

INFECCIÓN POR CAMPYLOBACTER JEJUNI Y C. COLI

RESUMEN

Descripción de la enfermedad: *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) y *Campylobacter coli* (*C. coli*) pueden colonizar el tracto intestinal de la mayoría de los mamíferos y aves, y son las especies de *Campylobacter* aisladas con mayor frecuencia en humanos con gastroenteritis. Aunque las aves de corral constituyen el principal reservorio de *Campylobacter*, la transmisión al ser humano se debe solo en parte a la manipulación y consumo de carne de aves de corral; existen otras vías de transmisión que también deben considerarse importantes. El presente capítulo se centra en *C. jejuni* y *C. coli* en la cría de ganado en relación con la seguridad alimentaria.

Campylobacter jejuni y *C. coli* no suelen causar enfermedad clínica en animales adultos, excepto en casos esporádicos de aborto en los rumiantes y en casos muy raros de hepatitis en los avestruces. La contaminación fecal de la carne (especialmente de la carne de aves) durante su procesamiento se considera la mayor fuente de toxoinfección alimentaria humana. En los humanos se pueden producir infecciones extraintestinales, incluyendo bacteriemia, y algunas secuelas de la infección, tales como las polineuropatías, pueden ser graves, aunque se presentan con poca frecuencia.

Identificación del agente: En mamíferos y aves, la detección de la colonización intestinal se basa en el aislamiento del microorganismo en las heces, frotis rectales y/o contenido del ciego, o bien en el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). *Campylobacter jejuni* y *C. coli* son bacterias termófilas, Gram-negativas, muy móviles, que, para un crecimiento óptimo, necesitan un ambiente microaeróbico y una temperatura de incubación de 37–42°C. Se necesitan medios de agar que contengan antibióticos selectivos para aislar estas bacterias de muestras fecales/intestinales. Alternativamente, se puede aprovechar su alta movilidad utilizando técnicas de filtración para su aislamiento. Las técnicas de enriquecimiento para detectar la colonización intestinal no se utilizan de forma rutinaria. La confirmación preliminar de las cepas aisladas puede llevarse a cabo mediante examen de la morfología y la motilidad empleando microscopía óptica. Los microorganismos en la fase de crecimiento logarítmico, son pequeñas y en forma de S, mientras que las formas de cocos predominan en los cultivos antiguos. Cuando se examinan con el microscopio de contraste de fases, los microorganismos tienen un movimiento rápido y característico como el de un sacacorchos. La identificación de los fenotipos se basa en reacciones bajo diferentes condiciones de crecimiento. Se pueden utilizar pruebas bioquímicas y moleculares, como la PCR y espectrometría de masas mediante MALDI-TOF (desorción/ionización con láser asistida por matriz – tiempo de vuelo) para identificar cepas de *Campylobacter* a nivel de especie. También se puede utilizar la PCR para la detección directa de *C. jejuni* y *C. coli*.

Pruebas serológicas: Las pruebas serológicas no se utilizan de forma rutinaria para la detección de la colonización por *C. jejuni* o *C. coli*.

Requisitos para las vacunas: No existen vacunas efectivas disponibles para la prevención de infecciones por *Campylobacter* entérico en aves o mamíferos.

A. INTRODUCCIÓN

1. La enfermedad

Campylobacter jejuni y *C. coli* se consideran, por lo general, como comensales del ganado, animales domésticos y aves. Se han aislado enormes cantidades de *Campylobacter* en ganado joven, como lechones, corderos y terneros con enteritis, pero los microorganismos también se han hallado en animales sanos. Se ha informado de brotes de hepatitis aviar, pero aunque *C. jejuni* se asocia a la enfermedad, no es el agente causal (Jennings *et al.*, 2011). Recientemente, se ha aislado un nuevo *Campylobacter* como agente causal de la enfermedad del hígado manchado en gallinas ponedoras (Crawshaw *et al.*, 2015). *Campylobacter* es la principal causa de enfermedad intestinal bacteriana en humanos identificada en muchos países industrializados (Havelaar *et al.*, 2013; Scallan *et al.*, 2011). Más del 80% de los casos están causados por *C. jejuni* y en torno al 10%, por *C. coli*. En los humanos, la infección por *C. jejuni/C. coli* se asocia a enteritis aguda y a un dolor intestinal que dura 7 o más días. Aunque tales infecciones son leves, pueden aparecer complicaciones como bacteriemia, síndrome de Guillain–Barré, artritis reactiva y aborto (OMS, 2013). Los estudios realizados para determinar la causa indican que las aves de corral son el principal reservorio de *Campylobacter* y las responsables de un 50% a 80% de las infecciones humanas. En la Unión Europea (UE), se estima que un 30% de las infecciones humanas se asocian a la manipulación y consumo de carne de aves de corral; pero una proporción considerable de las cepas derivadas de aves de corral se transmite por una vía distinta de la carne de aves de corral, como por ejemplo, la contaminación ambiental (EFSA, 2010b). También se cree que el contacto con los animales domésticos y el ganado, el consumo de agua contaminada o leche cruda y el desplazamiento en zonas de alta prevalencia también son factores de riesgo para la enfermedad humana (Domingues *et al.*, 2012). El control de *Campylobacter* en la cadena alimenticia se ha convertido actualmente en el principal objetivo de las agencias responsables de la seguridad alimentaria en todo el mundo.

