Campylobacteraceae* en cuatro grupos de niños de la ciudad de Valdivia. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 36 pp.

**Cancino, R. (2002)** Comparación del E-test y método de doble dilución en agar en la determinación de susceptibilidad de cepas de *Arcobacter butzleri* a 6 antimicrobianos. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 41 pp.

**Chuma, T., Makino, K., Okamoto, K. and Yugi, H. (1997)** Analysis of Distribution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in broilers by using restrictions fragment lenght polymorphism of flagellin gene. J. Vet. Med. Sci., 59: 1010-1011.

**Cooper, I.A. And Slee, K.J. (1971)** Human infection with *vibrio fetus*. Med. J. Aust., 1: 1263-1268.

**De Oliveira, S.J., Baetz, A.I., Wesley, I.V. And Harmon, K.M. (1997)** Classification of *Arcobacter* species isolated from aborted pig fetuses and sows with reproductive problems in Brazil. Vet. Microbiol., 57: 347-354.

**De Oliveira, S.J., Wealey, I., Baetz, A.I., Harmon, K.M., Kader, I.T.A. And De Uzeda, M. (1999)** *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter butzleri* isolated from preputial fluid of boars and fattening pigs in Brazil. J. Vet. Invest., 11: 462-464.

**De Oliveira, S.J., De Souza Moraes, H.I., Kuchenbecker, B., Ikuta, N., Lunge, V., Fonseca, A. And Coiro, J.R. (2001)** Isolation of *Arcobacter spp* from poultry carcasses, in Brazil. Ciencia Rural, Santa María., 31: 639-643.

**Dekeyser, P., Gossuin-Detrain, M., Butzler, J.P. And Sternon, J. (1972)** Acute enteritis due to related vibrio: First positive stool cultures. J. Infect. Dis., 125: 390-392.

**Doyle, L.P. (1944)** A *Vibrio* associated with swine dysentery. Amer. J. Vet. Res., 5: 3-5.

**Doyle, M.P. And Roman, D.J. (1981)** Growth and Survival Of *Campylobacter fetus subsp jejuni*, as a Function of Temperature and pH. J. food Protect., 44: 596-601.

**Doyle, M. And Roman, D. (1982)** Prevalence and survival of *Campylobacter jejuni* in unpasteurized milk. App. Environ. Microbiol., 44: 1154-1158.



**Eifert, J.D., Castle, R.M., Pierson, F.W., Larsen, C.T. And Hackney, C.R. (2003)** Comparison of Sampling Techniques for Detection of *Arcobacter butzleri* from Chickens. Poultry Science., 82: 1898-1902.

**Elegbe, I., Juba, A. And Adebayo, J. (1987)** Species and serotypes of *Campylobacter* from domestic animals in Nigeria. J. Diarrhoeal. Dis. Res., 5: 97-101.

**Engberg, J., On, S., Harrington, C.S. And Gerner-smidt, P. (2000)** Prevalence of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, and *Sutturella spp.* In Human Fecal samples as Estimated by a Reevaluation of Isolation Methods of *Campylobacter*. J. Clin. Microbiol., 38: 286-291.

**Ellis, W.A., Neils, D., O'brien, J.J., Ferguson, H.W. And Hanna, J. (1977)** Isolation of *Spirillum/Vibrio*-like organism from bovine fetusses. Vet. Rec., 100: 451-452.

**Fathey, T., Morgan, D., Guneburg, C., Adak, G., Majid, F. And Kaczmariski, E. (1995)** An outbreak of *Campylobacter jejuni* enteritis associated with failed milk pasteurization. J. Infect., 31: 137-143.

**Fera, M.T., Maugeri, T.I., Giannone, M., Gugliandolo, C., La Camera, E., Blandino, G. And Carbone, M. (2003)** In Vitro susceptibility of *Arcobacter butzleri* and

*Arcobacter cryaerophilus* to different antimicrobial agents. J. Antimicrobial Agent., 21: 488-491.

