



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ACTUALIZACIÓN DE LA PORTACIÓN DEL GÉNERO *ARCOBACTER* EN
ANIMALES DOMÉSTICOS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

AUTORA: BÁRBARA ALVEAL JORQUERA

PROFESORA GUÍA: TM Mg. PAULINA ABACA

PROFESORA INFORMANTE: M^a NATALIA VELIZ

TALCA-CHILE

2019

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2019

Dedicatoria

A mi familia y en especial mención a mi padre José por su cariño y apoyo incondicional en todos estos años, por el valor de ser padre y madre en los momentos más difíciles de nuestras vidas; y en memoria de mi madre, Gloria quien a pesar de no poder estar presente en estos últimos años me dejó valiosas enseñanzas, tristemente se enfrentó a una muerte prematura, pero su ejemplo de lucha ante su enfermedad me mantuvo valiente ante la adversidad, principalmente en aquellos momentos que pensé en rendirme.

Agradecimientos

A mis docentes de la Escuela de Tecnología Médica, por haber compartido sus experiencias y conocimientos a lo largo de mi preparación profesional, de manera especial a la TM. Mg. Paulina Abaca, profesora guía de esta memoria, y a la TM. Roxana Orrego, quienes con su paciencia, rectitud y enseñanzas me permitieron lograr el desarrollo de este trabajo. Por último, a la Universidad de Talca por ser sede de todas las experiencias y conocimientos adquiridos en estos últimos años.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVOS	4
1. OBJETIVO GENERAL	4
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
MARCO TEÓRICO	5
1. INTRODUCCIÓN AL GÉNERO <i>ARCOBACTER</i>	5
1.1. Antecedentes taxonómicos del género <i>Arcobacter</i>	5
1.2. Morfología y características bioquímicas	9
2. PATOGENICIDAD DEL GÉNERO <i>ARCOBACTER</i>	13
2.1. Mecanismo de virulencia, adherencia y ataque.	13
3. RUTAS DE TRANSMISIÓN DE <i>ARCOBACTER SPP.</i>	19
3.1. Trasmisión por alimentos	21
3.2. Trasmisión por agua	22
3.3. Trasmisión por contacto con animales	23
3.4. Trasmisión de persona a persona	23
4. IMPORTANCIA CLÍNICA EN HUMANOS	24
4.1. Importancia clínica a nivel mundial	25
4.2. Importancia clínica en Chile	27
4.2.1. Descripción de los casos reportados	28
5. <i>ARCOBACTER SPP.</i> EN ANIMALES	30
6. IMPORTANCIA DE LA PESQUIZA DE <i>ARCOBACTER SPP.</i> EN ANIMALES DOMÉSTICOS	35

7. DIAGNÓSTICO CLÍNICO	37
7.1. Métodos para el aislamiento de <i>Arcobacter spp.</i>	38
7.2. Métodos moleculares de identificación	40
7.3. Sistemas comerciales automatizados	44
8. SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS	46
9. PREVENCIÓN Y CONTROL	49
CONCLUSIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
1. INTRODUCCION AL GÉNERO ARCOBACTER	5
1.1. Antecedentes taxonómicos del género <i>Arcobacter</i>.	5
Tabla 1. Taxonomía del <i>Arcobacter</i> .	6
Tabla 2. Especies del género <i>Arcobacter</i> .	8
1.2. Morfología y características bioquímicas	9
Tabla 3. Características bioquímicas de las especies de <i>Arcobacter</i> .	11
Tabla 4. Crecimiento en diferentes condiciones para las diferentes especies de <i>Arcobacter</i> .	12
2. PATOGENICIDAD DEL GÉNERO ARCOBACTER	13
2.1. Mecanismo de virulencia, adherencia y ataque	13
Tabla 4. Patogenicidad de <i>Arcobacter butzleri</i> en diferentes líneas celulares.	17
Tabla 5. Patogenicidad de <i>Arcobacter cryaerophilus</i> en diferentes líneas celulares.	18
4. IMPORTANICA CLÍNICA EN HUMANOS	34
4.1. Importancia clínica a nivel mundial	25
Tabla 7. Casos de infecciones intestinales asociadas a <i>Arcobacter spp.</i>	27

Tabla 8. Infecciones extra-intestinales asociadas a <i>Arcobacter spp.</i>	28
5. ARCOBACTER SPP. EN ANIMALES	30
Tabla 9. Prevalencia de <i>A. butzleri</i> en muestras fecales de diversos animales en Chile.	31
Tabla 10. Prevalencia de <i>A. butzleri</i> y <i>A. cryaerophilus</i> en muestras de animales y alimentos.	33
Tabla 11. Prevalencia de <i>Arcobacter spp.</i> en gatos y perros.	34

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
1. INTRODUCCION AL GÉNERO ARCOBACTER	5
2.1. Antecedentes taxonómicos del género <i>Arcobacter</i>.	5
Figura 1. Evolución y aparición de las especies de <i>Arcobacter</i> .	7
1.2. Morfología y características bioquímicas	9
Figura 2. Morfología microscópica de <i>Arcobacter butzleri</i> .	9
3. PATOGENICIDAD DEL GÉNERO ARCOBACTER	13
2.1. Mecanismo de virulencia, adherencia y ataque	13
Figura 3. Mecanismos de virulencia descrita para <i>Arcobacter spp.</i> en diferentes líneas celulares y ejemplificadas para células epiteliales intestinales.	15
4. RUTAS DE TRANSMISIÓN DE ARCOBACTER SPP.	19
Figura 4. Transmisión y patogenia de <i>Arcobacter spp.</i>	20
5. ARCOBACTER SPP. EN ANIMALES	30
Figura 5. Principales portadores de <i>Arcobacter spp.</i>	30
7. DIAGNÓSTICO CLINICO	37
7.2. Métodos moleculares de identificación.	40
Figura 6. Metodología diagnóstica para <i>Arcobacter</i>	41

Figura 7. Proceso de identificación bacteriana mediante secuenciación del ADNr 16S. 43

RESUMEN

Las bacterias del género *Arcobacter* son microorganismos pertenecientes a la familia *Campylobacteraceae*. El género *Arcobacter* comprende 25 especies, aisladas de una gran diversidad de hospedadores y nichos ecológicos. Actualmente *Arcobacter* ha emergido como un importante patógeno zoonótico, causando a veces infecciones graves en humanos y animales. Estos se han reportado en pollos, animales domésticos (ganado vacuno, cerdos, ovejas, perros, gatos), reptiles, carne (pollo, cerdo, cabra, cordero, bovino, conejo), y humanos en diferentes países. Están implicados como agentes causantes de diarrea, mastitis y aborto en animales, mientras que causan bacteriemia, endocarditis, peritonitis, gastroenteritis y diarrea en humanos. Tres especies, *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* y *A. skirrowii*, están asociadas predominantemente con afecciones clínicas. *Arcobacter* se transmiten principalmente a través de fuentes de agua y alimentos contaminados, sin embargo la existencia de diferentes portadores asintomáticos es la prueba de que estos microorganismos están siendo subestimados, debido principalmente, a las limitaciones en los métodos de detección e identificación, ya que no existe un aislamiento estándar para la identificación de bacterias de este género, si bien los avances de diagnóstico actuales han proporcionado varios métodos moleculares para la detección y diferenciación eficientes de los *Arcobacter* a nivel de especie, aun no existe un método considerado como el “Gold estándar”. En la era de la resistencia a los antibióticos existe la necesidad de superar el problema y explorar el potencial de terapias novedosas y alternativas, además de este se deben difundir las medidas de prevención y control de la infección. Por otro lado, en esta revisión se sugiere que, en el futuro, producto de la estrecha relación entre animales domésticos que permanecen en el hogar y sus dueños, determinar la contaminación del área anal y pelaje, de manera de realizar un muestreo que puede reflejar el riesgo potencial de la transmisión de *Arcobacter spp.* a los seres humanos.

Palabras claves: *Arcobacter*, animales, zoonosis, pesquisa, emergente, diagnóstico.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, se ha visto un incremento en la incidencia de enfermedades emergentes que afectan al ser humano, donde la mayoría de estas son de origen infeccioso e incluyen como agentes etiológicos bacterias, virus y parásitos. Es por ello que el estudio microbiológico se hace indispensable para el conocimiento de la patogénesis y epidemiología de estos, tal es el caso del género bacteriano *Arcobacter* (del latín *arcus*: arco y del griego *bacter*: bacteria) el cual ha tomado mayor importancia debido a que sus miembros están siendo considerados como enteropatógenos salientes y/o agentes zoonóticos potenciales (1).

Los integrantes del género *Arcobacter* no forman parte de la microbiota intestinal y el ser humano se puede infectar por la presencia de este microorganismo, ya sea en alimentos de origen animal o el agua, entre otras vías de transmisión que aún no han sido bien definidas. Tenemos que el rol de las diferentes especies de *Arcobacter* como causantes de patología tanto humana como animal no ha sido totalmente establecido y sólo tres especies, *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* y *A. skirowii*, han sido asociadas con padecimientos gastrointestinales, siendo la diarrea el principal síntoma reportado en la literatura (2), así mismo la principal fuente de contaminación investigada a sido los alimentos de origen animal y aguas contaminadas, dejando de lado la pesquisa o actualización de contenidos sobre el estado de portación de este género en animales de contacto habitual, como lo son los perros y gatos, siendo que *Arcobacter spp.* se ha vuelto una zoonosis emergente a nivel mundial.

Varios estudios han reportado la existencia de portadores asintomáticos, refiriéndose a diferentes animales, tanto salvajes como domésticos los cuales se encuentran en contacto frecuente con la población, lo cual aumenta las dudas sobre el potencial patogénico de este género bacteriano (2), por esto actualmente se considera que la importancia de las especies de *Arcobacter* están siendo subestimada, debido principalmente, a las limitaciones en los

métodos de detección e identificación, ya que no existe un método de aislamiento estándar para la identificación de bacterias de este género, no obstante, numerosos informes evidencian el impacto significativo de *Arcobacter* en la salud humana y animal. Por lo que el presente trabajo tiene por objetivo realizar una actualización de conocimientos en relación a la frecuencia de aislamiento y portación del género *Arcobacter* en animales domésticos, debido al carácter zoonótico y la extensa distribución de estos en la naturaleza.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

- 1.1. Actualizar conocimientos sobre la presencia de las diferentes especies de *Arcobacter* en animales domésticos.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.1. Identificar las principales especies de *Arcobacter* con potencial patogénico presente en los animales domésticos.
- 2.2. Informar los porcentajes de las diferentes especies patógenas aisladas en la literatura.

MARCO TEÓRICO

1. INTRODUCCIÓN AL GÉNERO *ARCOBACTER*

1.1. Antecedentes taxonómicos del género *Arcobacter*.

Las bacterias del género *Arcobacter* conforman la familia *Campylobacteraceae*, y fueron observados por primera vez en 1881 por el alemán Escherich a partir de heces de niños con diarrea, y se incluyeron en un primer momento dentro del género *Vibrio* por su morfología espiral. En 1963, Sebald y Verón propusieron un nuevo género para estas bacterias, *Campylobacter*, que etimológicamente significa "germen curvado", para agrupar a estos organismos que se diferencian de los vibrios particularmente por su crecimiento microaerófilo, su metabolismo no fermentativo y la baja composición del ADN en bases guanina + citocina (G+C)(3).

Años más tarde Neill y col. en 1985 estudiaron un gran número de cepas de estas "campylobacterias aerotolerantes" extraídas de animales abortados, definiendo una nueva especie, *Campylobacter cryaerophila*, capaz de crecer en presencia de oxígeno ambiental a 30 °C después de un primer aislamiento en microaerofilia. Posterior a esto Vandamme y col. en 1991 propusieron la formación de un nuevo género, de nombre *Arcobacter*, para agrupar estos microorganismos aerotolerantes similares a *Campylobacter*, de esta manera *Campylobacter cryaerophila* se convirtió en *Arcobacter cryaerophilus*. En el mismo año se

aceptó la propuesta de Vandamme y De Ley (3) que consistió en la inclusión de una nueva familia, de nombre *Campylobacteraceae*, así como la agrupación en ella de los géneros *Campylobacter* y *Arcobacter*. Este agrupamiento se hizo basándose principalmente en los caracteres fenotípicos y genotípicos que tenían en común las diferentes especies, y que a su vez logro separarlas de otros géneros bacterianos ya descritos.

Tabla 1. Taxonomía del *Arcobacter*.

Dominio	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Clase	<i>Epsilonproteobacteria</i>
Orden	Campylobacterales
Familia	<i>Campylobacteraceae</i>
Genero	<i>Arcobacter</i>

Las dos primeras especies incluidas en este género corresponden a *Arcobacter cryaerophilus* y *Arcobacter nitrofigilis*, distinguiéndose dos grupos para la especie de *A. cryaerophilus*, denominados 1A y 1B, los que han sido definidos como tales tras diversos estudios como análisis de polimorfismos de tamaños de fragmentos de restricción (RFLP) de los genes 16S y 23S del rRNA, perfil proteico (SDS-PAGE), perfil de ácidos grasos de la célula bacteriana (FAME) y análisis de polimorfismos de longitud de los fragmentos amplificados (AFLP) (4). No obstante, ambos grupos no han sido reconocidos como especies diferentes debido a la compleja estructura taxonómica de esta especie y a la falta de tests bioquímicos que diferencien claramente estos grupos (5). Posteriormente, otras especies han sido adicionadas a este género tales como *A. butzleri*, *A. skirrowii*, *A. cibarius* y *A. halophilus*. Entre las especies recientemente descritas se encuentra *A. molluscorum*, *A.*

defluvii, *A. marinus*, *A. trophiarum*, *A. mytili*, *A. faecis*, *A. anaquimarinus*, *A. lanthieri*, *A. anaerophilus*, *A. pacificus*, *A. ebronensis*, *A. thereius*, *A. ellisii*, *A. bivalviorum*, *A. venerupis*, *A. cloacae*, *A. suis*, *A. aticola* y *A. lekithochrous*. De estas, 4 se consideran patógenas para humanos y animales: *A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii*, y *A. cibarius* (6). En la figura 1 se presenta una visión general evolutiva de la aparición de especies de *Arcobacter* con nuevas incorporaciones de especies a lo largo de los años.