Las manipulaciones de laboratorio deben llevarse a cabo aplicando procedimientos de bioseguridad y contención adecuados, que vendrán determinados por análisis del riesgo biológico (véase el Capítulo 1.1.4. *Bioseguridad y bioprotección; normas para la gestión del riesgo biológico en el laboratorio veterinario de diagnóstico y en las instalaciones de los animales*).

2. Taxonomía

Actualmente, existen 34 especies de *Campylobacter* reconocidas, pero con la mejora de las técnicas de diagnóstico y de análisis genómico, se espera que esta cifra aumente con el tiempo (*cf* Lista de nombres de microorganismos procariotas incluidos en la nomenclatura: <http://www.bacterio.net/index.html>). Los miembros del género *Campylobacter* son típicamente bacterias gramnegativas, que no forman esporas, con forma de S o espiral (0,2–0,8 µm de ancho y 0,5–5 µl de largo), con flagelos polares aislados a uno o a ambos extremos, lo que le confiere una movilidad característica, como la de un sacacorchos. Estas bacterias requieren condiciones microaerobias, pero algunas cepas pueden crecer también en aerobiosis y anaerobiosis. No fermentan ni oxidan los carbohidratos. Algunas especies, particularmente *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari*, son termófilas, y crecen óptimamente a 42°C. Pueden colonizar superficies mucosas, generalmente del tracto intestinal, en la mayoría de las especies de mamíferos y de aves probadas. La especie *C. jejuni* comprende dos subespecies (*C. jejuni* subespecie *jejuni* y *C. jejuni* subespecie *doylei*) que pueden diferenciarse sobre la base de varias pruebas fenotípicas (la reducción del nitrato, la reducción de la selenita, el fluoruro sódico y la safranina) y el crecimiento a 42°C) (la subespecie *doylei* no crece a 42°C) (Garrity, 2005). La subespecie *jejuni* se aísla más fácilmente que la subespecie *doylei*.

B. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Tabla 1. Métodos analíticos disponibles para el diagnóstico de *Campylobacter jejuni* y *C. coli* y su propósito

Método	Propósito					
	Population freedom from infection	Individual animal freedom from infection prior to movement	Contribute to eradication policies	Confirmation of clinical cases	Prevalence of infection – surveillance	Immune status in individual animals or populations post-vaccination
Identificación del agente¹						
Aislamiento	+++	–	+++	+++	+++	–
MALDI-TOF	+++	–	+++	+++	+++	–
Detección de antígeno	++	–	++	–	++	–
Secuenciación del gen ARNr 16S	++	–	++	++	++	–
PCR en tiempo real	++	–	++	++	++	–
Detección de respuesta inmunitaria: no aplicable para <i>Campylobacter jejuni</i> y <i>C. coli</i>						

Clave: +++ = método recomendado para este propósito; ++ = método recomendado pero tiene limitaciones; + = método adecuado en muy pocas situaciones; – = no adecuado para este propósito.
 Maldi-tof = matrix assisted laser desorption ionisation–time of flight; PCR = polymerase chain reaction;

1. Aislamiento e identificación del agente

Existen dos procedimientos ISO (Organización Internacional de Estandarización) para la detección de *Campylobacter*, un método horizontal de detección y enumeración de *Campylobacter* spp. termotolerantes (ISO 10272) en alimentos y piensos animales, formado por dos partes: la parte 1 corresponde al método de detección y la parte 2, a la técnica de recuento de colonias. Ambas partes de la ISO están en revisión y se publicarán en 2017. La norma revisada incluirá métodos para el aislamiento de *Campylobacter* a partir de animales vivos, y un procedimiento ISO 17995 que hace referencia a la calidad del agua, para la detección y enumeración de *Campylobacter* spp. termotolerantes en el agua (ISO, 2005 – revisado por última vez en 2014).

