

Un nuovo sistema integrato per l'arricchimento selettivo e la coltura su piastra di *Campylobacter*

A novel integrated system for the isolation of Campylobacter

Giornale Italiano di
Microbiologia Medica
Odontoiatrica e Clinica
Vol. VII, N° 2, 2003
p. 75 - 82

Copyright © 2003

Riassunto: I *Campylobacter* sono dei patogeni emergenti di frequente isolamento nei casi di enterite acuta. La ricerca di questi microrganismi nei campioni clinici e negli alimenti presenta qualche difficoltà per le loro peculiari caratteristiche di crescita. Per facilitare l'isolamento dei *Campylobacter* è stato messo a punto un sistema integrato costituito da un nuovo brodo di arricchimento selettivo e da una piastra particolare per microaerofilia denominata Linearcount 3 aero-micro (Linearcount 3MA). I risultati ottenuti sono positivi in quanto il brodo di arricchimento ha mostrato un'elevata selettività e capacità di stimolare la crescita dei *Campylobacter* termofili e non termofili. Il sistema Linearcount 3MA ha confermato la sua validità in confronto ai sistemi tradizionali di semina in piastra e incubazione in giara, soprattutto per quanto riguarda la semplicità d'uso e l'affidabilità nell'isolamento delle diverse specie di *Campylobacter*.

**G. Lampis^{1,2*},
C. Pittau²,
S. Laconi¹,
P. Murgia³,
R. Pompei^{1,2}**

*Autore di riferimento:
G. Lampis

Summary: *The Campylobacter species are now considered an important emerging cause of enteric diseases. They are fastidious microorganisms, since require special culture conditions for growth.*

In this paper a novel integrated system for the isolation of various species of Campylobacter is presented. It consists of a selective enrichment broth and a microaerophilic plate named Linearcount 3MA. The results demonstrate that the enrichment broth was highly valuable in enhancing the growth of Campylobacter spp. and the Linearcount 3MA was able to support the growth of most species of Campylobacter at least as efficiently as the conventional culture method in jar, but with some advantages in terms of sample handling and result reading.

INTRODUZIONE

I *Campylobacter* sono coinvolti nell'eziologia di enteriti acute diffuse in particolare in ambito comunitario. Le specie, riunite nel gruppo dei termofili, isolate più comunemente in questi casi sono *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari* e *C. upsaliensis*, tra cui il *C. jejuni* rappresenta il 95% circa dei ceppi isolati (Ng *et al.*, 1997). Altre specie, di minor importanza, associate a enteriti sono state spostate dal genere *Campylobacter* al genere *Helicobacter*; tra queste vi sono le specie *H. cinaedi* e *H. fennelliae*, che non sono termofile (Vandamme *et al.*, 1991).

Le particolari esigenze nutrizionali e culturali di questi microrganismi hanno determinato, sino a tempi recenti, la sottostima della reale incidenza di queste infezioni.

Attualmente le campilobatteriosi sono stimate essere più frequenti delle salmonellosi negli USA e in alcuni stati europei (Svizzera e Olanda) (Schlundt, 2001; Nachamkin, 1999).

La diffusione ambientale è dovuta alla presenza di questi microrganismi nell'intestino di svariati uccelli e mammiferi, sia d'allevamento che selvatici. La catena epidemiologica vede coinvolta sia la trasmissione oro-fecale, dovuta alla contaminazione ambientale, sia la trasmissione attraverso carni poco cotte (Tauxe, 1992).

La tecnica standard per l'isolamento dei *Campylobacter* dalle feci è la semina diretta su terreni selettivi. L'incubazione a 42°C può aiutare l'isolamento nelle specie termofili, rallentando la crescita dei contaminanti, ma determina la sottostima delle

¹ Sezione di Microbiologia Applicata, Università degli Studi di Cagliari - ² Biotecne, Cagliari

³ Microbiol, Z.I. Macchiareddu, Uta

Lampis et al.

specie di *Campylobacter* e *Helicobacter* non termofile (Nachamkin, 1999).

Alcuni autori (Barot & Bokkenheuser, 1984; Hodge & Terro, 1984) riportano l'aumento di isolamento di *Campylobacter* con l'utilizzo di brodi di arricchimento, tecnica utilizzata anche per la ricerca da campioni ambientali e alimentari (Hunt *et al.*).

In questo lavoro abbiamo voluto valutare l'efficacia di un nuovo sistema che integra un brodo di arricchimento selettivo con un sistema per la coltura su piastra lineare in microaerofilia.

