

## Evaluación de un medio de cultivo y la técnica de filtración para el aislamiento de *Campylobacter* sp. en un grupo de riesgo

CLARA DÍAZ GANAIM, LUISA VIZCAYA DELGADO, JUDITH VELASCO CARRILLO

Laboratorio de Síndromes Gastrointestinales y Urinarios "Lic. Luisa Vizcaya".  
Departamento de Microbiología y Parasitología. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes. Mérida-Venezuela. clarazize@yahoo.es

### RESUMEN

*Campylobacter* es una causa frecuente de diarrea bacteriana en todo el mundo, siendo las especies termotolerantes, como *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari* las más asociadas a esta patología. Los animales domésticos juegan un papel importante en la transmisión de estos microorganismos. Con la finalidad de recuperar especies del género *Campylobacter* de niños expuestos o no a los reservorios naturales del agente, se evaluaron un medio de cultivo (Preston modificado), la técnica de filtración y diferentes temperaturas de incubación. Se analizaron un total de 65 muestras de niños y adolescentes de la Escuela Granja Infantil del Estado Mérida, Venezuela, de los cuales 34 tenían contacto con los reservorios (grupo experimental) y 31 trabajaban en la agricultura (grupo control). Para la recuperación de *Campylobacter* sp. se utilizó el medio sin sangre Preston modificado, con cefoperazona 32 mg/L (CFP) incubado a 42° C (M<sub>1</sub>), sin CFP con membrana de papel de filtro (0,45 nm) incubado uno a 42° C (M<sub>2</sub>) y el otro a 37° C (M<sub>3</sub>), todos los medios se incubaron en atmósfera microaerofílica (frasco con vela). En el grupo experimental no se aisló *Campylobacter*, a pesar de estar en contacto con los reservorios naturales. En el grupo control sólo se aisló *C. jejuni* subsp. *jejuni* y *C. concisus*, la primera especie en el medio M<sub>1</sub>, como era de esperarse y *C. concisus* (especie no termotolerante) en las tres condiciones de cultivo, con desarrollo abundante en el M<sub>3</sub>. Estos resultados nos permiten en primer lugar, sugerir la técnica de filtración como una alternativa para la búsqueda de otras especies de campilobacterias no termotolerantes, que también podrían estar asociadas al problema diarreico. En segundo lugar, sugerir el consumo de agua no tratada y productos de origen avícola (vísceras de pollo) como fuentes de infección en el grupo control, en los cuales la respuesta inmune parece jugar un papel importante en la prevención de la diarrea.

### ABSTRACT

*Campylobacter* is a frequent cause of bacterial diarrhea throughout the world. Species, which are thermo tolerant such as *C. jejuni* subspecies *jejuni*, *C. coli* and *C. lari* are the ones most associated with this pathology. Domestic animals play an important role in the transmission of these microorganisms. In order to recover species of the genus *Campylobacter* in children exposed or not to the natural reserve of the agent, a medium of the culture (modified Preston), the filtration technique and different temperature of incubation were evaluated. In Venezuela, sixty-five fecal samples from children and adolescents from the Mérida State Children's Farm were analyzed. Of these, 34 had contact with the reserve (experimental group) and 31 worked in agriculture (control group). To recuperate the *Campylobacter* sp., a modified Preston blood-free medium was used with cefoperazona 32 mg/L (CFP) incubated at 42°C (M<sub>1</sub>) and without CFP with a paper membrane filter (0.45nm), one incubated at 42°C (M<sub>2</sub>) and the other at 37°C (M<sub>3</sub>). All mediums were incubated in a microaerophilic atmosphere (jar with candle). In the experimental group, *Campylobacter* was not isolated even though it was in contact with the natural reserve. In the control group, only *C. jejuni* subspecies *jejuni* and *C. concisus*, the first species in the M<sub>1</sub> medium were isolated, as was to be expected and *C. concisus* (the non thermo tolerant species) in the three conditions of culture with abundant development in M<sub>3</sub>. These results allow us first, to suggest the filtration technique as an alternative for finding other species in non thermo tolerant campylobacterias associated with diarrhea problems. In second place, we suggest that the consumption of non-treated water and poultry products (chicken organs) are a source of infection in the control group in which the immune response seems to play an important role in the prevention of diarrhea.