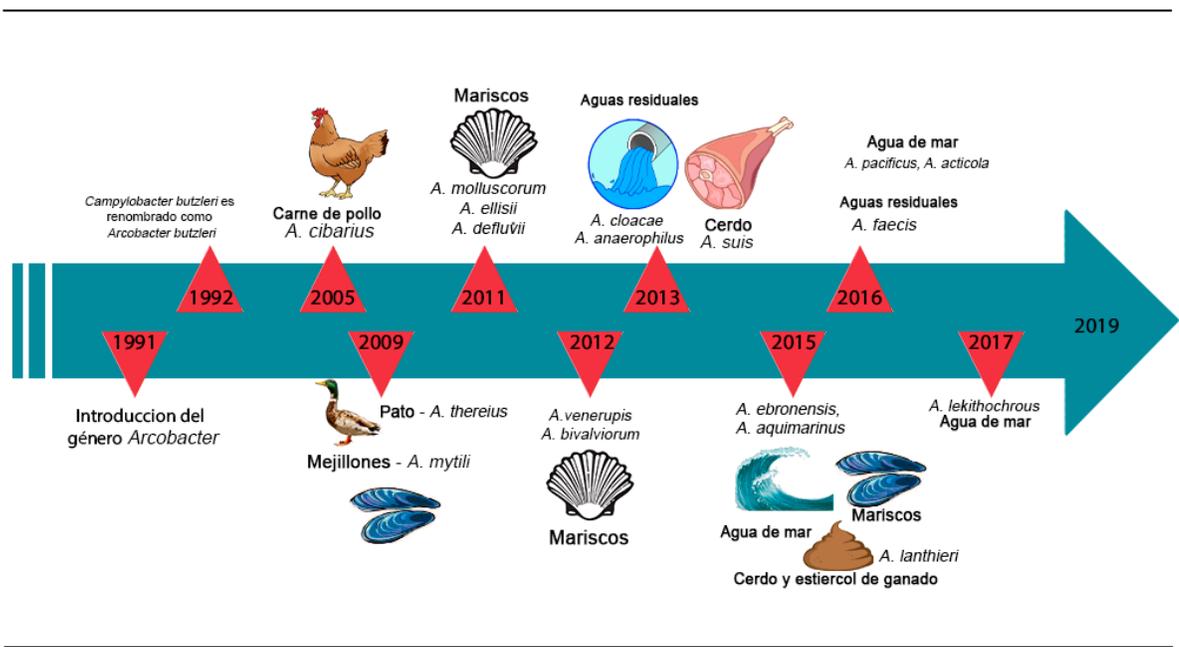


Figura 1. Evolución y aparición de las especies de *Arcobacter*. El nuevo género se estableció en el año 1991. Se incorporaron nuevas especies a lo largo del tiempo y actualmente se reconocen 25. En la figura se muestra algunos de los miembros de *Arcobacter* junto con la fuente y el año de aislamiento.

Tomado y adaptado de Ramees P. y col., 2017 (7)

Tabla 2. Especies del género *Arcobacter*.

Nombre	Origen	Referencia
<i>A. nitrofigilis</i>	Raíces de <i>Spatina alterniflora</i>	Mc. Clung C. y col., 1983 (8)
<i>A. cryaerophilus</i>	Fetos de ovinos	Neil S. y col., 1985 (9)
<i>A. butzleri</i>	Heces de humano	Kiehlbauch J. y col., 1991 (10)
<i>A. skirrowii</i>	Heces de ovino	Vandamme P. y col., 1992 (11)
<i>A. cibarius</i>	Carne de pollo	Houf K. y col., 2003 (12)
<i>A. halophilus</i>	Laguna hipersalina	Donachie S. y col., 2005 (13)
<i>A. mytili</i>	Mejillones	Collado L. y col., 2009 (14)
<i>A. thereius</i>	Cloaca de pato	Houf K. y col., 2009 (15)
<i>A. marinus</i>	Aguas de mar	Kim H. y col., 2010 (16)
<i>A. trophiarum</i>	Heces de cerdos	De Smet S. y col., 2011 (17)
<i>A. defluvii</i>	Mejillones	Collado L. y col., 2011 (18)
<i>A. molluscorum</i>	Mejillones	Figueras M. y col., 2011(19)
<i>A. ellisii</i>	Mejillones	Figueras M. y col., 2011 (20)
<i>A. venerupis</i>	Almejas	Levican A. y col., 2012 (21)
<i>A. bivalviorum</i>	Mejillones	Levican A. y col., 2012 (21)
<i>A. cloacae</i>	Residuos urbanos	Levican A. y col., 2013 (22)
<i>A. suis</i>	Heces de cerdo	Levican A. y col., 2013 (22)
<i>A. anaerophilus</i>	Aguas residuales	Sasi Jyothsna T. y col., 2013 (23)
<i>A. ebronensis</i>	Mejillones	Levican A. y col., 2015 (24)
<i>A. aquimarinus</i>	Agua de río	Levican A. y col., 2015 (24)
<i>A. lanthieri</i>	Cerdo y estiércol de ganado	Whiteduck-Léveillé K y col., 2015 (25)
<i>A. faecis</i>	Aguas residuales	Whiteduck-Léveillé K. y col., 2016 (26)
<i>A. pacificus</i>	Aguas de mar	Zhang Z. y col., 2016 (27)
<i>A. acticola</i>	Agua de mar	Park S. y col., 2016 (28)
<i>A. lekithochrous</i>	Agua de mar	Diéguez A. y col., 2017 (29)

1.2. Morfología y características bioquímicas.

El género *Arcobacter* se caracteriza como bacilos gram negativos curvos (figura 2), en forma de S cuando está en cultivos jóvenes y de forma cocoide o esférica en cultivos viejos. Es una bacteria no esporulada y su tamaño oscila entre 0,2 y 0,9 μm de ancho, con un largo entre 0,5 y 3,0 μm . Es móvil debido a la presencia de flagelos polares simples (2).

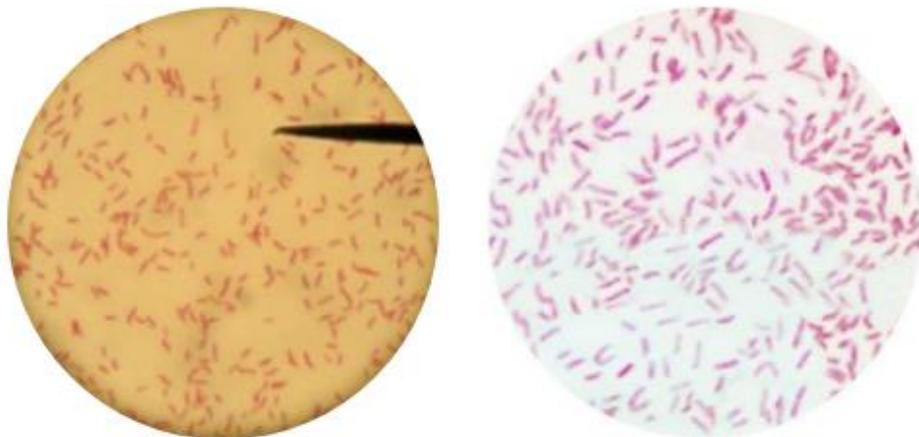


Figura 2. Morfología microscópica de *Arcobacter butzleri*. Tinción Gram (800x) del principal representante del género *Arcobacter* (3, 30) el cual se caracteriza por ser bacilo gram negativo, no esporulado, de morfología ligeramente curva y helicoidal.

Las colonias de *Arcobacter* comúnmente carecen de pigmentos, todas las especies tienen actividad oxidasa positiva, presentan reacción negativa con el rojo de metilo y con el Voges-Proskauer, no producen indol, excepto *A. mytili* y *A. molluscorum*. La mayoría de las

especies reducen nitratos y no hidrolizan el hipurato como se puede observar en la tabla 3. Son quimioorganotróficas y utilizan una gran variedad de fuentes de carbono como ácidos orgánicos y aminoácidos (3). La característica más importante es su dependencia del ion sodio (Na⁺). Las concentraciones mínimas requeridas de Na⁺ para conseguir un crecimiento óptimo se encuentran dentro de un rango que va desde 0,5 al 4 %, todas las especies reaccionan positivamente a la concentración mínima, a excepción de *A. halophilus* y *A. marinus* (6), lo cual se puede apreciar en la tabla 4.

En general, son difíciles de identificar, ya que puede confundirse fácilmente con *Campylobacter*, debido a que las pruebas bioquímicas utilizadas para diferenciar bacterias clínicas. Por lo que dentro de sus características y por las cuales se diferencia del género *Campylobacter* se encuentra el hecho de que pueden crecer en un rango de temperaturas que oscila entre los 15 - 42°C, en condiciones aerobias o anaerobias. Sin embargo, el crecimiento óptimo ocurre bajo condiciones de microaerofilia (3-10 % O₂) y no requieren de hidrógeno para su crecimiento (2).

Tabla 3. Características bioquímicas de las especies de *Arcobacter*.

Especies	Actividad catalasa	Actividad ureasa	Reducción de nitrato	Hidrolisis de indoxil-acetato
1	-	+	-	+
2	+	-	+	+
3	+	+	+	+
4	+	-	+	+
5	V (+)	-	+	+
6	+	-	+	+
7	V (-)	-	-	+
8	-	-	+	+
9	+	-	+	-
10	+	-	+	+
11	-	-	+	+
12	+	-	-	+
13	+	+	+	+
14	+	-	+	-
15	+	V (-)	+	+
16	+	-	-	+
17	+	+	+	+
18	+	-	+	+
19	+	-	+	+
20	-	-	+	+
21	+	-	+	+
22	ND	ND	ND	ND
23	+	-	+	+
24	+	ND	ND	ND
25	+	ND	ND	ND

V (-/+): variable. /ND: No determinado

1, *A. ebronensis*; **2**, *A. aquimarinus*; **3**, *A. nitrofigilis*; **4**, *A. cryaerophilus*; **5**, *A. butzleri*; **6**, *A. skirrowii*; **7**, *A. cibarius*; **8**, *A. halophilus*; **9**, *A. mytili*; **10**, *A. thereius*; **11**, *A. marinus*; **12**, *A. trophiarum*; **13**, *A. defluvii*; **14**, *A. molluscorum*; **15**, *A. ellisii*; **16**, *A. bivalviorum*; **17**, *A. venerupis*; **18**, *A. cloacae*; **19**, *A. suis*; **20**, *A. anaerophilus*. **21**, *A. lanthieri*; **22**, *A. pacificus*; **23**, *A. faecis*; **24**, *A. aticola*; **25**, *A. lekithochrous*.

Tomado y adaptado de Rojas Z., 2011 (47).

Tabla 4. Crecimiento en diferentes condiciones para las diferentes especies de *Arcobacter*.

Especies	Medio mínimo	Mac-Conkey	Aerobiosis a 37°C	CO2 a 37°C	CO2 a 42°C	0,5 % NaCl	4% de NaCl
1	+	-	-	-	-	+	+
2	-	-	+	+	-	+	-
3	-	-	V (-)	-	-	+	+
4	-	V (-)	V (+)	V (+)	-	+	-
5	+	+	+	+	V (+)	+	-
6	-	-	+	+	-	+	+
7	+	+	-	+	-	+	-
8	-	-	+	+	-	-	+
9	-	+	+	+	+	+	+
10	+	V (+)	-	-	-	+	-
11	-	-	+	+	-	-	+
12	-	V (+)	-	-	-	+	-
13	+	+	+	+	+	+	-
14	-	+	+	+	+	+	+
15	+	V (+)	+	+	+	+	-
16	-	-	+	+	-	+	+
17	+	+	-	+	-	+	-
18	V (+)	+	+	+	-	+	-
19	+	+	-	-	-	+	-
20	ND	ND	-	-	-	+	+
21	ND	+	+	+	-	ND	-
22	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
23	ND	+	+	+	-	ND	-
24	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND
25	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND

V (-/+): variable. /ND: No determinado.

1, *A. ebronensis*; **2**, *A. aquimarinus*; **3**, *A. nitrofigilis*; **4**, *A. cryaerophilus*; **5**, *A. butzleri*; **6**, *A. skirrowii*; **7**, *A. cibarius*; **8**, *A. halophilus*; **9**, *A. mytili*; **10**, *A. thereius*; **11**, *A. marinus*; **12**, *A. trophiarum*; **13**, *A. defluvii*; **14**, *A. molluscorum*; **15**, *A. ellisii*; **16**, *A. bivalviorum*; **17**, *A. venerupis*; **18**, *A. cloacae*; **19**, *A. suis*; **20**, *A. anaerophilus*. **21**, *A. lanthieri*; **22**, *A. pacificus*; **23**, *A. faeci*; **24**, *A. aticola*; **25**, *A. lekithochrous*.

Tomado y adaptado de Rojas Z., 2011 (47).

2. PATOGENICIDAD DEL GÉNERO *ARCOBACTER*

La adhesión, invasión y citotoxicidad contribuyen al potencial patogénico de las bacterias, ya que todas pueden producir impedimentos de barrera que provocan una diarrea acuosa en el huésped. Los mecanismos patogénicos de las diferentes especies de *Arcobacter* aún son poco conocidos, a pesar de existir varios estudios que analizan su capacidad invasiva, de adherencia y citotoxicidad en varias líneas celulares (31). Si bien, es sabido que las diferencias respecto a la patogenicidad de *Arcobacter* podrían depender del origen de la cepa, es decir si esta es clínica o ambiental (32), así como de la línea celular que se emplea para su estudio.

2.1. Mecanismo de virulencia, adherencia y ataque

El carácter patogénico de un microorganismo determina su virulencia, en otras palabras, la virulencia está vinculada al grado de patogenicidad de un microorganismo, es decir, a su capacidad de causar daño. Según los estudios disponibles, se entiende que la adhesión, invasión del patógeno, secreción de toxinas y citoquinas proinflamatorias (IL-8) desempeña un papel importante en el establecimiento de la infección en el huésped. Karadas y col., investigaron los mecanismos por los cuales *A. butzleri* induce diarrea en células epiteliales de colon humano (HT-29/B6) y porcino (IPEC-J2) (31), indicando que se produce daño en la barrera epitelial por una reducción en la expresión de las proteínas claudinas, así como la inducción de apoptosis epitelial dando lugar a la producción de diarrea. El deterioro de la función epitelial se observe principalmente en las monocapas epiteliales colónicas HT-

29/B6 humanas debido a la infección causada por *A. butzleri*. La familia de las proteínas claudinas es una de la más importante como barrera epitelial, y las claudinas 1, 5 y 8 tienen propiedades de sellado de esta (7). *A. butzleri* induce la disfunción de la barrera en las células HT-29/B6 intestinales, lo cual provoca que estas proteínas no logren expresarse correctamente, lo que conduce a una disfunción de la barrera epitelial. La virulencia de *A. cryaerophilus* se describió por primera vez cuando se observó que las cepas analizadas en esta investigación indujeron la acumulación de líquido y electrolitos en el ensayo del bucle ileal de rata y mostraron una invasión *in vitro* en células HEp-2 (33), las cuales son un tipo particular de células de cultivo neoplásicas inmortalizada. Esta especie parece ser más virulenta para los animales que las otras, debido a que pueden invadir tanto los tejidos intestinales porcinos como la placenta, diseminándose al feto (34).

La capacidad patógena *in vitro* se ha demostrado principalmente para *A. cryaerophilus*, sin embargo *A. butzleri* sería la especie más invasiva en infecciones experimentales con animales. Estos microorganismos poseen la capacidad de adherencia al epitelio, lo que causa una disfunción de la barrera epitelial, induciendo cambios en las proteínas de unión estrecha y apoptosis celular (figura 3), lo que produce una diarrea secretora (35). Por otro parte, el lipooligosacárido (LPS) se ha caracterizado en *A. halophilus* y se ha informado que el LPS desempeña un papel en la supervivencia de este organismo en el medio ambiente marino. Así mismo se han planteado el hecho de que como *Arcobacter* es móvil como *Campylobacter*, sus flagelos también pueden tener un papel en la invasión de células como se informa en otras bacterias (7), en donde los flagelos ayudan en la motilidad y también en la colonización del patógeno.