MATERIALI E METODI

Ceppi utilizzati

Sono stati utilizzati 15 ceppi di *Campylobacter* isolati da campioni clinici gentilmente forniti dal Prof. Rossolini dell'Uni-

versità di Siena e un ceppo di *C. jejuni* ottenuto dalla collezione ATCC. La Tabella I riporta l'origine e l'identificazione di tutti i ceppi isolati. I controlli negativi sono rappresentati da *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* di origine ATCC.

Il sistema Linearcount aero-micro

Il Linearcount è un sistema di semina lineare prodotto dalla ditta Microbiol (Macchiareddu, CA), messo a punto da principio per la conta batterica nelle urine (Murgia *et al.*, 1997).

Il kit linearcount è costituito da una piastra di plastica trasparente con coperchio in cui sono inseriti dei pozzetti rettangolari contenenti ciascuno un terreno di coltura.

Il nuovo kit denominato Linearcount 3MA, raffigurato in Fig. 1, appositamente

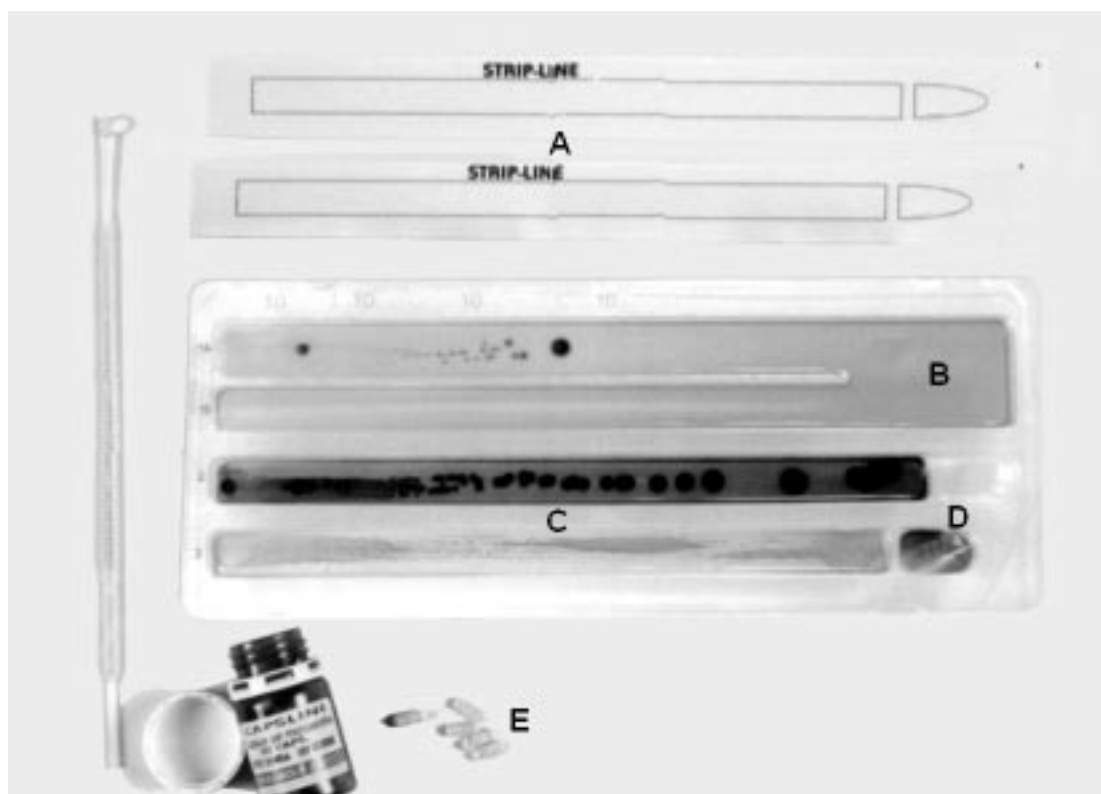
Tabella I

Identificazione e origine dei microrganismi utilizzati nello studio

Specie	Ceppo	Origine
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33291	Collezione ATCC
<i>C. jejuni</i>	20D65	Isolamento clinico
<i>C. jejuni</i>	20D70	“ “
<i>C. jejuni</i>	23B2	“ “
<i>C. jejuni</i>	23B28	“ “
<i>C. jejuni</i>	20D60	“ “
<i>C. lari</i>	20D55	“ “
<i>C. coli</i>	20D71	“ “
<i>C. coli</i>	23B11	“ “
<i>C. coli</i>	23B14	“ “
<i>C. coli</i>	23B15	“ “
<i>C. coli</i>	23B20	“ “
<i>C. coli</i>	RUBEJUI	“ “
<i>Helicobacter fennelliae</i>	20D73	“ “
<i>H. cinaedi</i>	20D56	“ “
<i>H. cinaedi</i>	20D74	“ “
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC10145	Collezione ATCC
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	“ “
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25932	“ “

Figura 1

Il sistema di coltura Linearcount 3MA. A= strisce adesive per la chiusura dei pozzetti per microaerofilia; B= pozzetto per la coltura di microrganismi aerobi; C= pozzetti per la crescita di microrganismi microaerofili; D= camera di reazione per microaerofilia, E= capsule per lo sviluppo dell'atmosfera di microaerofilia.