## PALABRAS CLAVE

*Campylobacter*, diarrea, método de filtración, cultivo, portadores.

## INTRODUCCIÓN

*Campylobacter* es uno de los agentes etiológicos de enteritis más importante en todo el mundo, encontrándose las siguientes especies más asociadas a esta patología: *C. jejuni* subespecie *jejuni* y *C. coli* (Taylor y cols.1989; Endtz y cols.1991, Figura y cols.1993, Urrestarazu y cols.1999, Maltezou y cols. 2001, Velasco y col. 2001, Coker y cols. 2002). La frecuencia de participación de otras especies en la enfermedad diarreica como *C. lari*, *C. jejuni* subespecie *doylei*, *C. hyointestinalis*, *C. mucosalis*, *C. concisus* y *C. upsaliensis* es muy variable (Edmons y cols. 1987, Simor y col. 1987, Patton y cols. 1989, Torres y cols. 2001). Sin embargo, la incidencia real de enteritis por esta bacteria no se conoce por diferentes razones: muchos laboratorios clínicos no investigan el agente o la metodología empleada sólo permite la recuperación de las especies más conocidas (Hernández 1993).

En cuanto a los reservorios naturales del género *Campylobacter*, los animales domésticos como las aves de corral, cerdos y gatos, se consideran los reservorios más importantes de *C. jejuni*, *C. coli* y *C. upsaliensis*, respectivamente. También se ha descrito el aislamiento de las dos primeras especies en animales salvajes como las gaviotas. Asimismo, existen reportes sobre la recuperación del agente en animales enfermos, que al entrar en contacto con el hombre, jugarán también papel importante en las infecciones humanas (Karmali y cols. 1983, Jones y cols 1992, Burnens y Nicolet 1992).

Diversos investigadores han reportado el aislamiento de *Campylobacter* en personas sanas, empleando medios de cultivo y condiciones de incubación que garantizan la recuperación de las especies más involucradas en procesos infecciosos (Grados y cols. 1989, Urrestarazu y cols. 1999, Vizcaya y col. 1999, Velasco y col., 2001).

En vista de que el hombre también puede jugar un papel importante en la transmisión de las enfermedades ocasionadas por las especies del género *Campylobacter*, sería interesante conocer con que frecuencia otras especies pueden ser adquiridas en forma accidental por el humano y de esa manera convertirse en una fuente potencial de infección. Motivo por el cual, el presente trabajo tiene como finalidad evaluar un medio de cultivo (Preston modificado), la técnica de filtración y diferentes temperaturas de incubación que permita la recuperación del mayor número de especies convencionales o no del género, en personas que tienen contacto con los reservorios naturales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Población y Muestra:

Se estudió un total de 65 muestras de heces de niños y adolescentes de la Escuela Granja Infantil de San Jacinto en el Estado Mérida, Venezuela, durante los meses de Octubre y Noviembre de 1995, que no habían sufrido diarrea ni recibido terapia antimicrobiana 2 semanas antes de la toma de muestra; de éstas 34 correspondieron a niños que trabajaban con animales como: aves de corral, cerdos, vacas y conejos. Las 31 muestras restantes pertenecientes al grupo control, correspondieron a niños que trabajaban con plantas. A cada paciente se le elaboró una ficha para la recopilación de datos epidemiológicos.

### Estudio Microbiológico:

• **Colección de la Muestra:** La muestra de heces de reciente emisión se colectaron y se transportaron en envases adecuados y se procesaron en un lapso no mayor de 1 hora.

• **Examen Directo:** Se realizó un examen en fresco utilizando solución salina fisiológica (SSF) y un frotis coloreado con Gram (Koneman y col., 1997).