1.1. Obtención de muestras

1.1.1. Aves de corral

Se ha descrito que las aves de corral son colonizadas sobre todo por *C. jejuni* (65–95%), con menos frecuencia por *C. coli* y raramente por otras especies de *Campylobacter* (Newell & Wagenaar, 2000). Los índices de colonización en pollos están relacionados con la edad. La mayor parte de las poblaciones son negativas hasta los 2–3 meses de edad. Una vez que se produce la colonización por *Campylobacter* en poblaciones avícolas, la transmisión por exposición a contaminación fecal es extremadamente rápida y pueden llegar a colonizarse en pocos días hasta el 100% de las aves de una explotación. Las muestras de aves vivas, destinadas a la cadena alimenticia, deberían tomarse tan próximas al momento del sacrificio como sea posible (Newell & Wagenaar, 2000). La mayoría de las aves albergan grandes cantidades de microorganismos (>10⁶ unidades formadoras de colonias por g de heces). Los microorganismos del género *Campylobacter* se pueden aislar a partir de vertidos fecales recientes. Para la detección fiable de *Campylobacter* mediante cultivo, se deberían recoger heces recién evacuadas (preferiblemente sin trazas de orina). Se debe impedir que tales muestras se sequen antes del cultivo. Cuando se utilizan frotis, se debe utilizar un medio de transporte (como los de Amies, Cary Blair o Stuart). Se ha revisado la estrategia de muestreo de las aves de corral (Vidal *et al.*, 2013), y normalmente se basa en la obtención de muestras

1 Se recomienda aplicar una combinación de varios métodos de identificación del agente a una misma muestra clínica.

mediante hisopos de las botas de los operarios, deyecciones fecales/cecales o cloacas de las aves.

1.1.2. Ganado bovino, ovejas y cerdos de explotación

Los microorganismos del género *Campylobacter* son colonizadores frecuentes del intestino del ganado bovino, ovejas y cerdos; Newell *et al.*, han revisado los datos publicados. El ganado bovino y las ovejas son colonizados fundamentalmente por *C. jejuni*, *C. coli*, *C. hyointestinalis* y *C. fetus*, mientras que los cerdos son colonizados predominantemente por *C. coli*. En mamíferos jóvenes, la proporción es más alta que en animales más viejos. En estos últimos, los microorganismos se pueden detectar intermitentemente en las heces, probablemente debido al bajo número o a emisiones intermitentes del agente. Han de tomarse muestras recientes (muestras rectales si es posible) y se debe impedir que se sequen. Cuando se utilizan frotis, se debe utilizar un medio de transporte (como los de Amies, Cary Blair o Stuart).

1.1.3. En el matadero

En las aves de corral, generalmente se utilizan los ciegos para la detección de *Campylobacter*. Se pueden cortar con tijeras estériles de la parte restante del intestino y mandarlos intactos al laboratorio en una un recipiente adecuado.

Las muestras de ganado bovino, ovejas y cerdos se pueden recoger de los intestinos mediante apertura aséptica de la pared del intestino o tomando frotis rectales con precaución.

1.2. Transporte y tratamiento de las muestras

1.2.1. Transporte

Los microorganismos del género *Campylobacter* son sensibles a las condiciones ambientales, incluyendo deshidratación, oxígeno atmosférico, luz solar y temperatura elevada. Por tanto, el transporte al laboratorio y posterior procesado deben hacerse tan rápido como sea posible (preferiblemente el mismo día, y si no dentro de los 2-3 días siguientes). Las muestras deben protegerse de la luz, de las temperaturas extremas y de la desecación.

No se puede recomendar una temperatura ideal para el transporte, pero está claro que la congelación o las temperaturas altas pueden reducir la viabilidad. Se deben evitar temperaturas altas (<20°C), temperaturas bajas (<0°C) y fluctuaciones en la temperatura. Cuando el tiempo transcurrido entre la toma de la muestra y el procesado sea superior a las 48 horas, se aconseja una conservación a 4 ± 2 °C.

1.2.2. Medios de transporte

Frotis: cuando las muestras se recogen en forma de frotis de botas o rectales, se recomienda el uso de tubos de transporte disponibles en el mercado, que contengan un medio, como el de Amies o el de Cary Blair. El medio puede ser un agar base o con base de carbón vegetal. La función del medio no es el crecimiento de *Campylobacter* spp. sino proteger los contenidos de los frotis de la sequedad y los efectos tóxicos del oxígeno.

Cuando solamente se puedan recoger cantidades pequeñas de muestras fecales/del ciego y no haya tubos de transporte disponibles, se recomienda el envío del espécimen en medio de transporte. Se han descrito varios medios de transporte: Cary-Blair, Cary-Blair modificado, medio Stuart modificado, medio Campyloglicolato, agua con peptona alcalina y medio de prueba de movilidad semisólido. Se han descrito buenos resultados de recuperación utilizando Cary-Blair (Luechtefeld *et al.*, 1981; Sjogren *et al.*, 1987).