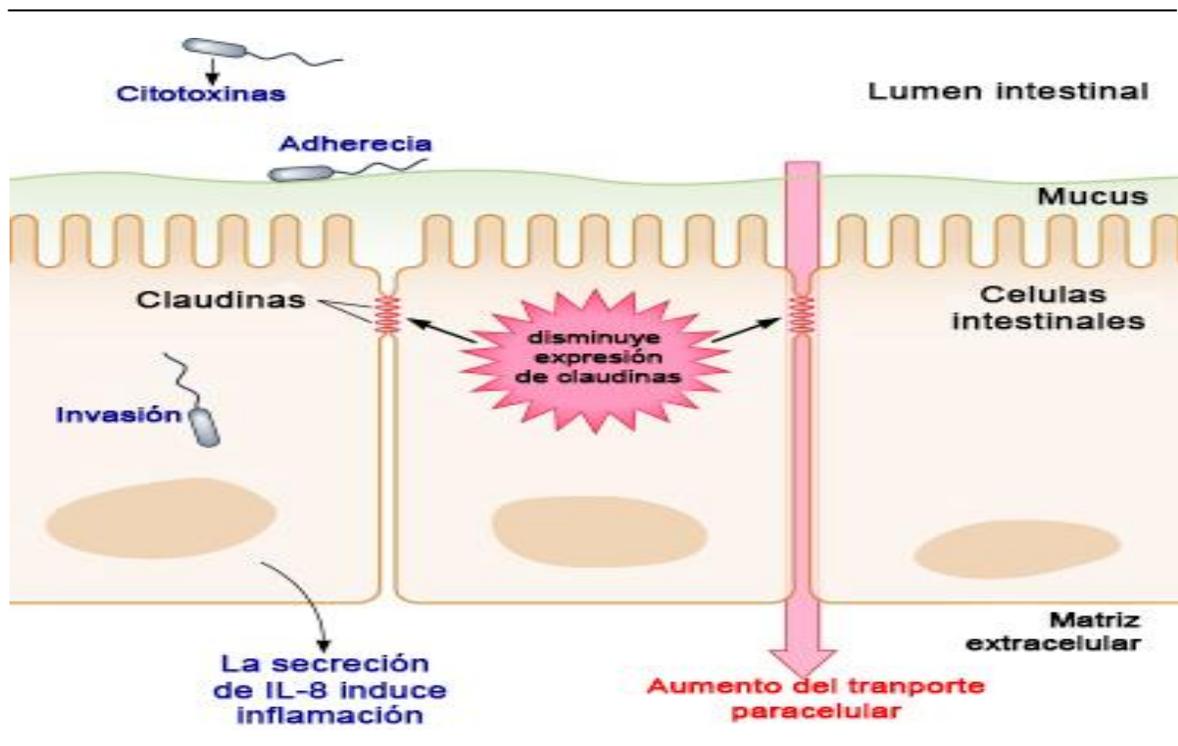


Figura 3. Mecanismos de virulencia descrito para *Arcobacter spp.* en diferentes líneas celulares y ejemplificados para células epiteliales intestinales (6). Las cepas de las especies de *Arcobacter* han demostrado la capacidad de producir citotoxicidad, adherencia, invasión e inflamación mediada por la interleucina-8 (IL-8). La capacidad para disminuir la expresión de claudina en uniones estrechas con disfunción de la barrera epitelial y el aumento concomitante en el transporte paracelular, que conduce a una diarrea.

Tomado y adaptado de Collado L. y col., 2011 (6).

Así mismo, se ha descrito la presencia de diez genes de virulencia en la cepa de *A. butzleri* ATCC49616 y en varias cepas humanas y animales en estudios realizados por Miller y col. (36). Algunos de estos genes, corresponde a el cadF (gen de la proteína de unión a la fibronectina), flaA (gen de la proteína de la flagelina A) y hecA (gen de la hemaglutinina), los cuales comparten similitudes con los genes de virulencia de *Campylobacter jejuni* (37).

Entre la funciones de los diferentes genes se incluyen; *cadF* y *cj1349* constituyen el código genético para las proteínas de la membrana externa que facilitan el contacto de las células epiteliales intestinales a la fibronectina; el gen *ciaB* está involucrado en la invasión de la célula huésped, el gen *pIdA* codifica la fosfolipasa A de la membrana externa que hidroliza los enlaces del éster acilo, el gen *tlyA* es un gen de la hemolisina, el gen *irgA* codifica un receptor de la membrana externa para la enterobactina, el gen *hecA* es un miembro de la familia hemaglutinina filamentosa y el gen *hecB* se utiliza para la activación de la hemolisina (7).

Por otro lado, existen diversos estudios que han investigado la capacidad de adhesión, invasividad y citotoxicidad de estos microorganismos en varias líneas celulares como se puede apreciar en las tablas 5 y 6, las que incluyen las especies de *A. butzleri* y *A. cryaerophilus* respectivamente, debido a su potencial patogénico. En estos se puede apreciar que *A. butzleri* presenta un 50% (36/72), 13% (4/30) y 83% (133/161) de adhesión, invasión, y la citotoxicidad, respectivamente, en las diferentes líneas celulares utilizadas. A pesar de lo anterior, la existencia de estos y otros estudios sobre la adhesión, invasión y capacidades toxigénicas, los mecanismos de patogenicidad y virulencia de *A. butzleri* aún no se conocen bien, ya que hay pocos ensayos experimentales que aborden este tema, tanto en modelos animales como humanos (36).

A pesar de que esta especie está asociada a enfermedades humanas, muy poco se conoce sobre cuál es el rol que juegan en la infección las características del hospedador, incluyendo edad, sexo y estado inmunológico, pero al igual que con otros patógenos, se estima que son factores predisponentes, que facilitan o propician la infección (38).

Tabla 5. Patogenicidad de *Arcobacter butzleri* en diferentes líneas celulares.

Origen de las cepas	Línea celular	Adhesión	Invasión	Citotoxicidad
Agua de mar	Hep-2	6/7	N/D	N/D
Heces humanas	Hep-2	12/12	4/12	3/12
Zooplacton	Hep-2	4/4	N/D	N/D
Agua de río	HeLa	6/17	N/D	N/D
Agua de río	HeLa	1/8	0/8	N/D
Agua de río	HeLa	N/D	N/D	3/3
Animal/humano	HeLa	N/D	N/D	3/3
Zooplacton	HeLa	4/4	N/D	N/D
Agua de río	INT407	1/8	0/8	N/D
Agua de río	INT407	N/D	N/D	3/3
Animal/humano	INT407	N/D	N/D	3/3
Agua de río	INT407	N/D	N/D	17/18
Agua de mar	INT407	N/D	N/D	5/17
Carne	INT407	N/D	N/D	76/80
Zooplacton	INT407	N/D	N/D	¾
Agua de río	CHO	N/D	N/D	17/18
Sangre Humana	IPI-2I	1/1	0/1	N/D
Sangre Humana	IPI-2I	1/1	0/1	N/D
TOTAL		36/72(50%)	4/30 (13%)	133/161 (83%)

Hep-2: línea celular de carcinoma de laringe humana; **HeLa:** línea celular de carcinoma cervical humano; **INT407:** línea celular epitelial intestinal de embrión humano; **CHO:** línea celular de ovario de hámster chino; **IPI-2I:** línea celular epitelioide porcina.

N/D: no determinado.

Tomado y adaptado de Collado L. y col., 2011 (6).

En cuanto a lo que respecta de *A. cryaerophilus*, este presenta un 64% (14/22), 50% (5/10) y 100% (14/14) de adhesión, invasión, y la citotoxicidad, respectivamente, en las diferentes líneas celulares utilizadas, siendo la toxicidad y la adherencia los efectos observados con mayor frecuencia en ambas especies.

Tabla 6. Patogenicidad de *Arcobacter cryaerophilus* en diferentes líneas celulares.

Origen de las cepas	Línea celular	Adhesión	Invasión	Citotoxicidad
Heces de cerdo	Hep-2	N/D	1/1	N/D
Feto bovino	Hep-2	N/D	1/1	N/D
Heces humanas	Hep-2	4/7	N/D	N/D
Agua de río	HeLa	N/D	N/D	3/3
Animal/humano	HeLa	N/D	N/D	3/3
Agua de río	INT407	N/D	N/D	3/3
Animal/humano	INT407	N/D	N/D	3/3
Carne	INT407	N/D	N/D	2/2
Porcino/ ovino	Caco-2	4/4	2/4	N/D
Heces humanas	Caco-2	2/7	N/D	N/D
Porcino/ovino	IPI-2I	4/4	2/4	N/D
TOTAL		14/22 (64%)	5/10 (50%)	14/14 (100%)

Hep-2: línea celular de carcinoma de laringe humana; **HeLa:** línea celular de carcinoma cervical humano; **INT407:** línea celular epitelial intestinal de embrión humano; **Caco-2:** línea celular de tipo enterocito humano; **IPI-2I:** línea celular epitelioide porcina.
N/D: no determinado.

Tomado y adaptado de Collado L., 2011 (6).

3. RUTAS DE TRANSMISIÓN DE *ARCOBACTER*

La transmisión es el mecanismo por el cual una enfermedad o un microorganismo es transmisible, es decir pasa de un hospedero a otro, existiendo diferentes vías de contagio, ya sea por contacto directo o indirecto, inhalación (por el aire) e ingestión de alimentos o aguas contaminadas (figura 4). Las especies patógenas, y por consiguiente trasmisibles del género *Arcobacter* principalmente son cuatro: *A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii* y *A. cibarius*. La infección por parte de estas puede ocurrir por contaminación cruzada mediante la manipulación de alimentos, el consumo de alimentos de origen animal, el consumo de agua contaminada o la contaminación directa con materia fecal, tanto animal como humana, así como por contacto con el individuo enfermo o reservorios animales.

Los alimentos se plantean como una de sus principales rutas de transmisión, debido al mal manejo de los alimentos crudos o el consumo de estos mal cocidos y contaminados, ya sean origen animal como la carne, leche y sus sub producto, y comida marina (mariscos) (2). En segundo lugar, la literatura señala al agua como un factor importante en la transmisión de las especies de *Arcobacter*, tanto para los animales como para los humanos. Se ha estimado que cerca del 63% de las infecciones en humanos se debe al consumo o contacto con agua contaminada, ya que esta bacteria también ha sido recuperada de muestras de aguas ambientales como ríos, lagos, aguas subterráneas y aguas marinas (39). Por esto se señala el hecho de que *Arcobacter* es un patógeno potencial de transmisión alimentaria e hídrica. En consecuencia, la transmisión se ve favorecida por características propias de la bacteria que la hacen resistente a ambientes adversos, incluyendo su tolerancia a altas concentraciones de hipoclorito de sodio, a metales pesados, su capacidad de crecer a bajas temperaturas, en ambientes secos y de adherirse a diversas superficies (40).

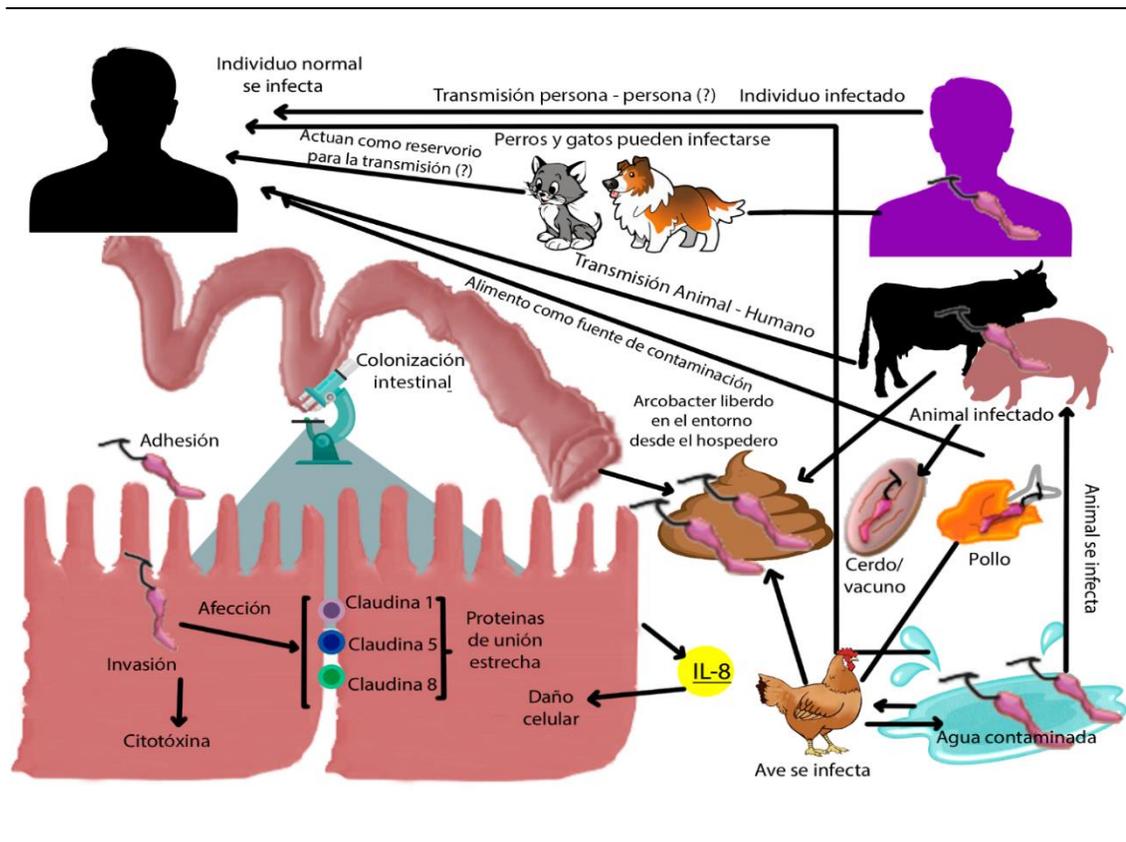


Figura 4. Transmisión y patogenia de *Arcobacter ssp.* *Arcobacter* después de la entrada a través del tracto digestivo, coloniza el intestino. Varios mecanismos como la producción de citotoxina, que afectan la expresión de proteínas de unión estrecha, la liberación de citoquinas proinflamatorias y la disfunción de la barrera epitelial conducen a la muerte celular. El microorganismo se libera al medio ambiente donde contamina fuentes de agua y alimentos que entran en la cadena alimentaria humana.

Tomado y adaptado de Ramees P. y col., 2017 (7).

3.1. Transmisión por alimentos

Diversos estudios han investigado los productos cárnicos, en los cuales se encuentran incidencias de entre el 14 % y el 53 % en carne de cerdo (41), del 16,9 % al 46,8 % en carne de ternera, y del 10 % en la carne de conejo (39). Los resultados de estos estudios sugieren que la contaminación de estos productos ocurre probablemente por contaminación cruzada de las canales con las heces de los animales durante el faenado en el matadero (42).

Por otro lado, aunque aún son pocos los estudios que han evaluado el potencial de transmisión de los moluscos, mejillones, ostras, entre otros alimentos marinos, estos han observado que la especie predominante es *A. butzleri* seguida de *A. cryaerophilus* y finalmente *A. skirrowii* (41, 43), al parecer que podrían actuar como una importante fuente de transmisión, dado que a menudo son consumidos poco cocinados o crudos. Por lo cual existe la necesidad de realizar más estudios para determinar el papel real de estos alimentos en la infección por *Arcobacter* (42). Por otra parte, la presencia de *Arcobacter* en muestras de leche también ha sido reportada. Un estudio realizado por Pianta y col.(44), encontró una prevalencia de 3,8% para *Arcobacter spp.* en muestras de leche de animales con signos de mastitis en Brasil, mientras que en Turquía también se reportó la prevalencia de *Arcobacter spp.*, pero de bovinos lecheros sanos.