• **Medios de Cultivo Utilizados:** Agar Preston modificado sin sangre (Oxoid) con 32 mg/L de cefoperazona ( $M_1$ ) y sin cefoperazona ( $M_2$  y  $M_3$ ).

• **Procedimiento:** La muestra de heces se sembró en el medio  $M_1$  por agotamiento (Koneman y col., 1997). En los medios  $M_2$  y  $M_3$  la muestra se sembró mediante la técnica de filtración como sigue: se les colocó una membrana de papel filtro de poro 0,45 nm sobre el agar, previamente se preparó una suspensión de la materia fecal en SSF; utilizando una pipeta Pasteur se inocularon 6-8 gotas de esta suspensión sobre el filtro colocado en las placas y después de 30-60 minutos se retiró el mismo. Los medios  $M_1$  y  $M_2$  se incubaron a 42 °C y el  $M_3$  a 37 °C durante 48 horas en atmósfera microaerofílica empleando el frasco caramelero con vela (Velasco y Vizcaya, 1992). Las muestras se revisaron diariamente por un lapso de 7 días. Y como cepa de referencia se utilizó *C. jejuni* subsp. *jejuni* 8006094 (Instituto Pasteur-BioMérieux Lyon, Francia).

• **Identificación:** A las colonias sugestivas se les realizó un frotis coloreado al Gram que permitió observar la presencia de los bacilos curvos, así como la prueba de la oxidasa. La identificación de las especies se realizó basándose en las siguientes pruebas fisiológicas: Catalasa, hidrólisis del hipurato, reducción de nitratos, producción de  $H_2S$ , susceptibilidad al ácido nalidíxico (30µg), cefalotina (30µg) y crecimiento en NaCl 3,5 %. Para evaluar el crecimiento bacteriano se tomó en cuenta el criterio descrito por Finegold y Baron (1989).

## RESULTADOS

Se estudiaron un total de 65 muestras de heces de niños y adolescentes, de los cuales 34 estuvieron expuestos al contacto con animales. Con las siguientes características: todos estaban internos en la institución, género masculino y con edades comprendidas entre los 9 y 17 años de edad; de los cuales 34 estuvieron expuestos al contacto con animales.

Como factores de riesgo en el grupo de estudio se encontraron: el consumo de agua no tratada, la ingesta de alimentos en los que figuraron: vísceras de pollo y ganado vacuno, vegetales, frutas y otros (Tabla 1).

**Tabla 1. Factores de riesgo para *Campylobacter* en la población estudiada**

	Contacto con animales*	Contacto con abono	Consumo de agua** N°	Ingesta de alimentos %	Edad (años) ***	Sexo
Grupo experimental	34	0	29	85,2	34	14-17 M
Grupo control	0	31	30	96,7	31	9-17 M

\* gallinas, \*\* no tratadas, \*\*\* vísceras de pollo, ganado vacuno, vegetales.

De las 65 muestras fecales procesadas, en dos adolescentes se aisló *Campylobacter* sp. (3,07 %), correspondiendo estos al grupo control (Tabla 2)

**Tabla 2. Frecuencia de *Campylobacter* sp. aislado del grupo experimental y control**

	N° especies aisladas	%
Grupo experimental (N° 34)	0	0
Grupo control (N° 31)	2	6,45
Total	2	3,07

Una de las cepas aisladas se identificó como *C. jejuni* subsp. *jejuni* por su crecimiento en el medio M<sub>1</sub> incubado a 42°C en cantidad moderada, hidrólisis del hipurato positivo y resistencia al ácido nalidíxico. *C. concisus* se recuperó a partir de los 3 medios (M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub>), obteniéndose crecimiento escaso en los dos primeros, mientras que en el M<sub>3</sub> fue abundante (Tabla 3), confirmando la especie de acuerdo a la producción abundante de H<sub>2</sub>S, catalasa negativa y resistencia a la cefalotina y ácido nalidíxico.