1.2.3. Mantenimiento de las muestras

Las muestras han de procesarse tan pronto como lleguen al laboratorio, preferiblemente el día de llegada pero no más de 3 días después de la recogida de las muestras. Para evitar variaciones de temperatura, las muestras deben refrigerarse únicamente cuando no se puedan procesar el mismo día; de otra forma, se deben mantener a temperatura ambiente. Cuando las muestras se envían o se mantienen en el laboratorio a 4°C, debe dejarse que se equilibren a temperatura ambiente antes de su procesado, para evitar choques térmicos.

1.3. Aislamiento de *Campylobacter*

No se necesita pretratamiento para el aislamiento de *Campylobacter* de muestras fecales/de ciego o intestinales: las muestras pueden colocarse en placas sobre el medio selectivo o puede utilizarse el método de filtración sobre un medio no selectivo. En el caso de las muestras de ciego, los ciegos se abren aseptícamente cortando la parte final con tijeras estériles y oprimiendo hasta que salga el material a procesar. Se recomienda el enriquecimiento para aumentar la sensibilidad del cultivo de microorganismos potencialmente estresado por las condiciones ambientales o en caso de bajos niveles de microorganismos en las heces de, por ejemplo, ganado bovino, ovejas y cerdos. Sin embargo, el enriquecimiento de las muestras fecales suele estar sujeto al sobrecrecimiento de bacterias competidoras y no se lleva a cabo de forma rutinaria.

1.3.1. Medios selectivos para el aislamiento

En la actualidad pueden utilizarse muchos medios para la recuperación de *Campylobacter* spp. El que más se recomienda es el agar modificado con carbón vegetal, cefoperazona y deoxicolato (mCCDA), aunque pueden utilizarse medios alternativos. En Corry *et al.* (Corry *et al.*, 1995; 2003) se ofrece una descripción detallada de la detección de *Campylobacter* mediante cultivos y una variedad de medios. Los medios selectivos se pueden dividir en dos grupos fundamentales: medios basados en sangre y medios basados en carbón. Los componentes de la sangre y del carbón sirven para eliminar los derivados tóxicos del oxígeno. La mayor parte de los medios están disponibles comercialmente. La selectividad de los medios viene determinada por los antibióticos utilizados. Se utilizan cefalosporinas (generalmente cefoperazona), a veces en combinación con otros antibióticos (por ejemplo vancomicina, trimetoprim). Se utiliza cicloheximida (actidiona) y más a menudo anfotericina B para inhibir a las levaduras y a los hongos (Martin *et al.*, 2002). La principal diferencia entre los medios es el grado de inhibición de la flora contaminante. Todos los agentes selectivos permiten el crecimiento de *C. jejuni* y *C. coli*. No existe ningún medio disponible que permita el crecimiento de *C. jejuni* e inhiba el de *C. coli* o viceversa. Hasta cierto punto, otras especies de *Campylobacter* (por ejemplo *C. lari*, *C. upsaliensis*, *C. helveticus*, *C. fetus* y *C. hyointestinales*) crecerán en la mayoría de los medios, especialmente a la temperatura menos selectiva de 37°C.

Ejemplos de medios sólidos selectivos con sangre:

- Agar Preston
- Agar Skirrow
- Agar Butzler
- Campy-cefex

Ejemplos de medios sólidos con base de carbón

- mCCDA (agar modificado con deoxicolato, cefoperazona y carbón), versión ligeramente modificada de la CCDA descrita originalmente) (Bolton *et al.*, 1984; 1988).
- Agar Karmali o CSM (medio de carbón selectivo) (Karmali *et al.*, 1986)
- Agar CAT (cefoperazona, anfotericina y teicoplanina), facilitador del crecimiento de *C. upsaliensis* (Aspinall *et al.*, 1993).

1.3.2. Filtración pasiva

La filtración pasiva, un método elaborado por Steele y McDermott (1984) evita la necesidad de medios selectivos; de modo que resulta muy útil para el aislamiento de especies de *Campylobacter* sensibles a antimicrobianos. Como en este método no se utilizan medios selectivos caros, puede resultar útil para los laboratorios con pocos recursos. Para la filtración pasiva, las heces se mezclan con PBS (aproximadamente a una dilución de 1/10) para producir una suspensión. Aproximadamente 100 µl de esta suspensión se depositan cuidadosamente sobre un filtro de 0,45 o 0,65 µm, que se ha colocado previamente sobre una placa de agar sangre no selectiva. Ha de tenerse cuidado de no dejar que el inóculo se derrame sobre el borde del filtro. Se deja que las bacterias se muevan a través del filtro durante 30–45 minutos a 37°C o a temperatura ambiente. Después se quita el filtro. La placa se incuba microaeróbicamente a 42°C.