**Fernández, H. (1983)** “Especies Termófilas de *Campylobacter*. Aspectos Bacteriológicos, Epidemiológicos y Patogénicos”. Tesis de Doctorado, Departamento de Microbiología. Inmunología, Escola Paulista de Medicina, Sao Paulo Brasil, 144 pp.

**Fernández, H. (1984)** Actualizaciones de *Campylobacter*, especies termófilas de *Campylobacter*. I. Aspectos históricos, taxonomía y diagnóstico de laboratorio. Rev. Chil. Technol. Méd., 7: 263-271.

**Fernández, H., Toledo, R., Fagundes, U. And Trabulsi, L. (1985)** Occurrence of *Campylobacter jejuni* in diarrheic and non-diarrheic children in Sao Paulo, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo., 27: 102-104.

**Fernández, H. And Figueroa, G. (1987)** *Campylobacter* gastroentéricos: bacteriología y patogenia. Adel. Microbiol. Enf. Infect., 6: 1-26.

**Fernández, H. (1988)** Species and biotype distribution of thermotolerant *Campylobacter* in animal reservoirs in souther Chile. Rev. Inst. Med. Trop., Sao Paulo., 30: 357-360.

**Fernández, H. And Martin, R. (1991)** *Campylobacter* intestinal carriage among stray and pet dogs. Rev. Saúde Pública. Sao Paulo., 25: 473-475.

**Fernández, H. (1992)** Thermotolerant *Campylobacter* species associated with human diarrhea in Latin América. Ciencia e cultura., 44: 39-44.

**Fernández, H. And Kahler, K. (1994)** Prevalence of thermotolerant species of *Campylobacter* and their biotypes in children and domestic birds and dogs in southern Chile. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo., 36: 433-436.

**Fernández, H. And Pisón, V. (1996)** Isolation of thermotolerant species of *Campylobacter* from comercial chicken livers. Inst. J. Food Microbiol., 29: 75-80.

**Fernández, H. And Mamizuka, E. (1997)** Diagnóstico Laboratorial das Infecções Causadas por *Helicobacter* e *Campylobacter* sp. Faculdade de Ciências Farmaceuticas, U.S.P., Brasil.

**Fernández, H., Zaror, I., Wilson, M., Otth., Gutiérrez, M.A. And Tejero, A. (2000)** Familia *Campylobacteraceae* En: Manual de Laboratorio. Microbiología Sistemática y Clínica: 67-72. Universidad Austral de Chile.

**Fernández, H. And Torres, N. (2000)** *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en tres grupos de gallinas de diferente origen geográfico del sur de Chile. Arch. Méd. Vet. XXXII., 2: 241-244.

**Fernández, H. And Farase, M. (2003)** Manual de Procedimientos Diagnóstico de *Campylobacter* en muestras Clínicas y de Alimentos:1-22. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.

**Fernández, H., Krause, S., Villanueva, M.P. (2004)** *Arcobacter butzleri* an emerging enteropathogen: communication of two cases with chronic diarrhea. Brazilian J. of Microbiol., 35: 219-218.

**Fernández, H., García, A., Villanueva, M.P. (2005)** Serotipos de *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni* aislado en carne de ave para consumo humano y en muestras de heces de niños con diarrea. Arch. Méd. Vet., 37: 79-81.

**Figuroa, G., Toledo, M.S., Troncoso, M. And Sepúlveda, C. (1982)** Aislamiento de *Campylobacter fetus* sub-especie *jejuni* en pollos Broiler. Rev. Chil. Nutr., 10: 87-98.

**Figuroa, G. And Araya, M. (1985)** Infecciones sintomáticas y asintomáticas por *Campylobacter jejuni*. Rev Chil Ped., 56: 485-489.

**Figueroa, G., Troncoso, M., Galeno, H., Soto, V. And Toledo, M.S. (1990)** Biotypes, Serogroups and antibiotic susceptibility of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in Chile. J. Infect., 20:123-127.