**Tabla 3. Especies de *Campylobacter* sp. recuperadas en los medios y métodos utilizados.**

Especie	Medios y Métodos		
	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
<i>C. jejuni</i> subespecie <i>jejuni</i>	++	-	-
<i>C. concisus</i>	+	+	+++

Crecimiento: escaso (+), moderado (++) , abundante (+++). M<sub>1</sub>: con antibiótico (42°C)

M<sub>2</sub>: sin antibiótico (42°C) Método de filtración. M<sub>3</sub>: sin antibiótico (37°C) Método de filtración

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Aunque *C. jejuni* es un enteropatógeno frecuente en casos de diarreas en niños en los países en desarrollo, todavía no se conoce bien su vía de transmisión. Recientemente, se ha despertado un gran interés por identificar los factores de riesgo y así implementar medidas de control efectivas (Grados y cols. 1.989). En el presente estudio, se observó que los factores de riesgo a los que estuvieron expuestos la población estudiada fueron similares a los reportados por Stern (1.992) y Murga y cols. (1.993).

De las 65 muestras procesadas, el 3,07 % fueron positivas para *Campylobacter* sp., cifra considerada baja en relación a lo reportado por Blaser y cols. (1.980). Esto pudo deberse, por una parte al hecho de haberse procesado una sola muestra, por otra parte el no haberse utilizado medios de enriquecimiento que favorecieran la recuperación de *Campylobacter* en este tipo de paciente (Taylor y cols. 1.991), ya que la literatura refiere que la carga bacteriana en los portadores asintomáticos generalmente es baja (Velasco y col., 2001). Además, es importante mencionar el poco contacto que estos niños tuvieron en la Institución con los reservorios naturales y con las fuentes de infección para el momento de realizar el estudio, por cuanto ellos recientemente habían terminado el período vacacional. Sin embargo, a pesar de estas limitaciones esta cifra se encuentra entre el rango reportado por otros autores, que indican valores del 2% en Trinidad y 4 % en México (Hull y cols. 1982; Olarte y cols. 1983).

Un hallazgo importante en el presente trabajo fue la recuperación de este microorganismo a partir de niños y adolescentes del grupo control. Al evaluar los factores de riesgo implicados en la transmisión de la infección, Blaser y cols. (1980) indican que las infecciones asintomáticas pueden ocurrir por contacto con los reservorios o vehículos implicados en la transmisión, se sugiere que los niños y adolescentes durante el período vacacional hallan tenido contactos previos con los reservorios naturales en el hogar, o que ocurriera una transmisión por contacto directo entre los miembros de la familia infectados como lo indica el estudio de Shmilovitz y cols. (1982), también pudo haber ocurrido que el abono utilizado en las plantas preparado con estiércol de los animales criados en la Institución, pudieran estar contaminados con *Campylobacter*. En tal sentido, Grados y cols (1989) señalan que el estar en contacto con las heces de pollos infectados con este microorganismo representa un factor principal en la transmisión de *Campylobacter*. Se podría pensar que el agua y el tipo de alimentos consumidos representó una vía de transmisión, a pesar de que ambos grupos consumían dentro de la Institución los mismos

alimentos, en este caso pareciera jugar papel importante la dosis infectante y la respuesta inmune del huésped. Al respecto, Simor y cols. (1987) reportaron que la ingestión a través de alimentos de  $10^6$  microorganismos en un paciente voluntario le produjo la enfermedad en tres días. Asimismo, se ha indicado que las infecciones entéricas por *C. jejuni* son comunes en Bangladesh, siendo a menudo asintomáticas y la sintomatología depende de la respuesta inmune del paciente (Glass y cols. 1983). Las infecciones asintomáticas resultan del desarrollo de anticuerpos específicos del tipo Inmunoglobulina A (Ig A), cuyos niveles aumentan con la edad (Torres y cols. 1993). Estos estudios demuestran claramente que la expresión de la enfermedad esta influenciada por la inmunidad preexistente, la presencia de las infecciones asintomáticas por este microorganismo sugieren que en el huésped inmune las especies de *Campylobacter* no son patógenas y pueden excretarlo en períodos cortos o bien en poca cantidad. De aquí, que tanto las características de la cepa como la respuesta del huésped juegan papel importante en las diferentes manifestaciones clínicas y epidemiológicas de las infecciones por este microorganismo en los países desarrollados y subdesarrollados.