1.3.3. Incubación

i) Atmósfera

Se necesitan atmósferas microaerobias de 5–10% de oxígeno, 5–10% de dióxido de carbono para un crecimiento óptimo (Corry *et al.*, 2003; Vandamme, 2000). Se pueden producir condiciones atmosféricas adecuadas mediante diferentes métodos. En algunos laboratorios, se utilizan evacuaciones repetidas del contenido de una jarra de gas seguidas de sustitución de la atmósfera con gases embotellados. Hay disponibles kits generadores de gas comerciales. Si se trata de grandes cantidades de cultivos resultan más adecuados los incubadores de atmósfera variable.

ii) Temperatura

Los medios se pueden incubar a 37°C o 42°C, pero es una práctica común incubar a 42°C para minimizar el crecimiento de contaminantes y para seleccionar el crecimiento óptimo de *C. jejuni/C. coli*. Se añaden los agentes fungostáticos: cicloheximida o anfotericina para impedir el crecimiento de levaduras y hongos a 37°C (Bolton *et al.*, 1988). En algunos laboratorios, la incubación se produce a 41,5°C para armonizar con los protocolos de aislamiento de *Salmonella* y *Escherichia coli* 0157 (ISO, 2006).

iii) Tiempo

Generalmente *Campylobacter jejuni* y *C. coli* manifiestan un crecimiento sobre medios sólidos en 24–48 horas a 42°C. Se recomiendan 48 horas de incubación para el diagnóstico rutinario, ya que el número adicional de muestras positivas obtenidas mediante la incubación prolongada es muy bajo (Bolton *et al.*, 1988).

1.4. Confirmación

Se necesita un cultivo puro para pruebas confirmativas, pero se puede obtener una confirmación preliminar mediante el examen microscópico directo del material con colonias sospechosas.

1.4.1. Identificación en medio sólido

En Skirrow u otros agares con sangre, las colonias típicas de *Campylobacter* son de color rosa pálido, redondas, convexas, lisas y brillantes, con un borde regular. En los medios basados en carbón vegetal, como mCCDA, las colonias típicas son grisáceas, planas y húmedas, con tendencia a extenderse, y muchas tienen un brillo metálico.

1.4.2. Examen microscópico de la morfología y la movilidad

Se suspende material de una colonia sospechosa en medio salino y se evalúa, preferiblemente mediante un microscopio de contraste de fases, para observar bacilos finos en espiral o curvados que se mueven en forma de sacacorchos. Los cultivos más antiguos muestran formas de coco menos móviles.

1.4.3. Detección mediante oxidasa

Se toma el material de una colonia sospechosa y se coloca en papel de filtro humedecido con reactivo de oxidasa. La aparición de un color violeta o azul oscuro antes de 10 segundos significa una reacción positiva. Si se utiliza un kit para la prueba de la oxidasa que esté disponible en el mercado, deben seguirse las instrucciones del fabricante.

1.4.4. Crecimiento aeróbico a 25°C

Se inocula el cultivo puro en placa de agar sangre no selectivo y se incuba a 25°C en una atmósfera aeróbica durante 48 horas.

1.4.5. Pruebas de aglutinación en látex

Existen a la venta *pruebas de aglutinación en látex* para la confirmación de cultivos puros de *C. jejuni/C. coli* (y frecuentemente de *C. lari*).

1.5. Identificación de las especies de *Campylobacter*

Entre las especies de *Campylobacter* que crecen a 42°C, las que con mayor frecuencia se encuentran en muestras de origen animal son *C. jejuni* y *C. coli*. No obstante, se han descrito otras especies menos frecuentes, como especies de *Helicobacter*. Por lo general, *C. jejuni* se puede diferenciar de otras especies de *Campylobacter* sobre la base de la hidrólisis del hipurato, ya que esta es la única

especie positiva a hipurato que se ha aislado de muestras veterinarias o de alimentos. Se ha descrito la presencia de cepas de *C. jejuni* negativas al hipurato (Steinhauserova *et al.*, 2001). En el cuadro 2 se ofrecen algunos rasgos fenotípicos clásicos de las especies termófilas de *Campylobacter* más importantes (ISO, 2006). Se han descrito en la literatura esquemas más amplios de clasificación en especies (On, 1996; Vandamme, 2000). Los resultados de ese tipo de clasificación se deben confirmar mediante la utilización de controles positivos y negativos.