Un nuovo sistema integrato per l'arricchimento selettivo e la coltura su piastra di *Campylobacter*

A novel integrated system for the isolation of *Campylobacter*

realizzato per creare condizioni di microaerofilia, presenta due cellette di reazione (D), ognuna comunicante con un pozzetto lineare di semina (C), in cui viene aggiunto il reattivo sotto forma di una capsula idrosolubile (E); questa consente di creare una microcamera di incubazione con un'atmosfera di ossigeno ridotta del 5-7% e arricchita di CO₂ (circa 8-10%). Subito dopo la semina del campione, i pozzetti vengono sigillati con una striscia di plastica trasparente ed adesiva, che permette la chiusura ermetica e lo sviluppo dell'atmosfera modificata (A).

La semina nei pozzetti si realizza tramite un'ansa da 10 ml, depositando la goccia nell'estremità sinistra del pozzetto e strisciando per tutta la sua lunghezza. La lettura è possibile senza l'apertura del pozzetto e permette di incubare nuovamente la piastra fino al completo sviluppo delle colonie. Nel sistema è presente anche un pozzetto lineare doppio per la coltura e l'isolamento di eventuali microrganismi aerobi presenti nel campione (B).

Terreni e incubazione

I terreni commerciali per la coltura dei *Campylobacter* utilizzati nello studio comprendono: terreno di Skirrow, brodo Campy-thio (Blaser *et al.*, 1979), e terreno di Karmali. In aggiunta è stato sperimentato un nuovo brodo di arricchimento denominato Campy-Plus la cui formulazione è coperta da brevetto. Tutti i terreni sono stati prodotti dalla ditta Microbiol.

I terreni in piastra per *Campylobacter* dopo la semina sono stati messi a incubare a 37°C all'interno di giare ermetiche con l'utilizzo di sistemi per la generazione di gas per microaerofilia (Oxoid). Poiché Rubin & Woodard (1983) hanno riportato che la refrigerazione del brodo Campy-thio a 4° C incrementa l'isolamento di *C. jejuni*, i brodi di arricchimento per i campylobacter termofili sono stati incubati a 4, 37 e 42°C.

La crescita e la dimensione delle colonie sono state valutate tra 48 e 72 ore. La crescita in brodo è stata valutata tramite titolazione dopo 6, 24, 36, 48 e 72 ore.

Lampis et al.

Semina per arricchimento nei brodi Campy-thio e Campy Plus

In questa serie di esperimenti si è confrontata l'efficacia di un terreno di arricchimento commerciale, il Campy-thio, e di uno di nuova concezione, il Campy Plus, per la capacità di favorire la crescita di diversi ceppi di *Campylobacter* e per la selettività, intesa come capacità di inibire popolazioni di microrganismi utilizzati come controlli negativi.

Per questa ragione si sono allestite diverse sospensioni in soluzione fisiologica ad un titolo di 10^4 - 10^5 UFC/ml; una sospensione conteneva i microrganismi utilizzati come controlli negativi: *Ps. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus*; in ciascuna delle altre invece è stata stemperata una colonia di una specie diversa di *Campylobacter*. Da ciascuna sospensione sono state prelevate aliquote da 0,1 ml, che sono state inoculate in 3 provette contenenti 5 ml di brodo. Una provetta per ciascuna sospensione è stata messa a incubare a 37°C, una a 42° C e un'altra a 4 °C in atmosfera normale. Dopo 6, 24, 36, 48 e 72 ore si è provveduto a titolare i microrganismi nelle provette.

Semina e coltura dei *Campylobacter* nel Linearcount 3MA.

Per questi esperimenti si è utilizzata una partita di supporti Linearcount 3MA contenenti nei pozzetti per microaerofilia i terreni di Skirrow o di Karmali. Per confrontare la crescita nei supporti Linearcount con la crescita in piastra, gli stessi ceppi sono stati seminati anche in capsule Petri con i terreni di Skirrow e di Karmali, messi ad incubare in

giara per microaerofilia.