Con respecto a las especies recuperadas, se sabe que *C. jejuni* subespecie *jejuni* es una de las principales causa de cuadros diarreicos agudos en el humano y su crecimiento óptimo se logra en medios de cultivos que contengan antibiótico e incubado a temperaturas de 42° C (Bolton y cols. 1984, Karmali y cols. 1986). De hecho, de las dos cepas aisladas en este estudio, una correspondió a esta especie, recuperada solo por la metodología estandarizada, llamando la atención que por la técnica de filtración incubada a 42° C no fue posible su obtención; este resultado es similar a lo reportado por Goossens y cols. (1986) quienes indican que esta técnica es muy sensible y los cultivos negativos obtenidos con el método de filtración se asociaron con el crecimiento limitado en el medio selectivo, indicando que esta metodología puede no detectar un número pequeño de campilobacterias en las heces.

Es importante destacar que el objetivo del presente estudio fue evaluar un medio de cultivo (Preston modificado), la técnica de filtración y diferentes temperaturas de incubación para tratar de recuperar el mayor número de especies de *Campylobacter*. En este sentido, la recuperación de *C. concisus* es un aporte alcanzado en este trabajo ya que es poca la información que se tiene de esta especie como agente etiológico de diarrea, así como el de ser aislada de personas sanas. En la bibliografía consultada se reporta su aislamiento a partir de muestras periodontales, sin embargo Lauwers y cols. (1991) y Engberg y cols. (2000) reportaron que *C. concisus* fue aislada tanto de pacientes con diarrea

como de pacientes sanos. Este hecho representa en el humano una fuente potencial de transmisión en la enfermedad diarreica y de aquí la importancia de tener presente esta nueva especie.

La recuperación de *C. concisus* se obtuvo de las tres condiciones de cultivo (medio Preston modificado, técnica de filtración y diferentes temperaturas) y el hecho de que estos fueron usados para favorecer la recuperación de las especies de este género permitió en gran medida su desarrollo. López y cols. (1998) indicaron que la combinación de un medio selectivo con el método de filtración incrementa el porcentaje de aislamiento de cepas de *Campylobacter* hasta en un 14,1 %. *C. concisus* se aisló en forma abundante a 37° C por el método de filtración, siendo este resultado similar a los hallazgos de diversos investigadores (Goossens y cols. 1992, Albert y cols. 1992, Engberg y cols. 2000), indicando que esta especie necesita 37° C y más de 4 días de incubación para observar su crecimiento, mientras que a 42°C es escaso o no crece. De allí que se debe adicionar la técnica de filtración de rutina en el laboratorio para el aislamiento de campilobacterias, así como en áreas donde las cepas de *Campylobacter* catalasa negativa o débil puedan tener significancia epidemiológica (López y cols. 1998).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Albert, M.; Tee, W.; Leach, A.; Asche, U.; Penners, J. 1992. **Comparison of a blood-free medium and a filtration technique for the isolation of *Campylobacter* spp. from diarrhoeal stools of hospitalised patients in central Australia.** J. Med. Microbiol. 37:176-179.
- Blaser, M.; LaForce, F.; Wilson, N.; Wang, W. 1980. **Reservoirs for human campylobacteriosis.** J. Infect. Dis. 141:665-669.
- Bolton, F.; Hutchinson, D.; Coastes, D. 1984. **Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from feces.** J. Clin. Microbiol. 19(2): 169-171.
- Burnens, A.; Nicolet, J. 1992. **Detection of *Campylobacter upsaliensis* in diarrheic dogs and cats, using a selective medium with cefoperazone.** Am. J. Vet. Res. 53 (1): 48-51.
- Coker, A.; Isokpehi, R.; Thomas, B.; Amisu, K.; Obi, C. 2002. **Human campylobacteriosis in developing countries.** Emerg. Infect. Dis. 8(3): 237-244.
- Edmonds, P.; Patton, C.; Griffin, P.; Barrett, T.; Schmid, G.; Baker, C.; Lambert, M.; Brenner, D. 1987. ***Campylobacter hyointestinalis* associated with human gastrointestinal disease in the states.** J. Clin. Microbiol. 25(4): 685-691.
- Endtz, H.; Ruijs, G.; Zwinderman, A.; Reijden, T.; Biever, M.; Mouton, P. 1991. **Comparison of six media, including a semisolid agar, for the isolated of various**