**Fox, G.J. (1982)** Campylobacteriosis – A “New” Disease In Laboratory Animals. Lab. Animal Sci., 32: 625-637.

**Giacoboni, G., Moredo, F., Tobía, M. And Piazza, D. (1997)** Aislamiento de bacterias del género *Arcobacter* con características bioquímicas de *A. crioaerophilus* en aguas del Río de la Plata. Analecta Vet., 17: 19-21.

**Giacoboni, G., Puchuri, M.C. And Cerdá, R. (1999)** *Campylobacter* termotolerantes en menudos y carcasas de pollos provenientes de diferentes comercios de la ciudad de la Plata (Argentina). Analecta Veterinaria., 19: 51-54.

**Giacoboni, G., Puchuri, M.C., Castellano, C., Echeverria, M.G. And Fernández, H. (1999)** Identificación mediante biotipos y perfiles proteicos de *Campylobacter* aislado de perros. Ach. Méd. Vet. XXXI., 2: 231-235.

**Golla, S.C., Murano, E.A., Johnson, I.G., Tipson, N.C., Cureington, E.A. And Savell, J.W. (2002)** Determination of the Occurrence of *Arcobacter butzleri* in Beef

and Dairy cattle from Texas by Various Isolation Methods. J. of Food Protection., 12: 1849-1853.

**Guderian, E., Ordúñez, G. And Bossano, R. (1987)** Diarrea aguda asociada a *Campylobacter* y otros agentes patógenos en Quito. Ecuador. Bol Of Sanit Panam., 102: 333-9.

**Hernández, F. (2002).** Cultivo de bacterias microaerófilas: *Campylobacter*. Rev. Col. de MQC., 8:116-121.

**Hodge, J.P., Krieg, N.R. (1994)** Oxygen tolerance Estimates In *Campylobacter* Species Depend On The Testing Medium. J. App. Bacteriol., 77: 666-673.

**Houf, K., Tutenel, A., De Zutter, L., Van Hoof, L. And Vandamme, P. (2000)** Development of a Multiplex PCR Assay for the Simultaneous Detection and Identification of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*. FEMS Microbiol. Letters., 193: 89-94.

**Houf, K., Devriese, I., Hoof, J. And Vandamme, P. (2001)** Development of a New Protocol for the Isolation and Quantification of *Arcobacter* species from Poultry Products. J. of Food Microbiology., 71: 189-196.

**Hsueh, P.R., Teng, L.J., Yang, P.C., Wang, S.K, Chang, S.C., Ho, S.W. And Luhk, K.T. (1997)** Bacteremia Caused By *Arcobacter cryaerophilus* 1B. J. Clin. Microbiol., 35: 489-91.

**Jacob, J., Woodward, D., Feuerfeil, I. And Johnson, W. (1998)** Insolation of *Arcobacter butzleri* in raw water and drinking water treatment plants in Gremany. Zentbl. Hyg. Unwcltmed., 290: 189-198.

**Johnson, I.G. And Murano, E.A. (1999)** Comparison of Three Protocols for the Isolation of *Arcobacter* from Poultry. J. of Food Protection., 62: 610-614.

**Johnson, L.G. And Murano, E.A. (1999)** Development of a New Medium for the isolation of *Arcobacter spp.* J. of Food Protection., 62: 456-462.

**Jones, F.S. And Little, R.B. (1931)** The etiology of infections diarrhea (winter scours) in cattle. J. Exp. Med., 53: 835-843.

**Kahler, K.A. (1990)** Contribución al estudio de la diarrea por *Campylobacter* en Valdivia: Aspectos bacteriológicos, clínicos y epidemiológicos. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 58 pp.

**Kapperud, G., Skjerve, E., Vik, L., Hauge, K., Lysaker, A., Aalmen, I., Ostroff, S.M. and Potter, M. (1993)** Epidemiological investigation of risk factors for *Campylobacter* colonization in norwegian broiler flocks. *Epidemiol. Infect.*, 111: 245-255.

**Karmali, M.A. And Fleming, P.C. (1979)** *Campylobacter* Enteritis. *CMA Journal.*, 23: 1525-1532.

**King, E.O. (1957)** Human infections with *Vibrio fetus* and a closely related *vibrio*. *J. Infect. Dis.*, 101: 119-128.