Da principio tutti i ceppi di *Campylobacter* sono stati fatti crescere su terreno di Skirrow in piastra per 60 ore, dopodiché si è proceduto ad allestire una sospensione in soluzione fisiologica sterile, tale da avere un titolo di circa 10^4 - 10^5 UFC/ml. La sospensione è stata seminata nei pozzetti per il Linearcount 3MA tramite un'ansa da 10 µl.

La piastra Linearcount sigillata e le altre piastre in giara sono state messe a incubare a 37°. Dopo 48-72 ore di incubazione si è verificata l'avvenuta crescita dei ceppi di *Campylobacter*, valutando il numero delle colonie cresciute e le dimensioni delle colonie isolate.

RISULTATI

Arricchimento selettivo in brodo

La crescita e l'arricchimento ottenuti sono riportati in Tabella II per il brodo Campy-thio e in Tabella III per il brodo Campy-Plus. I risultati migliori nell'inibizione dei controlli negativi per ciascun brodo sono descritti per il brodo Campy-Plus e per il brodo Campy thio nelle figure 2A e 2B, rispettivamente. I risultati migliori delle prove sulla crescita delle specie di *Campylobacter* nel brodo Campy-Plus e nel brodo Campy-thio sono invece rappresentati rispettivamente in figura 3A e 3B.

Il brodo Campy-thio determina un buon incremento nel titolo del *Campylobacter jejuni* entro 48 ore a 37°C (Fig. 3B), con un titolo che aumenta nel giro di 72 ore di 3 logaritmi, da 10^4 fino a 10^7 UFC/ml. Anche il comportamento a 42°C è simile, mentre

Tabella II

Titolazione dei microrganismi cresciuti nel brodo Campy-thio a diverse temperature di incubazione.

SPECIE	N° di UFC/ml									
	4° C				37° C			42° C		
	0 h	16 h	24 h	48 h	0 h	16 h	72 h	0 h	16 h	
<i>Ps. aeruginosa</i>	$2,5 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^6$	$\sim 1 \cdot 10^7$	ND	$2,5 \cdot 10^6$	$\sim 1 \cdot 10^7$	
<i>Staphylococcus aureus</i>	$8 \cdot 10^6$	$4,5 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^6$	$< 1 \cdot 10^4$	ND	$8 \cdot 10^6$	$< 1 \cdot 10^4$	
<i>Escherichia coli</i>	$1,6 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$	$< 1 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$	ND	$1,6 \cdot 10^6$	$< 1 \cdot 10^4$	
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC	$6,7 \cdot 10^4$	$6,7 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^2$	$6,7 \cdot 10^4$	$\sim 1 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^7$	$6,7 \cdot 10^4$	$\sim 1 \cdot 10^5$	

a 4°C il titolo batterico tende rapidamente a diminuire (Tabella II).

Nei confronti dei controlli negativi il Campy-thio non si è mostrato sufficientemente selettivo, soprattutto per quanto riguarda *Ps. aeruginosa*, il cui titolo aumentava alle temperature di 37 e 42°C, mentre a 4°C restava costante (Tabella II).

Al contrario il brodo Campy-Plus ha mo-

strato un'elevata selettività a 37°C, poiché determinava, nel giro di 24-48 ore, un decremento nel titolo dei batteri utilizzati come controlli negativi di almeno 2-3 logaritmi, fino a livelli non più rilevabili (titolo inferiore a 10 UFC/ml) (Tabella III e Fig. 2A). Nel contempo i *Campylobacter* utilizzati, appartenenti alle specie termofile, sono stati ben stimolati nella crescita, con un

Un nuovo sistema integrato per l'arricchimento selettivo e la coltura su piastra di *Campylobacter*

A novel integrated system for the isolation of *Campylobacter*

Figura 2

Rappresentazione delle curve di crescita dei controlli negativi *Ps. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus* coltivati nel brodo Campy-Plus (A) a 37°C e nel brodo Campy-thio (B) a 42°C.