***Campylobacter* species from stool specimens.** J. Clin. Microbiol. 29 (5): 1007-1010.

Engberg, J.; On, S.; Harrington, C.; Gerner, P. 2000. **Prevalence of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter* in human fecal samples as estimated by a reevaluation of isolated methods for *Campylobacter*.** J. Clin. Microbiol. 38 (1): 286-291.

Figura, N.; Guglielmetti, P.; Zanchi, A.; Partini, N.; Armellini, D.; Bayeli, P.; Bugndi, M.; Verdiani, S. 1993. **Two cases of *Campylobacter mucosalis* enteritis in children.** J. Clin. Microbiol. 31 (3): 727-728.

Finegold, S.; Baron, E. 1989. **Diagnóstico Microbiológico.** Bailey- Scott. 7ª Edición. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina.

Glass, R.; Stoll, B.; Huq, M. 1983. **Epidemiologic and clinical features of endemic *Campylobacter jejuni* infection in Bangladesh.** J. Infect. Dis. 148: 292-394.

Goossens, H.; DeBoeck, M.; Coingnau, H.; Vlaes, L.; Borre, C.; Butzler, J. 1986. **Modified selective medium for isolation of *Campylobacter* spp. from feces: comparison with Preston medium, a blood-free medium, and a filtration system.** J. Clin. Microbiol. 24 (5): 840-843.

Grados, O.; Bravo, N.; Black, E.; Butzler, J. 1989. **Diarrhea pediátrica por *Campylobacter* debida a la exposición doméstica a pollos vivos en Lima, Perú.** Bol. of Sanit Panam. 106 (3): 205-213.

Hernández, J. 1993. **Incidence and control of *Campylobacter* in foods.** Microbiologia Sem. 9:57-65.

Hull, B.; Spence, L.; Bassett, D.; Swanston, W.; Tikasingh, E. 1982. **The relative importance of rotavirus and other pathogens in the etiology of gastroenteritis in Trinidadian children.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 31: 142-148.

Jones, D.; Abbott, J.; Painter, M.; Sutcliffe, E. 1992. **A comparison of biotypes and serotypes of *Campylobacter* sp. isolated from patients with enteritis and from animal and environmental sources.** J. Infect. Dis. 9: 51-58.

Karmali, M.; Penner, J.; Fleming, P.; Williams, A.; Hennesy, J. 1983. **The serotypes and biotype distribution of clinical isolates of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* over a three-year period.** J. Infect. Dis. 147: 243-246.

Karmali, M.; Simor, A.; Roscoe, M.; Fleming, P.; Smith, S.; Lane, J. 1986. **Evaluation of a blood-free, charcoal-based, selective medium for the isolation of *Campylobacter* organisms from feces.** J. Clin. Microbiol. 23 (3): 456-459.

Koneman, E.; Allen, S.; Dowell, V.; Sommers, H.; Janda, W.; Winn, W. 1997. **Introducción a la Microbiología Médica. Diagnóstico Microbiológico.** 6ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

Lauwers, S.; Devreker, T.; Van Etterijck, R.; Breynaert, J.; Van Zeebroeck, A.; Smekens, L.; Kersters, K.; Vandamme, P. 1991. **Isolation of *Campylobacter concisus* from human faeces.** Microb. Ecol. Health. Dis. 4 (suppl.): S91.