Tabla 2. Características fenotípicas básicas de especies termófilas seleccionadas de *Campylobacter*

Características	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>
Hidrólisis de hipurato	+*	–	–
Hidrólisis de acetato de indoxil	+	+	–

Clave: + = positivo; – = negativo; *no todas las cepas.

Las pruebas confirmativas de la presencia de *Campylobacter* termófilo y su interpretación (ISO, 2006) se proporcionan en el cuadro 1. Los resultados de las pruebas de confirmación se confirman utilizando controles positivos y negativos.

Tabla 3. Pruebas confirmativas para *Campylobacter* termófilo

Prueba confirmativa	Resultado para <i>Campylobacter</i> termófilo
Morfología	Pequeños bacilos curvados
Movilidad	Característica: elevada movilidad en forma de sacacorchos
Oxidasa	+
Crecimiento aeróbico a 25°C	–

1.5.1. Detección de hidrólisis de hipurato

Suspender un asa de cultivo de una colonia sospechosa en 400 µl de un solución de hipurato sódico al 1% (ha de tenerse cuidado de no incorporar agar). Incubar a 37°C durante 2 horas, después añadir lentamente 200 µl de solución de ninhidrina al 3,5% a un extremo del tubo para forma una capa superpuesta. Reincubar a 37°C durante 10 minutos y leer la reacción. Reacción positiva: azul/violeta oscuro. Reacción negativa: clara o gris. Si se utilizan discos de prueba de hidrólisis de hipurato disponibles comercialmente, se seguirán las instrucciones del fabricante.

1.5.2. Detección de hidrólisis de acetato de indoxil

Poner una colonia sospechosa sobre un disco de acetato de indoxil y añadir una gota de agua destilada estéril. Si el acetato de indoxil se hidroliza se produce un cambio de color a azul oscuro en 5–10 minutos. Si no hay cambio de color significa que no se ha producido la hidrólisis.

La especificación bioquímica puede completarse o incluso sustituirse mediante métodos moleculares, o espectrometría de masas por MALDI-TOF. La MALDI-TOF se puede utilizar para identificar cepas de *Campylobacter* y de forma eficiente a nivel de género y de especie (Bessede *et al.*, 2011). Se han descrito pruebas de identificación basadas en distintas sondas de ADN y en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la identificación de especies de *Campylobacter* (On, 1996; Vandamme, 2000). On y Jordan (2003) evaluaron la especificidad de 11 pruebas de identificación mediante la PCR para *C. jejuni* y *C. coli*. Un método rápido para diferenciar entre cepas de *C. jejuni* y de *C. coli* es una PCR en tiempo real doble, que tiene por diana la identificación del gen *mapA* en el caso de la identificación de *C. jejuni*, y del gen *CeuE* en el caso de la identificación de *C. coli* (Best *et al.*, 2003). Otro método de PCR en tiempo real que se suele utilizar para identificar y diferenciar entre *C. jejuni*, *coli* y *lari* es el descrito por Mayr *et al.* (2010). Un método basado en gel que se utiliza con frecuencia permite diferenciar entre *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis* (Wang *et al.*, 2002). Las cepas de *Campylobacter* también se pueden identificar por métodos moleculares a nivel de especie con una secuenciación del gen ARNr 16S (Gorkiewicz *et al.*, 2003).

1.6. Detección molecular de *Campylobacter*

Se han descrito en detalle en la literatura métodos basados en la PCR para la detección de *Campylobacter* en muestras de heces de los animales y en muestras de carne enriquecida (Bang *et al.*, 2001; Lund *et al.*, 2003; Olsen *et al.*, 1995). Existen muchas pruebas moleculares para la identificación de *Campylobacter* a nivel de especie, pero ninguna recomendada. Las cepas de *Campylobacter* se pueden identificar a nivel de especie con una secuenciación del gen ARNr 16S (Gorkiewicz *et al.*, 2003). En todos los métodos moleculares de detección de *Campylobacter* deben incluirse cepas de referencia positivas y negativas y controles del proceso para detectar una posible inhibición de la PCR por parte de la matriz de la muestra.

1.7. Pruebas basadas en la captura del antígeno

Existen varios ensayos inmunológicos para la detección de *Campylobacter* en muestras de heces humanas o de animales. Algunos son de flujo lateral. La sensibilidad y la especificidad de estos métodos deben evaluarse exhaustivamente mediante un proceso de validación interna.

2. Pruebas serológicas

No existen pruebas serológicas de uso rutinario para la detección de la colonización de ganado por *C. jejuni*/*C. coli*.