**Lerner, J., Brumberger, V. And Preac-Mursic, V. (1994)** Severe diarrhea associated with *Arcobacter butzleri*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 8: 660-662.

**Levy, A.J. (1946)** A gastro-enteritis outbreak probably due to a bovine strain of *Vibrio*. *Yale J. Biol. Méd.*, 18: 243-258.

**Leyán, I. (1999)** Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter sp.* aisladas de gallinas, mediante el método de E-test. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 39 pp.



**Lior, H. (1984)** New extended biotyping scheme for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Campylobacter lariidis*. J. Clin. Microbiol., 20: 636-640.

**Lopez, L., Castillo, F.J., Clavel, A. And Rubio, M.C. (1988)** Use of a selective médium and a membrana filter method for isolation of *Campylobacter* species from spanish paedriatics patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 17: 489-92.

**Luechtefeld, N.W. And Wang, W.L. (1982)** Animal reservoirs of *Campylobacter jejuni*. In: Newel, D.G., ed. – *Campylobacter*: epidemiology, pathogenesis, biochemistry. Lancaster, M.T.P. Press., 12: 249-251.

**Mamizuka, E., Schwartz, D., Borgues, M. And Hagiwara, M. (1993)** Isolation of *Campylobacter jejuni* form dogs with diarrhea. Rev. Microbiol. Sao Paulo., 24: 84-87.

**Mansilla, M. (1997)** Comparación del E-test y del método de doble dilución en agar, como técnicas para determinar susceptibilidad a los antimicrobianos en especies de *Campylobacter*. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 35 pp.

**Mansfield, L.P. And Forsythe, S.J. (2000)** *Arcobacter butzleri*, *A. skirrowii* and *A. cryaerophilus*- potential emerging human pathogens. Rev. Med. Microbiol., 11: 161-170.

**Mc. Fadyean, J. And Stockman, S. (1913)** Report of the Departmental Committee Appointed by the board of Agriculture an Fisheries to enquire into Epizootic Abortion. London.

**Megraud, F. And Latrille, J. (1981)** *Campylobacter jejuni* en pathologie humaine. Diagnostic biologique et épidemiologie. Pth. Biol., 29: 305-314.

**Mehlman, I.J. And Romero, A. (1982)** Improved growth medium for *Campylobacter species*. App. Environ. Microbiol., 43: 615-618.

**Merino, R. (1996)** Frecuencia de Aislamiento de *Campylobacter* en centros de Atención Infantil de la ciudad de Valdivia y Evaluación de dos técnicas de aislamiento. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 29 pp.

**Murray, R.P., Banon, E.J., Pfaller, M., Tenover, F.C. And Yoquen, R.M. (1995)** Manual of Clinical Microbiology. 6<sup>a</sup> Ed. Depto of California. Los Angeles. Ed. 520-530.

**Nachamkim, I. And Blaser, M.J. (2000)** *Campylobacter*. 2<sup>a</sup> Ed. ASM Press, Washington D.C., P: 3-18.

**Neil, S.D., Ellis, W.A. And O'Brien, J.J. (1978)** The biochemical characteristics of *Campylobacter*-like organisms from cattle and pigs. Res. in Vet. Sci., 25: 368-372.

**Notario, R., Borda, N., Deserti, S. And Gambande, T., (1985)** Infecciones entéricas por *C. jejuni* en Rosario. Medicina (B. Aires)., 45: 654-658.

**On, S.L.W. (2001)** Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* And related bacteria: current status, future projects and immediate concerns. J. of App. Microbiol., 90: 1s-15s.

**Öngör, H., Cetinkaya, B., Acik, M.N. And Atabay, H.I. (2004)** Investigation of *Arcobacter* in meat and faecal samples of clinically healthy cattle in Turkey. Letters in App. Microbiol., 38: 339-344.