En lo que consta de las verduras, estas no parecen ser un reservorio para *Arcobacter*, sin embargo, este tipo de alimento puede ser contaminado por el agua de riego, así como en el lavado de las verduras durante el manejo postcosecha. En este caso, la reutilización del agua de lavado o una desinfección insuficiente pueden conducir a la contaminación cruzada de las verduras. Otra posible vía de contaminación de los vegetales es la presencia de partículas del suelo contaminadas con descargas fecales de animales.

3.2. Transmisión por agua

El agua de mar es considerada el hábitat natural para muchas especies del género *Arcobacter*, probablemente se deba a que estos son grandes filtradores de agua. Así mismo, el agua residual también ha sido propuesta como otro reservorio importante de este género. Efectivamente, estas han dado origen al descubrimiento de nuevas especies, como *A. defluvii* en 2011 y *A. faecis* en 2016 (45). Por otra parte, estudios de prevalencia de *Arcobacter* en distintos tipos de aguas han revelado la presencia de este microorganismo en aguas subterráneas, residuales, de ríos, lagos y mares (46).

En cuanto al agua potable, está señalada como un factor de riesgo importante en la adquisición de enfermedades diarreicas asociadas con *Arcobacter*. La literatura señala tres brotes infecciosos significativos asociados al consumo de agua contaminada por *Arcobacter*. El primero se registró en los Estados Unidos (EE.UU), en un campamento de verano en Idaho, y afectó a un grupo de niños que presentaron diarrea, náuseas y vómitos. El segundo, también ocurrido en los EE.UU, se debió a una contaminación masiva de las aguas subterráneas (3), y el ultimo, ocurrido en Eslovenia, fue causado por contaminación fecal del sistema de agua potable. Si bien en los últimos años, el número de brotes por consumo de agua se ha incrementado notablemente, la alta prevalencia de estos microorganismos en diferentes tipos de aguas ha hecho suponer que las especies de *Arcobacter* podrían ser autóctonas de ambientes acuáticos (45). Sin embargo, en todos los casos de brotes el agua potable presentaba contaminación fecal, por lo que su verdadero origen aún no ha podido ser totalmente probado.

3.3. Trasmisión por contacto con animales.

Por otra parte, debido a que especies del género *Arcobacter* se encuentran aislados de muestras fecales de animales domésticos como perros y gatos (tabla 9,10 y 11), se sugiere que estos podrían ser una importante ruta de difusión de *Arcobacter* al ambiente y al ser humano.

3.4. Trasmisión de persona a persona

Debido al reporte de dos casos clínicos específicos (48), se ha propuesto que se podrían dar las condiciones para la transmisión de *Arcobacter* desde una persona infectada a otra. El primer caso, ocurrió en Italia, en donde todas las cepas aisladas en los 10 pacientes afectados mostraron el mismo fenotipo y genotipo (49). El segundo caso hace referencia a un recién nacido presumiblemente infectado a través de la placenta (50), en ambos casos clínicos la especie aislada fue *A. butzleri*, lo cual nos lleva a pensar nuevamente en el potencial patogénico de esta especie dentro del género *Arcobacter*.

4. IMPORTANCÍA CLÍNICA EN HUMANOS

El género *Arcobacter* llama cada vez más la atención de epidemiólogos y microbiólogos clínicos, debido a que algunos de sus miembros se consideran enteropatógenos emergentes y potenciales agentes zoonóticos (47). La gravedad del cuadro clínico en las infecciones es muy variada, pero el síntoma principal es la diarrea acuosa persistente, en contraste con la diarrea sanguinolenta encontrada en los casos de *C. jejuni* (51), en contraste del resto de las características microbiológicas o similares que estas poseen.

La especie *A. cryaerophilus*, originalmente identificada en 1988 como *C. cryaerophila*, fue la primera aislada de un espécimen humano, esta se recuperó de una sola muestra de heces de un hombre homosexual de 35 años que presentó diarrea intermitente durante 4 a 6 meses (52). Aunque el papel de las especies de *Arcobacter* en enfermedades humanas aún no está bien establecida, *A. butzleri* y *A. cryaerophilus* se han asociado con enfermedades gastrointestinales en varias ocasiones (tabla 7 y 8), tanto en los estudios poblacionales como en casos clínicos.

En este momento, aun se considera que la importancia clínica de las especies de *Arcobacter* están siendo subestimada, debido principalmente a las limitaciones en los métodos de detección e identificación, provocando que los trabajos publicados ofrezcan valores distintos de prevalencia, y a su vez, no puedan ser comparados entre sí de manera eficaz (2). A pesar de esto, numerosos estudios evidencian que existe un impacto significativo de *Arcobacter* en la salud, tanto humana y animal.

4.1. Importancia clínica a nivel mundial.

La gravedad del cuadro clínico en las infecciones de *Arcobacter* es muy variada, presentándose desde infecciones asintomáticas, diarreas leves, diarreas crónicas y abundantes, hasta casos entéricos graves que ameritan hospitalización. Si bien diferentes especies de este género han sido aisladas de muestras fecales de personas con diarrea, y en personas con bacteriemia, endocarditis y peritonitis (50, 53, 54), como se puede apreciar en las tablas 7 y 8 respectivamente, generalmente *A. butzleri* tiende a tener la prevalencia más alta, seguido de *A. cryaerophilus* y *A. skirrowii*. De hecho, en dos estudios independientes realizados en Bélgica y Francia, *A. butzleri* fue el cuarto organismo más común, similar a *Campylobacter* (6), recuperado de heces de pacientes con diarrea. Además de esto, cabe mencionar el estudio de Jiang y col.(55), en el cual encontraron que esta especie es el agente etiológico de la diarrea del viajero adquirida por los viajeros estadounidenses y europeos a México, Guatemala e India, correspondiendo al primer estudio que demuestra la asociación de *Arcobacter* con este tipo de infección.

En cuanto a las infecciones ocasionadas por *A. cryaerophilus*, solo diez casos han sido reportados (52, 56, 57), de estos cuatro casos se resumen en las tablas 7 y 8 que se presentan a continuación. El primer caso de diarrea por *A. cryaerophilus* se remonta a 1988, como ya fue mencionado anteriormente, mientras que el segundo caso correspondió a una diarrea persistente sanguinolenta y acuosa sufrida por una mujer de 26 años en España, la cual tuvo una duración de 3 semanas aproximadamente. Los otros son casos de bacteriemia, uno en Taiwán que involucró a una mujer inmunocomprometida de 72 años con uremia que presentó una neumonía hematógena, el otro en un niño de 7 años en Hong Kong. Por otro lado, *A. skirrowii* se ha asociado con gastroenteritis en algunas ocasiones, los casos reportados incluyen un paciente anciano en el que causaba diarrea persistente, un escolar y cinco pacientes hospitalizados (58).

Tabla 7. Casos de infecciones intestinales asociadas a *Arcobacter spp.*

Sexo/ edad del paciente	País de origen	Presentación	Especie identificada
M/ 35 años	Australia	Diarrea crónica (6 meses de evolución)	<i>Arcobacter cryaerophilus</i>
M/ 3-7 años* F/ 3-7 años*	Italia	Sin diarrea, dolor abdominal, vómitos ocasionales o fiebre	<i>Arcobacter butzleri</i>
1. M/ 48 años 2. F/ 52 años	Alemania	1. Diarrea acuosa aguda (15 días) y cólicos abdominales 2. Diarrea crónica (3 semanas) y cólicos abdominales	<i>Arcobacter butzleri</i>
1. M/ 2 años 2. F/ 1 año	Chile	1. Diarrea mucosa aguda y vómitos 2. Diarrea crónica (4 meses) con cólicos abdominales y dolor	<i>Arcobacter butzleri</i>
M/ 73 años	Bélgica	Diarrea crónica (2 meses)	<i>Arcobacter skirrowii</i>
M/ 30 años	Turquía	Diarrea acuosa aguda, dolor abdominal, náuseas y sudoración	<i>Arcobacter butzleri</i>
M/ 26 años	España	Diarrea persistente sanguinolenta y acuosa (3 semanas)	<i>Arcobacter cryaerophilus</i>

M: masculino / **F:** femenino

*4 pacientes del sexo masculino y 6 del sexo femenino entre 3 y 7 años

Tomado y adaptado de Figueras M. y col., 2014 (54).

Tabla 8. Infecciones extra-intestinales asociadas a *Arcobacter spp.*

Sexo/ edad del paciente	País de origen	Presentación	Especie identificada	Referencias
Recién nacido	Reino unido	Bacteriemia	<i>Arcobacter butzleri</i>	On S., 1995 (50)
Recién nacido	Taiwán	Bacteriemia	<i>Arcobacter butzleri</i>	On S., 1995 (50)
M / 60 años	Taiwán	Bacteriemia y neumonía	<i>Arcobacter butzleri</i>	Yan J., 2000(59)
M/ 72 años	Taiwán	Bacteriemia con fiebre y hematemesis	<i>Arcobacter cryaerophilis</i>	Hsueh, 1997 (57)
F/ 69 años	Hong Kong	Bacteriemia con fiebre y dolor en el cuadrante inferior	<i>Arcobacter butzleri</i>	Lau, 2002(60)
M/ 7 años	Hong Kong	Bacteriemia	<i>Arcobacter cryaerophilis</i>	Woo, 2001(56)
F/ 63años	China	Peritonitis	<i>Arcobacter spp.</i>	Yap, 2013 (53)

M: masculino / **F:** femenino

4.2. Importancia clínica en Chile.

En Chile existe escasa información sobre este grupo de bacterias. Fernández y col. (61) reportaron los primeros aislamientos en el país y probablemente en Sudamérica. En la tabla 7, y a continuación, se puede apreciar los primeros casos de diarrea crónica en humanos que fueron causados por *A. butzleri* en Chile. El aislamiento de *A. butzleri*, en asociación con síntomas clínicos y en ausencia de otros patógenos entéricos, así como el tratamiento exitoso con eritromicina, sugieren que este microorganismo fue el responsable en ambos casos.

4.2.1. Descripción de los casos reportados.

Caso 1 (61). Un niño de 2 años y 6 meses de edad ingresó en la Unidad de Gastroenterología Pediátrica del Hospital del Condado de Valdivia, Chile con un episodio de gastroenteritis aguda asociada a vómitos, mucosidad heces diarreicas sin sangre o pus y deshidratación moderada, que requieren hospitalización. Tres muestras de heces obtenidas cada dos días se examinaron en busca de óvulos y parásitos. Se obtuvieron dos muestras fecales adicionales. Uno se probó para rotavirus y el otro se cultivó solo para la pesquisa de enterobacterias. Todas las pruebas fueron negativas. Por lo cual, se le prescribió terapia de fluidos parenteral, régimen dietético antidiarreico y ninguna terapia antimicrobiana. El paciente mejoró rápidamente al ser dado de alta después de 48 h de hospitalización.

Durante los tres meses siguientes sufrió varios episodios diarreicos cortos e intermitentes hasta que ingresó nuevamente en la Unidad de Gastroenterología Pediátrica, con antecedentes de diarrea mucosa de dos días sin signos de deshidratación, por lo cual se le tomaron muestras de heces para el estudio de parásitos, rotavirus, enterobacterias, *Campylobacter* y *Arcobacter*. En estas no se reportaron parásitos, rotavirus, bacterias enteropatógenas clásicas ni *Campylobacter spp.* Sin embargo, en placas de agar con sangre incubadas a 37°C en atmósfera microaerófila y a 26°C en condiciones aeróbicas, se aislaron colonias pequeñas, redondas, cóncavas, no hemolíticas. La tinción de Gram de las colonias de ambas placas mostró barras curvadas Gram negativas y en forma de S que eran activamente móviles en preparaciones húmedas bajo microscopía de contraste de fase. Las pruebas de oxidasa y catalasa dieron reacciones positivas. Los subcultivos incubados aeróbicamente a 42 ° C no crecieron, pero los microorganismos pudieron crecer a 37, 26 y 15 ° C. Su crecimiento y características morfológicas, así como sus propiedades bioquímicas, fueron compatibles con las de *A. butzleri*

Caso 2 (61). Niña de 1 año, con antecedentes de dos episodios diarreicos agudos, uno a los 8 meses y el otro a los 10 meses de edad. En ambas oportunidades, se observó el síndrome diarreico sin deshidratación y no se observó sangre ni leucocitos en las heces, ya que el paciente fue tratado con éxito solo con régimen dietético antidiarreico.

La paciente, hermana del caso 1, durante los últimos tres meses sufrió de forma intermitente calambres abdominales y dolor, a veces con heces no bien formadas. Teniendo en cuenta este cuadro clínico y el aislamiento de *A. butzleri* de su hermano, se tomó una muestra de heces, se realizaron los mismos estudios de laboratorio descritos anteriormente y solo se aisló *A. butzleri*. Posteriormente, fue tratada con eritromicina (50 mg / kg / día dividida en cuatro dosis durante 10 días) y régimen dietético. El dolor abdominal y los calambres desaparecieron después del tratamiento y *A. butzleri* ya no se pudo detectar en los dos cultivos de heces de control realizados.

5. ARCOBACTER SPP. EN ANIMALES

Las especies de *Arcobacter* que han sido definidas como potenciales agentes zoonótico debido a su rol patogénico en animales, debido a que ha sido aislado a partir de muestras del tracto intestinal y heces de diferentes animales (tabla 9). Encontrándose presente en el ganado vacuno, porcino, ovino, caprino, en pollo y otras aves de corral, como también en perros y gatos.

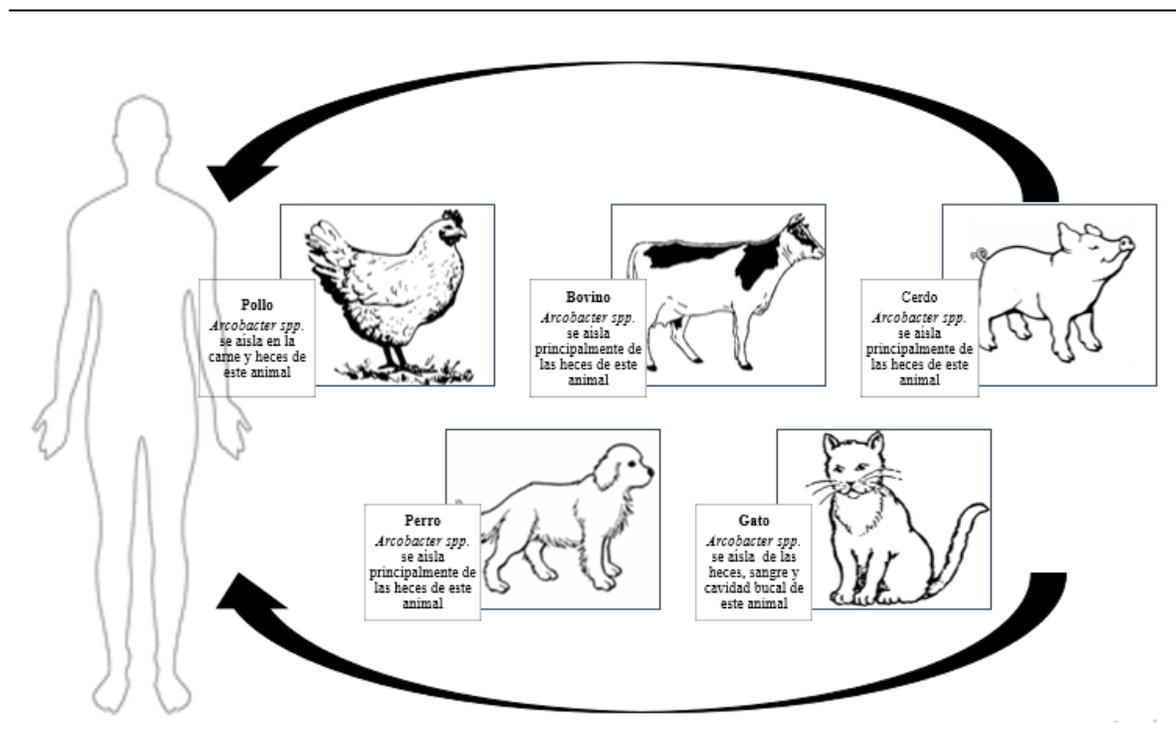


Figura 5. Principales portadores de *Arcobacter* spp. En la figura se muestran los animales domésticos que poseen mayor contacto con el ser humano, y el aislamiento de *Arcobacter* spp.