C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS Y LOS MATERIALES DE DIAGNÓSTICO

No existen vacunas desarrolladas específicamente para *C. jejuni* o *C. coli* en ganado o aves.

BIBLIOGRAFÍA

- ASPINALL S.T., WAREING D.R.A., HAYWARD P.G. & HUTCHINSON D.N. (1993). Selective medium for thermophilic campylobacters including *Campylobacter upsaliensis*. *J. Clin. Pathol.*, **46**, 829–831.
- BANG D.D., PEDERSEN K. & MADSEN M. (2001). Development of a PCR assay suitable for *Campylobacter* spp. mass screening programs in broiler production. *J. Rapid Methods Autom. Microbiol.*, **9**, 97–113.
- BESSEDE E., SOLECKI O., SIFRE E., LABADI L. & MEGRAUD F. (2011). Identification of *Campylobacter* species and related organisms by matrix assisted laser desorption ionization–time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. *Clin. Microbiol. Infect.*, **17**, 1735–1739.
- BEST E.L., POWEL E.J., SWIFT C., KATHLEEN A.G. & FROST J.A. (2003). Applicability of a rapid duplex real-time PCR assay for speciation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* directly from culture plates. *FEMS Microbiol.*, **229**, 237–241.
- BOLTON F.J., HUTCHINSON D.N. & COATES D. (1984). Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from faeces. *J. Clin. Microbiol.*, **19**, 169–171.
- BOLTON F.J., HUTCHINSON D.N. & PARKER G. (1988). Reassessment of selective agars and filtration techniques for isolation of *Campylobacter* species from faeces. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **7**, 155–160.
- CORRY J.E.L., ATABAY H.I., FORSYTHE S.J. & MANSFIELD L.P. (2003). Culture media for the isolation of campylobacters, helicobacter and arcobacters. *In: Handbook of Culture Media for Food Microbiology*, Second Edition, Corry J.E.L., Curtis G.D.W. & Baird R.M. eds. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 271–315.
- CORRY J.E.L., POST D.E., COLIN P. & LAISNEY M.J. (1995). Culture media for the isolation of campylobacters. *Int. J. Food Microbiol.*, **26**, 43–76.
- CRAWSHAW T.R., CHANTER J.I., YOUNG S.C., CAWTHRAW S., WHATMORE A.M., KOYLASS M.S., VIDAL A.B., SALGUERO F.J. & IRVINE R.M. (2015). Isolation of a novel thermophilic *Campylobacter* from cases of spotty liver disease in laying hens and experimental reproduction of infection and microscopic pathology. *Vet. Microbiol.*, **179**, 315–321.