López, L.; Castillo, F.; Clavel, A.; Rubio, M. 1998. **Use of a selective medium and a membrane filter method for isolation of *Campylobacter* species from spanish paediatric patients.** Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 17 (7): 489-492.

Maltezou, H.; Zafiropoulou, A.; Mavrikou, M.; Bozavoutoglou, E.; Liapi, G.; Foustoukou, M.; Kafetzis, D. 2001. **Acute diarrhoea in children treated in an outpatient setting in Athens, Greece.** J. Infect. Dis. 43 (2): 122-127.

Murga, H.; Huicho, L.; Guevara, G. 1993. **Acute diarrhoea and *Campylobacter* in Peruvian children a clinical and epidemiologic approach.** J. Trop. Pediatr. 39:338-341.

Olarte, J.; Perez, G. 1983. ***Campylobacter jejuni* in children with diarrhea in México city.** Pediatr. Infect. Dis. 2:18-20.

Patton, C.; Shaffer, N.; Edmonds, P.; Barretr, M.; Lambert, M.; Baker, C.; Perlman, D.; Brenner, D. 1989. **Human disease associated with *Campylobacter upsaliensis* (catalase-negative or weakly positive *Campylobacter* species) in the United States.** J. Clin. Microbiol. 27:66-73.

Shmilovitz, M.; Kretzer, B.; Rotman, N. 1982. ***Campylobacter jejuni* as an etiological agent of diarrheal diseases in Israel.** Isr. J. Med. Sci. 18:935-940.

Simor, A.; Wilcox, L. 1987. **Enteritis associated with *Campylobacter laridis*.** J. Clin. Microbiol. 25 (1):10-12.

Stern, N. 1992. **Reservoirs for *Campylobacter jejuni* and approaches for intervention in poultry.** En: Nachamkin, I.; Blazer, M.; Tompkins, L. *Campylobacter jejuni*: Current status and future trends. Washington, D.C.: American Society for Microbiology. Pp. 31-41.

Taylor, D.; Hiratsuka, K.; Mueller, L. 1989. **Isolation and characterization of catalase-negative catalase-weak strains of *Campylobacter* species, including "*Campylobacter upsaliensis*" from humans with gastroenteritis.** J. Clin. Microbiol. 27 (9):2042-2045.

Taylor, D.; Kiehlbauch, J.; Tee, W.; Pitarangsi, C.; Echeverria, P. 1991. **Isolation of group 2 Aerotolerant *Campylobacter* species from Thai children with diarrhea.** J. Infect. Dis. 163:1062-1067.

Torres, O.; Cruz, J. 1993. **Protection against *Campylobacter* diarrhea: role of milk Ig A antibodies against bacterial surface antigens.** Acta Pediatr. 82: 835-838.

Torres, M.; Pirez, M.; Schelotto, F.; Varela, G.; Parodi, V.; Allende, F.; Falconi, E.; Dell'Acqua, L.; Gaione, P.;

Mendez, M.; Ferrari, A.; Montano, E.; Acuna, A.; Chiparelli, H.; Ingold, E. 2001. **Etiology of children's diarrhea in Montevideo, Uruguay: associated pathogens and unusual isolates.** J. Clin. Microbiol. 39 (6):2134-2139.

Urrestarazu, M.; Liprandi, F.; Pérez, E.; González, R.; Pérez, I. 1999. **Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela.** Rev. Panam. Salud Pública. 6 (3): 149-156.

Velasco, J.; Vizcaya, L. 1992. **Aislamiento de *Campylobacter jejuni* en niños con diarrea. XXXII Jornadas Venezolanas de Microbiología "Dr. Ramón Zamora", VII Jornadas Nacionales de Infectología "Dr. Guillermo Olaiza".** Barquisimeto. Venezuela.

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

Vizcaya, L.; Flores, A.; Hernández, J.; Nieves, B.; Pérez, I. 1999. **Origen bacteriano de la enfermedad diarreica aguda en Mérida, Venezuela.** Rev. Cubana. Med. Trop. 51 (1):14-19.