Tabla 9. Prevalencia de *A. butzleri* en muestras fecales de diversos animales en Chile.

Muestra fecal	N° de muestras	% de muestras positivas	Método de identificación	Referencias
Bovinos	28	25	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Bovinos	40	52,5	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Bovinos	60	3,3	m-PCR	Fernández H. y col., 2007 (62)
Ovejas	35	2,9	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Gallinas	63	38	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Gallinas	60	20	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Gallinas	62	19,4	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Gallinas	50	0	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Gallinas	60	20,0	m-PCR	Fernández H. y col., 2007 (62)
Pelicano	60	13,3	m-PCR	Fernández H. y col., 2007 (62)
Gorrión	60	6,7	m-PCR	Fernández H. y col., 2007 (62)
Pato	25	40,0	m-PCR	Fernández H. y col., 2007 (62)
Pavo	21	28,6	m-PCR	Fernández H. y col., 2007 (62)
Perros	105	23	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Perros	60	3,3	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Perros	103	0	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)
Gatos	32	0	m-PCR	Rojas Z., 2011 (47)

m-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) multiplex.

Si analizamos las muestras fecales su mayor prevalencia se encuentra en pollos, seguido por la de cerdos y luego res (39). Los efectos más serios de la infección para estos animales varían desde abortos, mastitis y diarrea, sin embargo, al igual que en los humanos, esta bacteria se ha aislado de animales asintomáticos (63), demostrando únicamente la portación del microorganismo.

En la tabla 9 se muestra el aislamiento de *A. butzleri* en todas las especies animales estudiadas, confirmando su carácter zoonótico y dejando en evidencia el amplio espectro de reservorios que este puede colonizar. Recientemente, se han documentado informes en Sudáfrica sobre abortos inducidos por *A. skirrowii* en ovejas. Este reporte destacó aún más la necesidad de obtener información sobre la capacidad de este patógeno para provocar el aborto en otros animales, sin embargo, la patología y la patogenia de la infección de *Arcobacter* en animales debe dilucidarse adecuadamente (7).

En Chile, los estudios que se han hecho para evaluar la presencia de estos organismos en heces de animales, han sido realizados principalmente por Fernández y col. (62) en aves de corral, tales como gallinas, patos y pavos y en menor proporción Collado y col. (47), en animales bovinos, ovinos y porcinos. Además de esto, en la misma tabla se puede apreciar que *A. butzleri* fue aislado del tracto intestinal de perros, pelícanos y gorriones, animales que aún no han sido descritos como reservorios de estos microorganismos.

Por otra lado, tenemos que a pesar de que en las carnes de aves se encuentran con alta frecuencia, no se aísla de la misma forma en su tracto gastrointestinal (tabla 10), la posible explicación a esta situación sería que el bacilo solamente pasa a través del tracto digestivo sin colonizarlo (1), en otras palabras, este microorganismo no es un comensal intestinal natural en los pollos y representa solo un organismo transitorio incapaz de colonizar el intestino. Una posible explicación para este fenómeno es que la temperatura corporal normal en pollos, la cual va entre los 40.5 a 42°C, representa un factor limitante para la colonización de estos con especies de *Arcobacter* porque su rango óptimo de temperatura de crecimiento va desde 15 a 42 °C, en contraste a *Campylobacter* que se recupera en una alta prevalencia en el pollo debido a su temperatura de crecimiento óptima que es de alrededor de 42 °C. Sin embargo, a diferencia de las muestras de animales, la recuperación de *Arcobacter* a partir de carne de pollo para el consumo humano es alta. Según Wesley y col., la explicación de esta situación es debido a que los pollos pueden estar siendo contaminados en plantas de procesamiento, además de esto la temperatura utilizada para el almacenamiento del producto (4°C y/o temperatura ambiente) puede favorecer colonización por fuentes externas (32).

Tabla 10. Prevalencia de *A. butzleri* y *A. cryaerophilus* en muestras de animales y alimentos.

Origen	Tipo	Numero	<i>A. butzleri</i>		<i>A. cryaerophilus</i>	
			N°	%	N°	%
Cerdo	Heces	135	55	40,7	13	9,6
Bovino	Heces	75	20	26,7	5	6,7
Pollo	Heces	20	2	10,7	4	20
Pollo	Carne	125	90	72	2	1,6
Pollo	Estomago	25	8	32	0	0
Pollo	Hígado	25	18	72	0	0
Total		405	193	47,7	24	5,9

Tomado y adaptado de Fernández H. y col., 2015 (1).

Además de esto existen estudios donde el principal foco de investigación es la presencia de *Arcobacter spp.* en perros y/o gatos, tal es el caso de Petersen y col., (64) quienes demostraron que *A. butzleri* se aloja en las cavidades orales de las mascotas domésticas mediante el uso de una tecnología independiente, electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización por PCR (DGGE-PCR). Por otro lado Houf y col., (65) examinaron las heces y los hisopos orales de 267 perros y 61 gatos para detectar la presencia *Arcobacter spp.*, estos aislamientos fueron identificados a través de PCR-multiplex específica. En este estudio no se aislaron *Arcobacter* de los gatos, mientras que cinco perros excretaron *Arcobacter* en las heces y otros dos perros portaron este microorganismo en la boca. En el seguimiento que posteriormente se les realizó a estos, un perro excretó la misma cepa de *A. butzleri* durante al menos una semana, y los otros seis perros portaban una cepa única de *A. cryaerophilus*, no obstante, tres de ellos vivían en la misma familia.

De igual manera Fera y col.,(66) los cuales investigamos la prevalencia del ADN de *Arcobacter* en muestras orales, de sangre periférica y aspirado de ganglios linfáticos de 85 gatos de los cuales 17 eran clínicamente sanos y 68 tenían signos clínicos de enfermedad oral o linfadenomegalia. En general, este análisis molecular demostró la presencia de *Arcobacter* en el 78,8% (67 de 85) de todos los gatos estudiados. En los 67 gatos positivos para *Arcobacter*, 66 (77.6%) y 29 (34.1%) fueron positivos para *A. butzleri* y *A. cryaerophilus*, respectivamente.

Tabla 11. Prevalencia de *Arcobacter spp.* en gatos y perros.

Animal	Numero	Resultados positivos %	Referencias
Gato	8	25	Petersen R. y col., 2007 (64)
Perro	12	58,3	Petersen R. y col., 2007 (64)
Gato	61	0	Houf K. y col., 2008 (65)
Perro	267	80,1	Houf K. y col., 2008 (65)
Gato	85	78,8	Fera M. y col., 2009 (66)

6. IMPORTANCIA DE LA PESQUIZA DE *ARCOBACTER SPP.* EN ANIMALES DOMESTICOS

Se han reportado diferentes especies del género *Arcobacter* en todo el mundo, contemplando una amplia variedad de portadores como lo son los animales domésticos (ganado vacuno, cerdos, pollos, ovejas, perros, gatos), reptiles, carne (pollo, cerdo, cabra, cordero, bovino, conejo), y humanos, los cuales han sido reportados en diferentes países como Bélgica, Estados Unidos de América, Dinamarca, Brasil, Chile, Australia, Italia, Países Bajos, Malasia, Japón, España, República Checa, Corea, Egipto e India (7). Los perros y gatos que viven en un hogar han sido identificados previamente como un factor de riesgo para la infección humana con *Campylobacter* y *Helicobacter*, sin embargo, *Arcobacter* es un patógeno emergente potencialmente transmitido por estos organismos. Entre las 25 especies reconocidas hasta la fecha, *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* y *A. skirrowii* son las especies de importancia veterinaria (7).

La prevalencia de *Arcobacter* en animales probablemente ha sido subestimada debido a la detección inadecuada y los métodos culturales. Se encontró que varios agentes antimicrobianos utilizados en medios selectivos para el aislamiento de *Arcobacter* son inhibidores de las cepas que pertenecen a este género (67), por lo cual aún no se puede definir el papel patogénico de esta bacteria debido a la falta de ensayos clínicos extensos y controlados.

Fera y col. (66), estudiaron gatos italianos, donde los resultados que estos obtuvieron sugieren que los gatos domésticos a menudo son portadores de *Arcobacter* spp. y se puede sospechar que se produce la transmisión de *Arcobacter* de gatos a humanos por contacto directo, debido a la estrecha interacción entre los gatos y sus dueños. La alta prevalencia

de *Arcobacter* en las muestras de la cavidad oral de los gatos (78,8 %), podría ser consecuencia del comportamiento de aseo característico de este animal, que incluye la región perineal y puede mantener una contaminación fecal-oral, así mismo estos autores señalan que la prevalencia de *Arcobacter* en las heces felinas también debe evaluarse para confirmar que los gatos en condición de calle pueden contribuir a la diseminación de esta bacteria en el medio ambiente.

Un estudio que muestra a los perros como portadores de *Arcobacter*, señala que aparentemente este microorganismo no pertenecería a la flora intestinal normal de estos y el aislamiento de *A. cryaerophilus* en estos animales apunta simplemente a una transición temporal sin colonización del tracto intestinal. En contraste con *A. butzleri* que se aisló dos veces de las heces de un perro (en el tiempo que duro el estudio), durante este período, no se observaron síntomas clínicos, ni hubo una historia de diarrea. La caracterización reveló la persistencia de una sola cepa de *A. butzleri* durante al menos una semana, lo que indica una colonización del tracto intestinal o una infección continua por una matriz contaminada (65). Si bien la transmisión directa de *Arcobacter* de perros y/o gatos a humanos no se demostró efectivamente, podría existir un riesgo de infección por *Arcobacter* si se reside en un hogar que tiene estos animales como mascotas, con contacto directo con las heces de los animales, como posible ruta de transmisión.

7. DIAGNOSTICO CLINICO

El diagnóstico clínico es el procedimiento mediante el cual el profesional de la salud identifica una enfermedad, microorganismo y/o el estado del paciente con la ayuda de varias herramientas que permiten definir su cuadro clínico. Los métodos para el aislamiento y detección de *Arcobacter* todavía no están estandarizados, debido a que los medios ensayados para su aislamiento no son de uso cotidiano en los laboratorios clínicos, por lo que se dificulta aún más el hallazgo e identificación de esta bacteria. Los avances actuales en el área del desarrollo de diagnósticos rápidos y confirmatorios han proporcionado varios métodos moleculares para la detección y diferenciación rápida y específica de los *Arcobacter* a nivel de especie con mayor sensibilidad y especificidad (7).

Se señala que la prevalencia de especies de *Arcobacter* en heces humanas varía 0.1% a 1.25% en investigaciones que derivaron la información del cultivo, mientras que la detección de heces por PCR varió de 0.4% a 13% (58). En otro estudio comparan la capacidad de detectar *Arcobacter* utilizando métodos moleculares y de cultivo paralelos, Collado y col. detectaron la especie *A. butzleri* en el 1,4% de las muestras de heces de pacientes con diarrea, utilizando una PCR específica del género y un método de PCR multiplex específica de la especie, mientras que se aisló de solo el 0,7% de las muestras por cultivo. Así mismo, De Boer y col. (68) desarrollaron una PCR multiplex en tiempo real capaz de detectar *A. butzleri* y *Campylobacter spp.* en heces de pacientes con diarrea, probando este método en paralelo con el cultivo bacteriano. Usando este método, es de decir la PCR multiplex en tiempo real, se detectó *A. butzleri* en el 0,4% de las muestras, en contraste a que no se recuperó por cultivo. Por lo que la mayor prevalencia obtenida utilizando métodos moleculares apoya la afirmación de que *Arcobacter spp.* podría subestimarse como enteropatógenos debido a las limitaciones de los métodos de cultivo actuales.

7.1. Medios para el aislamiento de *Arcobacter spp.*

El método de aislamiento por cultivo es la técnica de elección para detectar cualquier microorganismo patógeno, ya que no solo permite asegurar su presencia, sino que su cultivabilidad se considera prueba de su capacidad infectiva (3). A pesar de esto la identificación de *Arcobacter spp.* por cultivo se encuentra limitada debido a los exigentes requerimientos nutritivos de estas bacterias y a su baja actividad metabólica. Además, debido a que estos microorganismos comparten numerosas características morfológicas y bioquímicas con especies del género filogenéticamente próximo *Campylobacter*, es frecuente que se produzca una identificación errónea de las cepas de *Arcobacter* y, por tanto, una subestimación de su incidencia real.

Las especies del género *Arcobacter* crecen en agar sangre, agar McConkey, caldo cerebro-corazón (BHI) y en medio de tripticasa soja, pero su comportamiento en los medios utilizados habitualmente para el aislamiento de patógenos entéricos es imprevisible y generalmente crecen con dificultad. *Arcobacter* se recuperó por primera vez en tejidos fetales bovinos y porcinos cultivados en medio semisólido Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) suplementado con 5-fluorouracil (69). Posteriormente, Johnson y Murano desarrollaron un método de aislamiento específico de que implica el uso de medio de *Arcobacter* (Oxoid) con adición de cinco antimicrobianos (cefoperazona, trimetoprim, anfotericina, novobiocina y 5-fluorouracilo) (70). Otros métodos de aislamiento incluyen EMJH p-80 y caldo *Brucella* y filtración directa en agar sin antibióticos a través de una membrana. Houf y col. (71), utilizaron los medios propuestos con suplemento de cefoperazona, anfotericina B y teicoplanina (CAT) y EMJH p80 con 5-fluorouracilo fueron suficientes para aislar tres especies de *Arcobacter*, a saber *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* y *A. skirrowii*.

De igual manera, De Boer y col. (72), generaron un caldo de enriquecimiento selectivo (ASB) y un medio semisólido selectivo (ASM) para la recuperación de *Arcobacter*

en la comida. Collins y col. sintetizaron un agar modificado cefsulodina-irgasan-novobiocina suplementado con CAT para la recuperación de *Arcobacter* en aves de corral. Atabay y col., probaron la idoneidad del medio Karmali, el agar desoxicolato-cefoperazona-carbón modificado (mCCDA), el medio de selectividad-motilidad (SSM) semisólido sin sangre y el medio CAT para desarrollar *Arcobacters* y *Campylobacters*. Dos cepas de *A. butzleri* crecieron bien solo en medio Karmali y SSM, *A. skirrowii* creció pobremente en todos los medios selectivos utilizados, mientras que *A. cryaerophilus* no creció en ninguno de los medios selectivos utilizados (7). Por otro lado, Atabay y Corry (73) probaron el agar CAT y mCCDA para el crecimiento de diversos *Arcobacters* y se encontró que el agar CAT era el que obtenía mejores resultados.