- DOMINGUES A.R., PIRES S.M., HALASA T. & HALD T. (2012). Source attribution of human campylobacteriosis using a meta-analysis of case-control studies of sporadic infections. *Epidemiol. Infect.*, **140**, 970–981.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2010b). Scientific Opinion on Quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). *EFSA J.*, **8** (1), 1437. [89 pp.].
- GARRITY G.M. (Editor-in-Chief) (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second Edition. Springer-Verlag, New York, USA.
- GORKIEWICZ G., FEIERL G., SCHÖBER C., DIEBER F., KÖFER J., ZECHNER R. & ZECHNER E.L. (2003). Species-specific identification of *Campylobacters* by partial 16S rRNA gene sequencing. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 2537–2546.
- HAVELAAR A.H., IVARSSON S., LÖFDAHL M. & NAUTA M.J. (2013). Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009. *Epidemiol. Infect.*, **141**, 293–302.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO) (2005). ISO 17995:2005. Water quality – Detection and enumeration of thermophilic *Campylobacter species*. International Organisation for Standardisation (ISO), ISO Central Secretariat, 1 rue de Varembé, Case Postale 56, CH - 1211, Geneva 20, Switzerland.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO) (2006). ISO 10272-1:2006 AND ISO/TS 10272-2:2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1: Detection method; Part 2: Colony count technique. International Organisation for Standardisation (ISO), ISO Central Secretariat, 1 rue de Varembé, Case Postale 56, CH - 1211, Geneva 20, Switzerland.
- JENNINGS J.L., SAIT L.C., PERRETT C.A., FOSTER C., WILLIAMS L.K., HUMPHREY T.J. & COGAN T.A. (2011). *Campylobacter jejuni* is associated with, but not sufficient to cause vibronic hepatitis in chickens. *Vet. Microbiol.*, **149**, 193–199.
- KARMALI M.A., SIMOR A.E., ROSCOE M., FLEMING P.C., SMITH S.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**, 456–459.
- LUECHTEFELD N.W., WANG W.L., BLASER M.J. & RELLER L.B. (1981). Evaluation of transport and storage techniques for isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* from turkey cecal specimens. *J. Clin. Microbiol.*, **13**, 438–443.
- LUND M., WEDDERKOPP A., WAINO M., NORDENTOFT S., BANG D.D., PEDERSEN K. & MADSEN M. (2003). Evaluation of PCR for detection of *Campylobacter* in a national broiler surveillance programme in Denmark. *J. Appl. Microbiol.*, **94**, 929–935.
- MARTIN K.W., MATTICK K.L., HARRISON M. & HUMPHREY T.J. (2002). Evaluation of selective media for *Campylobacter* isolation when cycloheximide is replaced with amphotericin B. *Lett. Appl. Microbiol.*, **34**, 124–129.
- MAYR A.M., LICK S., BAUER J., THARIGEN D., BUSCH U. & HUBER I. (2010). Rapid detection and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter lari* in food, using multiplex real-time PCR. *J. Food Prot.*, **73**, 241–250.
- NEWELL D.G., MUGHINI-GRAS L., KALUPAHANA R.S. & WAGENAAR J.A. (2017). *Campylobacter* epidemiology – sources and routes of transmission for human infection. *Campylobacter: Features, Detection, and Prevention of Foodborne Disease*. ELSEVIER, Amsterdam, Netherlands.
- NEWELL D.G. & WAGENAAR J.A. (2000). Poultry infections and their control at the farm level. In: *Campylobacter*, Second Edition, Nachamkin I. & M.J. Blaser, eds. ASM Press, Washington DC, USA, 497–509.
- OLSEN J.E., ABO S., HILL W., NOTERMANS S., WERNARS K., GRANUM P.E., POPVIC T., RASMUSSEN H.N. & OLSVIK O. (1995). Probes and polymerase chain reaction for the detection of food-borne bacterial pathogens. *Int. J. Food Microbiol.* **28**, 1–78.
- ON S.L.W. (1996). Identification methods for *Campylobacters*, *Helicobacters*, and Related organisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, **9**, 405–422.
- ON S.L.W. & JORDAN P.J. (2003). Evaluation of 11 PCR assays for species-level identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 330–336.

SCALLAN E., HOEKSTRA R.M., ANGULO F.J., TAUXE R.V., WIDDOWSON M.A., ROY S.L., JONES J.L., GRIFFIN P.M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States – major pathogens. *Emerg. Infect. Dis.*, **17**, 7–15.

SJOGREN E., LINDBLOM G.B. & KAIJSER B. (1987). Comparison of different procedures, transport media, and enrichment media for isolation of *Campylobacter* species from healthy laying hens and humans with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.*, **25**, 1966–1968.

STEELE T.W. & MCDERMOTT S.N. (1984). The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *Pathology*, **16**, 263–265.

STEINHAUSEROVA I., CESKOVA J., FOJTIKOVA K. & OBROVSKA I. (2001). Identification of thermophilic *Campylobacter* spp. by phenotypic and molecular methods. *J. Appl. Microbiol.*, **90**, 470–475.

VANDAMME P. (2000). Taxonomy of the family Campylobacteraceae. In: *Campylobacter*, Second Edition, Nachamkin I. & M.J. Blaser, eds. ASM Press, Washington DC, USA, 3–26.

VIDAL A.B., RODGERS J., ARNOLD M. & CLIFTON-HADLEY F. (2013). Comparison of different sampling strategies and laboratory methods for the detection of *C. jejuni* and *C. coli* from broiler flocks at primary production. *Zoonoses Public Health*, **60**, 412–425.

WANG G., CLARK C.G., TAYLOR T.M., PUCKNELL C., BARTON C., PRICE L., WOODWARD D.L. & RODGERS F.G. (2002). Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 4744–4747.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (2013). The global view of campylobacteriosis: report of an expert consultation, Utrecht, Netherlands, 9–11 July 2012, WHO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Organisation for Animal Health, eds. WHO, Geneva, Switzerland.
<http://www.who.int/iris/handle/10665/80751>

*

* *

NB: Existe un Laboratorio de Referencia de la OIE para la campilobacteriosis
(puede consultarse la página web de la OIE:

<https://www.oie.int/es/que-ofrecemos/red-de-expertos/laboratorios-de-referencia/#ui-id-3>)

Para más información sobre las pruebas de diagnóstico y los reactivos para la campilobacteriosis, por favor contacte con el Laboratorio de Referencia de la OIE.

NB: ADOPTADO POR PRIMERA VEZ EN 2004. ÚLTIMAS ACTUALIZACIONES ADOPTADAS EN 2017.