**Oyarzábal, O., Conner, D. And Hoerr, F. (1995)** Incidence of *Campylobacters* in the intestine of avian species in Alabama. Avian Diseases., 39: 147-151.

**Oval, A. (1999)** Prevalencia de *Campylobacter sp.* en perros de la ciudad de Valdivia. Estudio de susceptibilidad a 6 drogas antimicrobianas mediante el método E-test. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 41 pp.

**Pead, P. (1979)** Electron Microscopy of *Campylobacter*. A decade of progress. Clin. Microbiol., 12: 383-385.

**Pearson, A.D., Greenwood, M.H., Feltham., R.K., Healing, T.D., Donaldson, J., Jones, D.M. And Colwell, R.R. (1996)** Microbial Ecology of *Campylobacter jejuni* in a united kingdom chicken supply chain: intermittent common source, vertical transmission, and amplification by flock propagation. App. Environ. Microbiol., 62: 4614-4620.

**Phillips, C.A, (2001)** *Arcobacter spp* in food: isolation, identification and control. Trends in Food Science & Technology., 12: 263-275.

**Pison, V. (1992)** Contribución al estudio de la contaminación por *Campylobacter* termotolerantes en alimentos de origen aviar. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 48 pp.

**Riquelme, A.R. (1994)** Prevalencia de especies de la familia *Campylobacteraceae* en deposiciones de cerdos, perros y gatos. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 41 pp.

**Rodríguez, R. (2001)** Especies de la familia *Campylobacteraceae* en aguas fluviales. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 48 pp.

**Ruiz, L. (2005)** Comparación de tres medios selectivos para el aislamiento de especies de *Arcobacter*. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 45 pp.

**Salazar, R.P. (1989)** Prevalencia y susceptibilidad antibiótica de especies termotolerantes de *Campylobacter* en dos grupos de gallinas. Tesis, Escuela de Educación Media Científico Humanista. Facultad de Filosofía y Humanidades. Univ. Austral de Chile, 49 pp.

**Sebald, M. And Veron, M. (1963)** Teneur en bases l'ADN et classification des vibrión. Ann. Inst (París)., 105: 897-910.

**Skirrow, M. And Benjamin, J. (1977)** *Campylobacter* enteritis. A new disease. J. Brit. Med., 2: 9-11.

**Skirrow, M.B. And Benjamin, J. (1980)** Differentiation of enteropathogenic *Campylobacter*. J. Clin. Pathol., 33: 1122-1128.

**Skirrow, M.B. (1981)** *Campylobacter* enteritis in dogs and cats: a “new zoonosis”, Vet. Res. Com., 5: 13-19.

**Smibert, R.M. (1978)** The genus *Campylobacter*. Ann. Rev. Microbiol., 32: 673-709.

**Smith, T. (1918)** The etiological relation of *Spirilla (Vibrio) fetus* to bovine abortion. J. Exp. Med., 30: 313-323.

**Smith, T. And Taylor, M.S. (1919)** Some morphological and biological characters of *Spirilla (Vibrio) fetus* n.s.p. associated with disease of fetal membranes in cattle. J. Exp. Med., 30: 299-311.

**Soza, G., Ossa, G., Illesca, V., Reydet, P., Hinostroza, J. And Rodríguez, J. (1987)** *Campylobacter jejuni* en diarrea aguda del lactante. Rev. Méd. Chile., 115: 19-23.

**Steele, T. And Mc Dermott, S. (1984)** The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. Pathology., 16: 263-265.

**Tee, W., Braid, R., Dyall-Smith, M. And Dwyer, B. (1988)** *Campylobacter cryaerophilus* Isolated from a human. J. of Clin. Microbiol., 26: 2469-2473.

**Thompson, L., Smibert, R., Johnson, J. And Krieg, N. (1988)** Phylogenetic study of the genus *Campylobacter*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 38: 190-200.

**Torres, N. (1998)** Prevalencia de especies de *Campylobacter* en tres grupos de gallinas de diferente origen geográfico. Tesis, Escuela de Tecnología Médica. Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile, 56 pp.