Johnson y Murano (70) probaron un caldo de enriquecimiento y medio de agar para eliminar el crecimiento de *Campylobacter spp.*, en el cual las cepas de *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* y *A. nitrofigilis* produjeron colonias rojas en el medio. Así mismo, Atabay y col. (74), al encontraron que el método de filtración con membrana es superior al método de aislamiento sin filtración ya que el porcentaje de muestras positivas aumenta después de la filtración. Debido a esto en el 2011 Merga y col. (69) compararon 5 métodos para el aislamiento de *Arcobacter spp.* a partir de heces de animales, con el fin de determinar el método más sensible. Después de todos los ensayos, la combinación de enriquecimiento propuesto por Houf y col. seguido de un cultivo en el medio mCCDA suplementado con CAT les proporcionó significativamente mejores resultados que el resto de las combinaciones.

Recientemente se demostró que la adición de NaCl a los medios de crecimiento aumenta el número de muestras positivas en el aislamiento de *Arcobacter* en muestras marinas (7). Por otra parte, ambientes tales como el tiempo de incubación o la atmósfera de cultivo también podrían afectar el aislamiento de *Arcobacter*, debido a que períodos de incubación menores de 48 h disminuyen el número de aislamientos (6), en cuanto a la atmósfera de incubación, algunos autores indican que, en general, los *Arcobacters* crecen mejor en condiciones microaeróbicas (47). A pesar de esto pocos estudios han evaluado hasta el momento el efecto de la atmósfera (aerobiosis o microaerofilia) en el aislamiento de

Arcobacter, por lo cual aún se requieren estudios adicionales que evalúen las condiciones óptimas de incubación para la recuperación del género *Arcobacter*.

7.2. Métodos moleculares de identificación.

Los problemas para encontrar un medio apropiado, los requerimientos atmosféricos y el tiempo necesario para su crecimiento son los principales problemas derivados de la utilización del método de cultivo para la detección de diversos microorganismos. Además de esto los métodos basados en el cultivo, con frecuencia pueden originar identificaciones erróneas en el caso de especies que comparten un gran número de caracteres. Por lo cual los avances tecnológicos basadas en el análisis de ácidos nucleicos, nos brindan otra opción de detección e identificación en el campo del diagnóstico microbiano (35). Hoy en día, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una de las técnicas más utilizadas para la detección e identificación de microorganismos, como alternativa a los métodos tradicionales de detección e identificación, debido al alto grado de precisión, discriminación, reproducibilidad, y rapidez que posee.

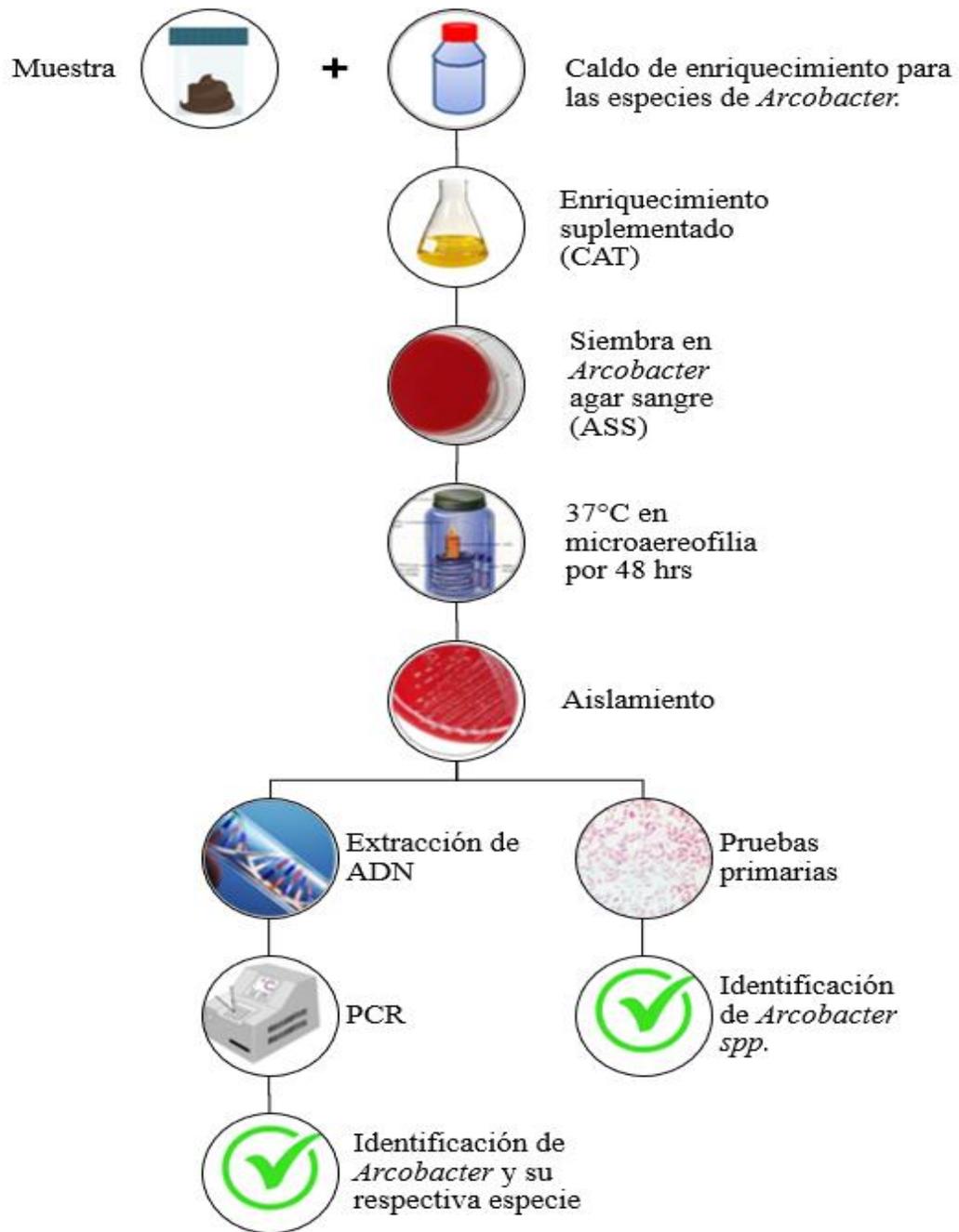


Figura 6. Metodología diagnóstica para *Arcobacter*. La identificación de *Arcobacter* por diferentes pruebas bioquímicas es difícil ya que estos organismos son metabólicamente inertes, por lo que el aislamiento de estos organismos a través de estudios moleculares como la PCR sigue siendo el método estándar de oro para llegar a la conclusión diagnóstica.

La PCR tiene como fundamento amplificar *in vitro* un número de copias de una región específica de ADN, con la finalidad de reproducir cantidad suficiente de un fragmento para su posterior análisis. Esta puede aplicarse para la identificación de bacterias a partir de ADN purificado, así como la detección directa desde muestras clínicas(75). Para que la PCR sea llevada a cabo de manera adecuada se debe partir del diseño óptimo de cebadores o iniciadores (oligonucleótidos o moléculas de ADN monocatenario). Es indispensable que los cebadores sean específicos del ADN que se vaya a amplificar, para lo cual previamente se debe recurrir a bases de datos informativas recopilada por otros investigadores (3). En este momento la base de datos que presenta mayor número de consultas por su mayor versatilidad en organismos, genes, y tipo y número de secuencias depositadas es la base pública de GenBank NCBI (National Center for Biotechnology Information).

La PCR combinada con métodos tradicionales ha mostrado buenos resultados en el aislamiento de *Arcobacter*, esto ha llevado al desarrollo de muchos métodos diferentes de detección molecular como la PCR multiplex (m-PCR) y PCR en tiempo real, polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), espectrometría de masas de ionización por desorción láser asistida por matriz (MALDITOF-MS), desnaturalización electroforesis en gel de gradiente PCR (DGGE-PCR) e hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH). De esta manera se han ido desarrollando un gran número de métodos de detección molecular desarrolladas con el fin de mejorar la sensibilidad y reducir así el tiempo que lleva la aplicación de los métodos de cultivo. Figueras y Collado desarrollaron un método 16S ADN-RFLP capaz de discriminar ente 6 especies distintas de *Arcobacter*; *A. butzleri*, *A. skirrowii*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii*, *A. nitrofigilis* y *A. cibarius* (76). Por otro lado tenemos uno de los métodos más utilizados es el desarrollado por Houf y col. en el año 2000, el cual consiste en una PCR múltiple, la cual utiliza el gen 16S ARNr para la identificación de las especies de *A. butzleri* y *A. skirrowii*, y el gen 23S ARNr para la especie *A. cryaerophilus* (77). Posteriormente, utilizando la misma metodología en el año 2010, Doudah y col. identificaron cinco especies de *Arcobacters* asociadas a humanos y mamíferos; *A. butzleri*, *A. skirrowii*, *A. cryaerophilus*, *A. cibarius* y *A. thereius* (78). Un año más tarde se publicó un método de PCR para complementar el anteriormente nombrado, el cual es capaz de detectar la especie *A. trophiarum* (17).

Otro método de utilidad consiste en una m-PCR, desarrollada por De Boer y col. (68) para detectar *A. butzleri* y *Campylobacter spp.* de heces diarreicas de pacientes. Los genes usados son hsp60, para *A. butzleri*, y el gen 16S ARNr para *Campylobacter spp.* La literatura señala una amplia variedad de genes utilizados como dianas moleculares, constituyendo el análisis del ARNr 16S el marcador inicial y en numerosas situaciones el marcador suficiente para realizar una identificación precisa de las principales especies relacionadas al género *Arcobacter*, el cual es un proceso riguroso tal como se puede apreciar en la figura 7.

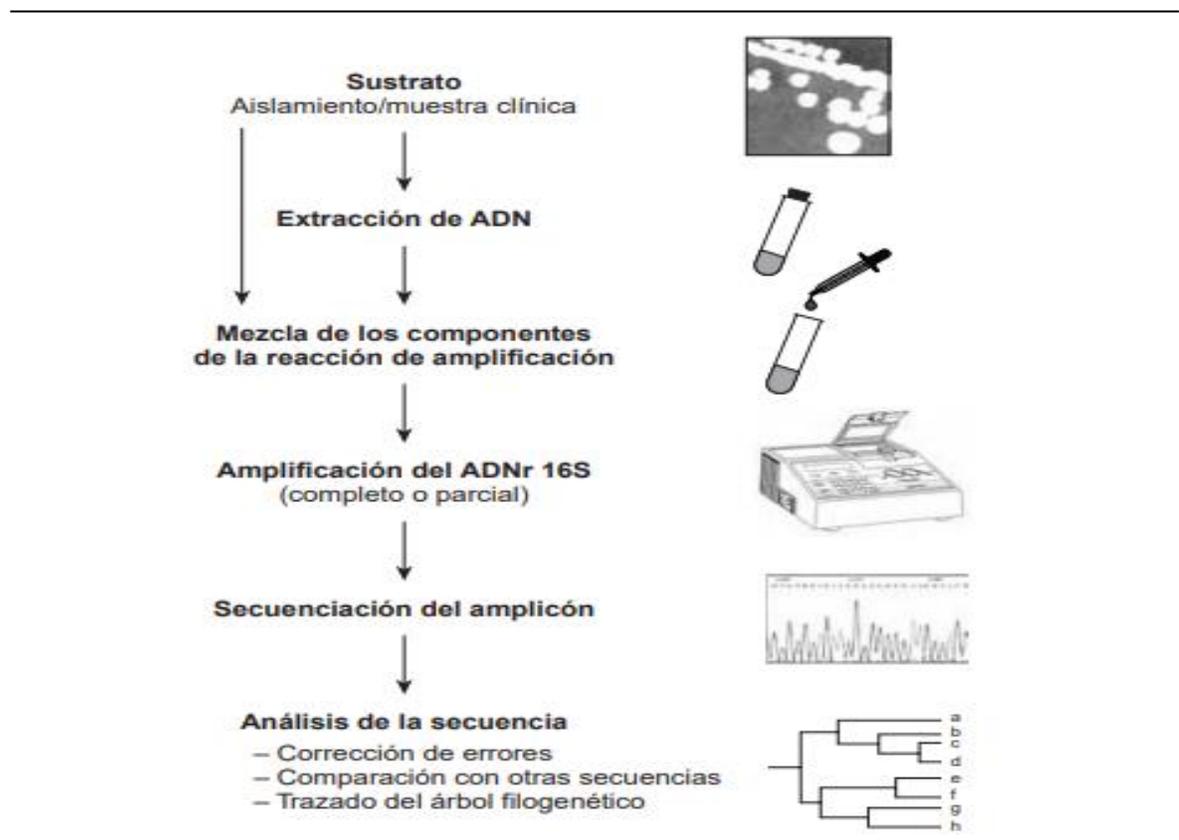


Figura 7. Proceso de identificación bacteriana mediante secuenciación del ADNr 16S (79). La amplificación del microorganismo, para su posterior secuenciación, parte preferentemente de ADN extraído de un cultivo puro de la bacteria, o también puede conseguirse directamente de una muestra clínica. Posteriormente se mezclan los diferentes componentes para llevar a cabo la amplificación, secuenciación y el análisis de los resultados obtenidos respectivamente.

En el 2010 González y col., (80) desarrollaron un ensayo de PCR en tiempo real SYBR para la detección rápida de *Arcobacter* en muestras de alimentos y aguas residuales a nivel de género. Posteriormente, en el 2013 Vergis y col.,(81) desarrolló una PCR de 16s rRNA combinada con la digestión RE utilizando las enzimas EcoRI, Hind III y SalI que diferenciaron ocho patógenos transmitidos por los alimentos (*Listeria*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Yersinia* y *Arcobacter*). Recientemente, Webb y col., desarrollaron los cebadores de PCR para la detección directa y la cuantificación del ADN de *A. butzleri* en matrices microbiológicamente complejas. La densidad del ADN de *A. butzleri* en las heces diarreicas fue mayor en comparación con las heces no diarreicas. El estudio también informó que entre 892 muestras de diarreas positivas para *A. butzleri*, el 74% no fue positivo para otros patógenos bacterianos o virales (82).

En cuanto a las técnicas de diagnóstico desarrolladas últimamente a nivel de campo, como la prueba de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), son muy útiles en la detección de patógenos con velocidad y precisión. LAMP se ha diseñado para varios patógenos, incluyendo *Arcobacter* spp. (83) , y los resultados han mostrado que el ensayo LAMP es más sensible que otros ensayos moleculares como la PCR multiplex y la PCR convencional. Si bien este y los ensayos moleculares nombrados anteriormente son de gran utilidad en la identificación bacteriana, existe un problema con estos, ya que la detección de patógenos no puede garantizar la viabilidad de los organismos, por lo que el estado de la infección no se puede evaluar claramente (7).

7.3. Sistemas comerciales automatizados.

En los últimos años se han esforzado por superar las dificultades de la identificación microbiológica y se han promovido procedimientos automáticos para la detección de microorganismos en muestras clínicas. La mayoría de estos sistemas se basan en

determinaciones ópticas del crecimiento bacteriano por transmisión de la luz o espectrometría de masas. El sistema automatizado posee aspectos fundamentales a diferencia de los métodos clásicos, como lo son la rapidez, simplicidad, estandarización y reproductibilidad.

La inoculación, incubación y lectura se efectúan de modo automatizado. También hay paneles en los que se encuentran sustratos para el desarrollo de pruebas bioquímicas, se diversan antimicrobianos a distintas concentraciones, con lo que se realiza simultáneamente la identificación y antibiograma del microorganismo. Los datos son obtenidos en un ordenador, el cual proporciona un índice alto de fiabilidad de la identificación del microorganismo. Algunos ejemplos de los sistemas disponibles en el mercado son MALDI-TOF (Espectrometría de Masas mediante Desorción de Matriz Asistida por Láser/Ionización-TOF), MicroScan, Vitek, ATB, Pasco, Wider, Phoenix, etc. De estos cabe destacar que varios hospitales utilizan la técnica de identificación MALDI-TOF para la identificación de *Arcobacter* (54).

8. SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

La resistencia a los antimicrobianos es el fenómeno por el cual un microorganismo deja de ser afectado por un antimicrobiano al que anteriormente era sensible. Es consecuencia de la capacidad de ciertos microorganismos de neutralizar el efecto de los antibióticos. No hay criterios establecidos para las pruebas de sensibilidad a antibióticos para las diferentes especies de *Arcobacter*, sin embargo los criterios más comúnmente utilizados para la interpretación de los resultados son los definidos por el “Clinical Laboratory and Standards Institute” (CLSI) para *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* (84).

Con respecto a la susceptibilidad antimicrobiana de *Arcobacter*, se dispone de datos muy limitados y *A. butzleri* es la única especie que se discute principalmente. Los informes disponibles sugieren que hay un aumento en la resistencia antimicrobiana contra este patógeno emergente que conduce a fallas de tratamiento con los antimicrobianos de uso común. En un estudio realizado por Kabeya y col. (85), todas las cepas de *Arcobacter* probadas se encontraron susceptibles a la ampicilina, el cual es un betalactámico de amplio espectro. Varios otros estudios indicaron que *Arcobacter* es susceptible a los aminoglucósidos y la tetraciclina, bacteriostáticos de amplio espectro que actúan inhibiendo la síntesis de las proteínas bacterianas, por otro lado, Shah y col. (86), analizaron cepas de *A. butzleri*, donde se presentó resistencia a la ampicilina (56%), seguidos de cefotaxima (33%) y ciprofloxacina (33%), así mismo son susceptibles a la enrofloxacin y gentamicina, los fármacos de elección para el tratamiento de la infección por *Arcobacter*. La enrofloxacin es una fluoroquinolona, los que son agentes antimicrobianos sintéticos de amplio espectro que actúan inhibiendo la ADN girasa o topoisomerasa IV. Estos compuestos son ampliamente usados en la práctica clínica en el tratamiento de infecciones bacterianas.

En un estudio realizado por Unver y col., la mayor parte de la *A. cryaerophilus* se encontraron aislamientos susceptibles a la amoxicilina/ácido clavulánico y resistentes a la optoquinina, vancomicina, ácido fusídico, cloxacilina y cefazolina, con susceptibilidad moderada a la amikacina, enrofloxacina, ofloxacina, oxitetraciclina, adicción a la luz de la piel, adicción a la paracicloplicina, adiestramiento de adicción, adicción a la paracetaminas (7). Rahimi y col. (87), investigaron las susceptibilidades antimicrobianas de 71 aislados de *Arcobacter*, estos se probaron contra 14 medicamentos usando el método de difusión en disco, y se encontró que todos los aislados de *Arcobacter* probados son resistentes a uno o más agentes antimicrobianos, la resistencia a la cefalotina y la vancomicina (96%) fue el hallazgo más frecuente, seguida de la resistencia a la meticilina, azitromicina y ampicilina. Todos los aislados de *Arcobacter* de este estudio fueron susceptibles a la gentamicina, estreptomina, tetraciclina y kanamicina.

Van den Abeele y col. informó de la susceptibilidad antimicrobiana de *A. butzleri* y *A. cryaerophilus* en cepas aisladas de pacientes belgas. La mayoría de las cepas de *Arcobacter* fueron susceptibles a la gentamicina (99%) y la tetraciclina (89%). Sin embargo, la eritromicina (78%), la ciprofloxacina (72%) y la doxiciclina (76%) mostraron una actividad moderada contra *Arcobacter* spp. Solo el 9% de las cepas fueron susceptibles a la ampicilina. Por otro lado, gran parte de los aislamientos de *A. butzleri* fueron susceptibles a la ciprofloxacina (87%), mientras que la mitad de los aislamientos de *A. cryaerophilus* (51%) mostraron una resistencia de alto nivel (CIM > 32 mg / L). Las cepas que resultaron resistentes al ciprofloxacino albergaban una mutación idéntica en *gyrA*, gen que codifica la subunidad subunidad A del ADN girasa, el mecanismo que con mayor frecuencia se encuentra involucrado en estas resistencias (88). Estos resultados sugieren que *A. cryaerophilus* sugieren una resistencia adquirida a las fluoroquinolonas.

Los macrólidos no son antibióticos empíricos de primera elección para las infecciones por *Arcobacter*. Se pueden sugerir tetraciclinas para el tratamiento de infecciones gastrointestinales inducidas por *Arcobacter*, bacteriostáticas, de amplio espectro que actúan inhibiendo la síntesis de las proteínas bacterianas. Shirzad Aski y

col., (89) llevaron a cabo un estudio de la susceptibilidad antimicrobiana de *Arcobacter spp.* aislado de animales clínicamente sanos. Todos los *Arcobacter* aislamientos fueron resistentes a vancomicina, rifampicina, trimetoprim, ceftriaxona y cefalotina, mientras que los aislamientos fueron altamente susceptibles a la oxitetraciclina, tetraciclina, ciprofloxacina, eritromicina, kanamicina, amikacina, enrofloxacin y gentamicina. La tetraciclina y los aminoglucósidos se pueden usar para el tratamiento de infecciones por *Arcobacter* en humanos. Los mecanismos de resistencia de *Arcobacter* para los antibióticos fueron principalmente de naturaleza cromosómica, y generalmente *A. butzleri* es comparativamente más resistente que *A. cryophilus* y *A. skirrowi*.

9. PREVENCIÓN Y CONTROL

Las prácticas eficaces de prevención y control de infecciones son particularmente importantes para reducir los riesgos de infección asociadas a cualquier microorganismo. Los alimentos de origen animal mal cocinados y contaminados, como la carne, la leche y el marisco, podrían ser una fuente importante de infección por *Arcobacter* en humanos, por lo tanto, las prácticas de cocina exhaustivas y buenas ayudan en la prevención de infecciones transmitidas por los alimentos. *Campylobacter spp.* es un patógeno humano bien descrito presente en muchos productos alimenticios y, por ende, posee muchos tratamientos eficientes en su eliminación, sin embargo, estos no resultan efectivos para *Arcobacter spp.*, a pesar de que este y *Campylobacter* están estrechamente relacionados. Por ejemplo, *A. butzleri* es más resistente que *C. jejuni* a tratamiento de irradiación, ya que el valor medio para *A. butzleri* es de D10 es 0.27 kGy comparado con 0.19 kGy para *C. jejuni* (7).

Se han probado diversos tratamientos eficaces para reducir la contaminación de *Arcobacter* en carnes de cerdo y sus productos, por ejemplo el ácido láctico como el ácido cítrico inhiben el crecimiento de *A. butzleri*, mientras que el ácido cítrico es el más efectivo, por otro lado, la exposición continua al lactato de sodio no es efectivo contra este microorganismo, no así la nisina (500 UI/ ml), antibiótico utilizado como bioconservante, puesto que reduce la supervivencia de este microorganismo en aproximadamente un 50%. Skřivanová y col. (90), realizaron un estudio sobre el efecto de 17 ácidos orgánicos (acético, propiónico, butírico, caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, fenilacético, sórbico, benzoico, fumárico, succínico, láctico, málico y ácido cítrico) sobre *Arcobacter spp.*, en el cual se observó que con los ácidos benzoico, cítrico, málico y sórbico presentaban mayor capacidad de inhibición.

Por lo cual, producto de que la carne de cerdo y vacuno actúan como una fuente importante de transmisión de *Arcobacter*, el mantenimiento de la higiene en el momento del sacrificio del animal es crucial para la prevención y el control de la infección transmitida por la carne. Se necesita una higiene adecuada en el matadero y las plantas lecheras, en el caso de los bovinos, combinadas con el uso de un desinfectante adecuado para la eliminación de *Arcobacter*, ya que podrían sobrevivir incluso después del uso del protocolo de desinfección común. De la misma forma, dado que el agua contaminada actúa como una fuente de transmisión importante, el tratamiento efectivo de los recursos hídricos es de suma relevancia. Además de esto, en la era de la resistencia a los antibióticos y su uso creciente, existe la exigente necesidad de explorar opciones terapéuticas alternativas y novedosas para controlar de mejor manera la infección de *Arcobacter spp.*

CONCLUSIONES

Arcobacter spp. es un patógeno emergente que causa infecciones graves en humanos y animales, sin embargo, aún no existe un registro claro sobre los factores de virulencia que están directamente involucrados en la causa de la infección y la patogénesis de este patógeno. Por lo tanto, el enfoque de la investigación debe orientarse en los aspectos desconocidos de la patología y la patogénesis de estos organismos, de modo que se puedan generar estrategias de control adecuadas.

Arcobacter spp. no es un microorganismo de importancia para la salud pública, ni cuenta con la importancia que se les brinda a otros enteropatógenos en la clínica, pero el incremento en los datos de prevalencia e incidencia de casos sugiere que la infección en humanos y animales ha sido subestimada. Uno de los principales motivos recae en la carencia de un protocolo estándar para el aislamiento primario de este organismo.

Por ende, es recomendable en la investigación clínica utilizar un medio de cultivo adicional, en paralelo a la detección directa por PCR. Esto podría ser una solución intermedia mientras se espera la disponibilidad de protocolos de aislamiento e identificación más eficientes y estandarizados. Por esto, es de suma importancia establecer un estudio constante para determinar su distribución ambiental, su presencia en otras fuentes animales, así como la relación epidemiológica entre *Arcobacter* y el tipo de cepas aisladas de diferentes fuentes y su modo de transmisión, ya que esta información contribuirá a aclarar y comprender mejor la epidemiología de este enteropatógeno emergente.

Por otro lado, la importancia zoonótica de la colonización de *Arcobacter*, así como su importancia para causar enfermedades en perros, gatos y otros animales requiere de más estudios. En el futuro, en vista de la relación entre animales domésticos, principalmente los perros y gatos que permanecen en el hogar, existe la necesidad de determinar la contaminación del área anal y pelaje, de manera de realizar un muestreo que puede reflejar el riesgo potencial de la transmisión de *Arcobacter spp.* a los seres humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fernandez H, Villanueva MP, Mansilla I, Gonzalez M, Latif F. *Arcobacter butzleri* and *A. cryaerophilus* in human, animals and food sources, in southern Chile. *Braz J Microbiol.* 2015;46(1):145-7.
2. Calvo G. AL, Fernandez H. Archivos latinoamericanos de nutrición [Internet]: Archivos latinoamericanos de nutrición. 2013. [cited 2018].
3. I. B. APORTACIONES A LA EPIDEMIOLOGÍA DE *Arcobacter* Y *Helicobacter* spp .: APLICACIÓN DE MÉTODOS MOLECULARES A SU DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN EN ALIMENTOS: Universidad Politécnica de Valencia 2016.
4. Wesley IV, Schroeder-Tucker L, Baetz AL, Dewhirst FE, Paster BJ. *Arcobacter*-specific and *Arcobacter butzleri*-specific 16S rRNA-based DNA probes. *J Clin Microbiol.* 1995;33(7):1691-8.
5. L. D. Reevaluación de la taxonomía de *Arcobacter cryaerophilus*. In: K. H, editor.: ELSEVIER 2010. p. 7-14.
6. Collado L, Figueras MJ. Taxonomy, epidemiology, and clinical relevance of the genus *Arcobacter*. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24(1):174-92.
7. Ramees TP, Dhama K, Karthik K, Rathore RS, Kumar A, Saminathan M, et al. *Arcobacter*: an emerging food-borne zoonotic pathogen, its public health concerns and advances in diagnosis and control - a comprehensive review. *Vet Q.* 2017;37(1):136-61.
8. McClung. *Campylobacter nitrofigilis* sp. nov., a Nitrogen-Fixing Bacterium Associated with Roots of *Spartina alterniflora* Loisel. In: Patriquin D, editor. *Revista Internacional de Microbiología Sistemática y Evolutiva* 1983.
9. Neil. Taxonomic Position of *Campylobacter cryaerophila* sp. nov. In: Campbell OB, Weatherup, Ellis, editor.: *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 1985.
10. Kiehlbauch JA, Brenner DJ, Nicholson MA, Baker CN, Patton CM, Steigerwalt AG, et al. *Campylobacter butzleri* sp. nov. isolated from humans and animals with diarrheal illness. *J Clin Microbiol.* 1991;29(2):376-85.
11. Vandamme P, Vancanneyt M, Pot B, Mels L, Hoste B, Dewettinck D, et al. Polyphasic taxonomic study of the emended genus *Arcobacter* with *Arcobacter butzleri* comb. nov. and *Arcobacter skirrowii* sp. nov., an aerotolerant bacterium isolated from veterinary specimens. *Int J Syst Bacteriol.* 1992;42(3):344-56.
12. Houf K, De Zutter L, Verbeke B, Van Hoof J, Vandamme P. Molecular characterization of *Arcobacter* isolates collected in a poultry slaughterhouse. *J Food Prot.* 2003;66(3):364-9.
13. Donachie SP, Bowman JP, On SL, Alam M. *Arcobacter halophilus* sp. nov., the first obligate halophile in the genus *Arcobacter*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2005;55(Pt 3):1271-7.
14. Collado L, Cleenwerck I, Van Trappen S, De Vos P, Figueras MJ. *Arcobacter mytili* sp. nov., an indoxyl acetate-hydrolysis-negative bacterium isolated from mussels. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009;59(Pt 6):1391-6.