**Tresierra-Ayala, A., Fernández, H., Bendayán, M.E., Pereyra, G. And Bernuy, A. (1995)** Aislamiento de especies termotolerantes de *Campylobacter* en dos poblaciones de pollos criados con y sin confinamiento. *Rev. Saude Publica.*, 29: 389-392.

**Tresierra-Ayala, A., Bendayán, M.E., Bernuy, A., Espinoza, F. And Fernández, H. (1995)** Carriage of the classical thermotolerant *Campylobacters* in health domestic animals from eastern Perú. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.*, 37: 537-539.

**Vandamme, P. And De Ley, J. (1991)** Proposal for a New Family, *Campylobacteraceae*. *Int. J. System Bacteriol.*, 41: 451-455.

**Vandamme, P., Falsen, E., Rossau, R., Hoste, B., Sergers, P., Tytgat, R. And De Ley, J. (1991)** Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* Taxonomy: Emendation of Generic Description and Proposal of *Arcobacter*. *Gen. Nov. Int. J. System Bacteriol.*, 41: 88-103.

**Vandamme, P., Vancanneyt, M., Pot, B., Mels, M., Hoste, B., Dewettink, D., Vlaes, I., Van Den Borre, C., Higgins, R., Hommeez, J., Kersters, K., Butzler, J. And Goosens, H. (1992)** Polyphasic taxonomic study of the emended genus *Arcobacter* with *Arcobacter butzleri* comb. Nov. And *Arcobacter skirrowii* sp. Nov., an aerotolerant bacterium isolated from vaterinary specimens. Int. J. Bacteriol., 42: 344-356.

**Vandenberg, O., Dediste, A., Houf, K., Ibekwem, S., Souayah, H., Cadranel, S., Douat, N., Zissis, G., Butzler, J.P. And Vandamme, P. (2004)** *Arcobacter* Species in humans. Emerging infectious Diseases., 10: 1863-1867.

**Velasco, J., Vizcaya, L., Nieves, B., Pérez, I., Flores, A., Hernández, J. And Sánchez, K. (2001)** Campylobacterias termotolerantes como causa de enfermedad diarreica aguda (EDA) en niños merideños. Rev. de la Facultad de Farmacia., 42: 47-54.

**Vera, F. And Fernández, H. (2001)** Aislamiento de especies de *Campylobacter* y *Arcobacter* en aves y mamíferos en el sur de Chile. XXIII Congreso Chileno de Microbiología. Balneario el Morro, Tomé, 28, 29 y 30 de noviembre. Chile p. 37.



**Vizcaya, L.E., Flores, A., Hernández, J., Nieves, B. And Pérez, I. (1999)** Origen bacteriano de la enfermedad diarreica aguda en Mérida, Venezuela. Rev. Cubana. Med. Trop., 51: 14-9.

**Wang, W., Reller, L., Smallwood, B., Luechtefeld, N. And Blaser, M. (1983)** Evaluation of transport media for *Campylobacter jejuni* in human fecal specimens. J. Clin. Microbiol, 18: 803-807.

**Wesley, I., Schroeder-Tucker, L., Baetz, A., Dewhirst, F. And Paster, B. (1995)** *Arcobacter*-specific and *Arcobacter butzleri*-specific 16S rRNA-Based DNA probes. J. of Clin. Microbiol. 33: 1691-1698.

**Woo, P., Chong, K., Leung, K., Que, T. And Yuen, K. (2001)** Identification of *Arcobacter cryaerophylus* isolated from a traffic accident victim with bacteremia by 16S ribosomal RNA gene sequencing. Diagnostic. Microbiol. and infect. Disease., 40: 125-127.

**Workman, S., Mathison, G. And Lavoie, M. (2005)** Pet dogs and chicken meat as reservoirs of *Campylobacter spp.* in Barbados. J. of Clin. Microbiol., 43: 2642-2650.

**Wright, B.P. (1982)** The occurrence of *Campylobacter jejuni* in dog faeces from a public park. J. Hyg. Camb., 89: 191-194.