15. Houf K, On SL, Coenye T, Debruyne L, De Smet S, Vandamme P. *Arcobacter thereius* sp. nov., isolated from pigs and ducks. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009;59(Pt 10):2599-604.
16. Kim HM, Hwang CY, Cho BC. *Arcobacter marinus* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010;60(Pt 3):531-6.
17. De Smet S, Vandamme P, De Zutter L, On SL, Doudiah L, Houf K. *Arcobacter trophiarum* sp. nov., isolated from fattening pigs. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2011;61(Pt 2):356-61.
18. Collado L, Levican A, Perez J, Figueras MJ. *Arcobacter defluvii* sp. nov., isolated from sewage samples. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2011;61(Pt 9):2155-61.
19. Figueras MJ, Collado L, Levican A, Perez J, Solsona MJ, Yustes C. *Arcobacter molluscorum* sp. nov., a new species isolated from shellfish. *Syst Appl Microbiol.* 2011;34(2):105-9.
20. Figueras MJ, Levican A, Collado L, Inza MI, Yustes C. *Arcobacter ellisii* sp. nov., isolated from mussels. *Syst Appl Microbiol.* 2011;34(6):414-8.
21. Levican A, Collado L, Aguilar C, Yustes C, Diéguez AL, Romalde JL, et al. *Arcobacter bivalviorum* sp. nov. and *Arcobacter venerupis* sp. nov., new species isolated from shellfish. *Syst Appl Microbiol.* 2012;35(3):133-8.
22. Levican A, Collado L, Figueras MJ. *Arcobacter cloacae* sp. nov. and *Arcobacter suis* sp. nov., two new species isolated from food and sewage. *Syst Appl Microbiol.* 2013;36(1):22-7.
23. Sasi Jyothsna TS, Rahul K, Ramaprasad EV, Sasikala C, Ramana CV. *Arcobacter anaerophilus* sp. nov., isolated from an estuarine sediment and emended description of the genus *Arcobacter*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2013;63(Pt 12):4619-25.
24. Levican A, Rubio-Arcos S, Martinez-Murcia A, Collado L, Figueras MJ. *Arcobacter ebronensis* sp. nov. and *Arcobacter aquimarinus* sp. nov., two new species isolated from marine environment. *Syst Appl Microbiol.* 2015;38(1):30-5.
25. Whiteduck-Léveillé K, Whiteduck-Léveillé J, Cloutier M, Tambong JT, Xu R, Topp E, et al. *Arcobacter lanthieri* sp. nov., isolated from pig and dairy cattle manure. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015;65(8):2709-16.
26. Whiteduck-Léveillé K, Whiteduck-Léveillé J, Cloutier M, Tambong JT, Xu R, Topp E, et al. Identification, characterization and description of *Arcobacter faecis* sp. nov., isolated from a human waste septic tank. *Syst Appl Microbiol.* 2016;39(2):93-9.
27. Zhang Z, Yu C, Wang X, Yu S, Zhang XH. sp. nov., isolated from seawater of the South Pacific Gyre. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2016;66(2):542-7.
28. Park S, Jung YT, Kim S, Yoon JH. *Arcobacter acticola* sp. nov., isolated from seawater on the East Sea in South Korea. *J Microbiol.* 2016;54(10):655-9.
29. Diéguez AL, Balboa S, Magnesen T, Romalde JL. *Arcobacter lekithochrous* sp. nov., isolated from a molluscan hatchery. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2017;67(5):1327-32.
30. H. F. *Arcobacter butzleri*. In: A. J, editor. 2016.
31. Karadas G, Bücker R, Sharbati S, Schulzke JD, Alter T, Gözl G. *Arcobacter butzleri* isolates exhibit pathogenic potential in intestinal epithelial cell models. *J Appl Microbiol.* 2016;120(1):218-25.
32. Wesley I. MG. ¿*Arcobacter*: un patógeno oportunista transmitido por los alimentos? . 2010.
33. Fernández H, Eller G, Paillacar J, Gajardo T, Riquelme A. Toxigenic and invasive capacities: possible pathogenic mechanisms in *Arcobacter cryaerophilus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1995;90(5):633-4.

34. Ho TK, Lipman LJ, van der Graaf-van Bloois L, van Bergen M, Gaastra W. Potential routes of acquisition of *Arcobacter* species by piglets. *Vet Microbiol.* 2006;114(1-2):123-33.
35. Levican A, Alkeskas A, Günter C, Forsythe SJ, Figueras MJ. Adherence to and invasion of human intestinal cells by *Arcobacter* species and their virulence genotypes. *Appl Environ Microbiol.* 2013;79(16):4951-7.
36. H. F. Enhancing adherence of *Arcobacter butzleri* after serial intraperitoneal passages in mice. In: S. F, editor. *Revista Argentina de Microbiologia* 2013. p. 75- 9.
37. Fernández H, Vivanco T, Eller G. Expression of invasiveness of *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni* after serial intraperitoneal passages in mice. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2000;47(8):635-9.
38. M.T F. Susceptibilidad in vitro de *Arcobacter butzleri* y *Arcobacter cryaerophilus* a diferentes agentes antimicrobianos In: TL M, . GM, . GG, E. LC, G. B, M C, editors. *Revista Internacional de Agentes Antimicrobianos* 212003.
39. Patyal A, Rathore RS, Mohan HV, Dhama K, Kumar A. Prevalence of *Arcobacter* spp. in humans, animals and foods of animal origin including sea food from India. *Transbound Emerg Dis.* 2011;58(5):402-10.
40. Doudah L, De Zutter L, Van Nieuwerburgh F, Deforce D, Ingmer H, Vandenberg O, et al. Presence and analysis of plasmids in human and animal associated *arcobacter* species. *PLoS One.* 2014;9(1):e85487.
41. Lehner A, Tasara T, Stephan R. Relevant aspects of *Arcobacter* spp. as potential foodborne pathogen. *Int J Food Microbiol.* 2005;102(2):127-35.
42. Hänel I, Tomaso H, Neubauer H. [*Arcobacter* - an underestimated zoonotic pathogen?]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2016;59(6):789-94.
43. Collado L, Guarro J, Figueras MJ. Prevalence of *Arcobacter* in meat and shellfish. *J Food Prot.* 2009;72(5):1102-6.
44. Celso P. Isolation of *Arcobacter* spp from the milk of dairy cows in Brazil2007.
45. Ho HT, Lipman LJ, Gaastra W. *Arcobacter*, what is known and unknown about a potential foodborne zoonotic agent! *Vet Microbiol.* 2006;115(1-3):1-13.
46. Rice EW, Rodgers MR, Wesley IV, Johnson CH, Tanner SA. Isolation of *Arcobacter butzleri* from ground water. *Lett Appl Microbiol.* 1999;28(1):31-5.
47. Z R. EVALUACIÓN DE LA ESPECIFICIDAD DE DOS MÉTODOS MOLECULARES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES PERTENECIENTES AL GÉNERO ARCOBACTER. Facultad de Ciencias Universidad Austral de Chile; 2011.
48. Vandamme P, Falsen E, Rossau R, Hoste B, Segers P, Tytgat R, et al. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1991;41(1):88-103.
49. Vandamme. Polyphasic Taxonomic Study of the Emended Genus *Arcobacter* with *Arcobacter butzleri* comb. nov. and *Arcobacter skiwowii* sp. nov., an Aerotolerant Bacterium Isolated from Veterinary Specimens. In: Vancanneyt P, Mels, Hoste., editor. 1992.
50. S O. Isolation of *Arcobacter butzleri* from a neonate with bacteraemia. In: . SA, J. S, editors.: ELSEVIER; 1995. p. 225- 7.
51. Vandenberg O, Dediste A, Houf K, Ibekwem S, Souayah H, Cadranel S, et al. *Arcobacter* species in humans. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(10):1863-7.

52. Tee W, Baird R, Dyall-Smith M, Dwyer B. *Campylobacter cryaerophila* isolated from a human. *J Clin Microbiol.* 1988;26(12):2469-73.
53. Yap DY, Kwan LP, To KK, Chan TM. *Arcobacter* peritonitis after fluoroscopic repositioning of a Tenckhoff catheter. *Perit Dial Int.* 2013;33(2):222-3.
54. Figueras MJ, Levican A, Pujol I, Ballester F, Rabada Quilez MJ, Gomez-Bertomeu F. A severe case of persistent diarrhoea associated with *Arcobacter cryaerophilus* but attributed to *Campylobacter* sp. and a review of the clinical incidence of *Arcobacter* spp. *New Microbes New Infect.* 2014;2(2):31-7.
55. Jiang ZD, Dupont HL, Brown EL, Nandy RK, Ramamurthy T, Sinha A, et al. Microbial etiology of travelers' diarrhea in Mexico, Guatemala, and India: importance of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* and *Arcobacter* species. *J Clin Microbiol.* 2010;48(4):1417-9.
56. Woo PC, Chong KT, Leung K, Que T, Yuen K. Identification of *Arcobacter cryaerophilus* isolated from a traffic accident victim with bacteremia by 16S ribosomal RNA gene sequencing. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2001;40(3):125-7.
57. Hsueh PR, Teng LJ, Yang PC, Wang SK, Chang SC, Ho SW, et al. Bacteremia caused by *Arcobacter cryaerophilus* 1B. *J Clin Microbiol.* 1997;35(2):489-91.
58. Samie A, Obi CL, Barrett LJ, Powell SM, Guerrant RL. Prevalence of *Campylobacter* species, *Helicobacter pylori* and *Arcobacter* species in stool samples from the Venda region, Limpopo, South Africa: studies using molecular diagnostic methods. *J Infect.* 2007;54(6):558-66.
59. Yan JJ, Ko WC, Huang AH, Chen HM, Jin YT, Wu JJ. *Arcobacter butzleri* bacteremia in a patient with liver cirrhosis. *J Formos Med Assoc.* 2000;99(2):166-9.
60. Lau SK, Woo PC, Teng JL, Leung KW, Yuen KY. Identification by 16S ribosomal RNA gene sequencing of *Arcobacter butzleri* bacteraemia in a patient with acute gangrenous appendicitis. *Mol Pathol.* 2002;55(3):182-5.
61. H. F. *Arcobacter butzleri* un enteropatógeno emergente: comunicación de casos con diarrea crónica In: . KS, M. V, editors. *Revista brasileña de microbiología* 2004.
62. H F. Especies de *Arcobacter* y *Campylobacter* en aves y mamíferos del sur de Chile. In: F V, editor. *Instituto de Microbiología Clínica, Universidad Austral de Chile, Valdivia. Chile.* 2007.
63. Giacometti F, Lucchi A, Di Francesco A, Delogu M, Grilli E, Guarniero I, et al. *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, and *Arcobacter skirrowii* Circulation in a Dairy Farm and Sources of Milk Contamination. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81(15):5055-63.
64. Petersen RF, Harrington CS, Kortegaard HE, On SL. A PCR-DGGE method for detection and identification of *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Arcobacter* and related *Epsilobacteria* and its application to saliva samples from humans and domestic pets. *J Appl Microbiol.* 2007;103(6):2601-15.
65. Houf. Dogs as carriers of the emerging pathogen *Arcobacter*. In: De Smet B, Daminet, editor. *Veterinary Microbiology: ELSEVIER*; 2008. p. 208-13.
66. Fera MT, La Camera E, Carbone M, Malara D, Pennisi MG. Pet cats as carriers of *Arcobacter* spp. in Southern Italy. *J Appl Microbiol.* 2009;106(5):1661-6.
67. Houf K, Devriese LA, De Zutter L, Van Hoof J, Vandamme P. Development of a new protocol for the isolation and quantification of *Arcobacter* species from poultry products. *Int J Food Microbiol.* 2001;71(2-3):189-96.

68. de Boer RF, Ott A, Güren P, van Zanten E, van Belkum A, Kooistra-Smid AM. Detection of *Campylobacter* species and *Arcobacter butzleri* in stool samples by use of real-time multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2013;51(1):253-9.
69. Merga JY, Leatherbarrow AJ, Winstanley C, Bennett M, Hart CA, Miller WG, et al. Comparison of *Arcobacter* isolation methods, and diversity of *Arcobacter* spp. in Cheshire, United Kingdom. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(5):1646-50.
70. Johnson LG, Murano EA. Development of a new medium for the isolation of *Arcobacter* spp. *J Food Prot*. 1999;62(5):456-62.
71. Houf K, Devriese LA, De Zutter L, Van Hoof J, Vandamme P. Susceptibility of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, and *Arcobacter skirrowii* to antimicrobial agents used in selective media. *J Clin Microbiol*. 2001;39(4):1654-6.
72. de Boer E, Tilburg JJ, Woodward DL, Lior H, Johnson WM. A selective medium for the isolation of *Arcobacter* from meats. *Lett Appl Microbiol*. 1996;23(1):64-6.
73. Atabay HI, Corry JE. The prevalence of campylobacters and arcobacters in broiler chickens. *J Appl Microbiol*. 1997;83(5):619-26.
74. H. A. La prevalencia de *Arcobacter* spp. en canales de pollo vendidas en mercados minoristas en Turquía, e identificación de los aislamientos mediante SDS-PAGE. In: Aydin F, Houf, K., Sahin, M., Vandamme, P., editor. *Revista internacional de Microbiología de alimentos: ELSEVIER*; 2003. p. 21- 8.
75. Clarridge JE. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2004;17(4):840-62, table of contents.
76. Figueras MJ, Collado L, Guarro J. A new 16S rDNA-RFLP method for the discrimination of the accepted species of *Arcobacter*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;62(1):11-5.
77. Houf K, Tutenel A, De Zutter L, Van Hoof J, Vandamme P. Development of a multiplex PCR assay for the simultaneous detection and identification of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*. *FEMS Microbiol Lett*. 2000;193(1):89-94.
78. L. D. Identification of five human and mammal associated *Arcobacter* species by a novel multiplex-PCR assay. In: L. DZ, editor. *Journal of Microbiological Method: ELSEVIER*; 2010. p. 281-6.
79. M. R. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. In: M. M, editor. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica: ELSEVIER*; 2004. p. 238-45.
80. González A, Suski J, Ferrús MA. Rapid and accurate detection of *Arcobacter* contamination in commercial chicken products and wastewater samples by real-time polymerase chain reaction. *Foodborne Pathog Dis*. 2010;7(3):327-38.
81. Vergis J, Negi M, Poharkar K, Das DP, Malik SV, Kumar A, et al. 16S rRNA PCR followed by restriction endonuclease digestion: a rapid approach for genus level identification of important enteric bacterial pathogens. *J Microbiol Methods*. 2013;95(3):353-6.
82. Webb AL, Boras VF, Kruczkiewicz P, Selinger LB, Taboada EN, Inglis GD. Comparative Detection and Quantification of *Arcobacter butzleri* in Stools from Diarrheic and Nondiarrheic People in Southwestern Alberta, Canada. *J Clin Microbiol*. 2016;54(4):1082-8.

83. Dhama K, Karthik K, Chakraborty S, Tiwari R, Kapoor S, Kumar A, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA (LAMP): a new diagnostic tool lights the world of diagnosis of animal and human pathogens: a review. *Pak J Biol Sci.* 2014;17(2):151-66.
84. González-Torralba A, García-Esteban C, Alós JI. Enteropathogens and antibiotics. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2018;36(1):47-54.
85. Kabeya H, Maruyama S, Morita Y, Ohsuga T, Ozawa S, Kobayashi Y, et al. Prevalence of *Arcobacter* species in retail meats and antimicrobial susceptibility of the isolates in Japan. *Int J Food Microbiol.* 2004;90(3):303-8.
86. Shah AH, Saleha AA, Zunita Z, Murugaiyah M, Aliyu AB, Jafri N. Prevalence, distribution and antibiotic resistance of emergent *Arcobacter* spp. from clinically healthy cattle and goats. *Transbound Emerg Dis.* 2013;60(1):9-16.
87. Rahimi E. Prevalence and antimicrobial resistance of *Arcobacter* species isolated from poultry meat in Iran. *Br Poult Sci.* 2014;55(2):174-80.
88. Machuca J, Agüero J, Miró E, Conejo MDC, Oteo J, Bou G, et al. Prevalence of quinolone resistance mechanisms in Enterobacteriaceae producing acquired AmpC β -lactamases and/or carbapenemases in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017;35(8):487-92.
89. Shirzad Aski H, Tabatabaei M, Khoshbakht R, Raeisi M. Occurrence and antimicrobial resistance of emergent *Arcobacter* spp. isolated from cattle and sheep in Iran. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2016;44:37-40.
90. Skřivanová E, Molatová Z, Matěnová M, Houf K, Marounek M. Inhibitory effect of organic acids on arcobacters in culture and their use for control of *Arcobacter butzleri* on chicken skin. *Int J Food Microbiol.* 2011;144(3):367-71.