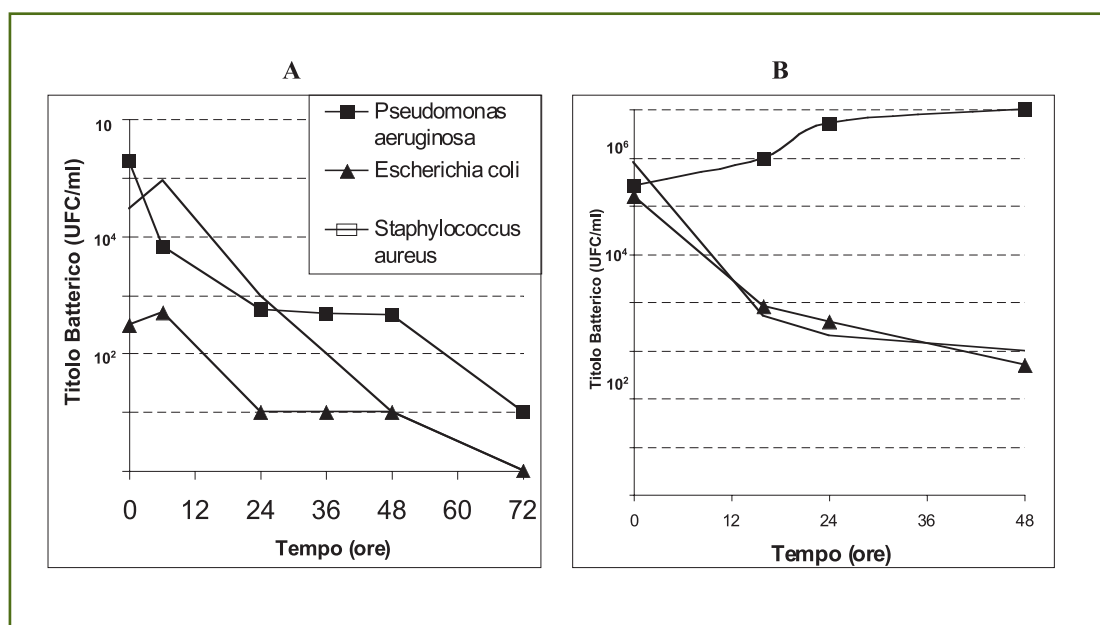
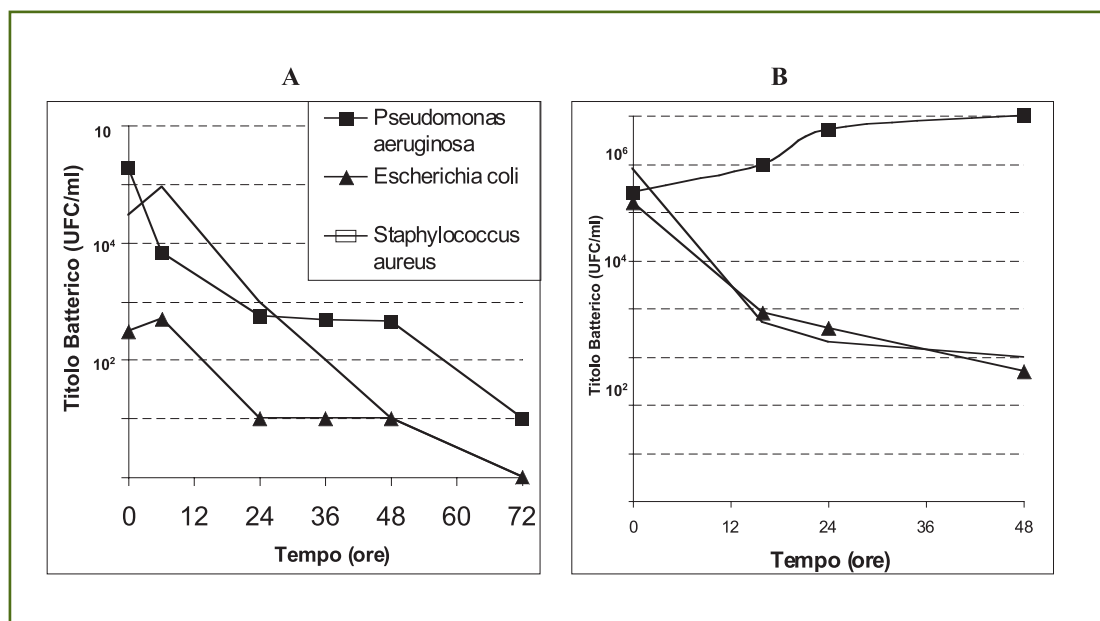


Figura 3

Curve di crescita di varie specie di *Campylobacter* nel brodo Campy-Plus (A) a 37°C e nel brodo Campy-thio (B) a 42°C.



Lampis et al.

Tabella III

Crescita dei microrganismi nel brodo di arricchimento Campy-Plus a 37°C.

Specie	N° di UFC/ml					
	0 h	6 h	24 h	36 h	48 h	72 h
<i>Ps. aeruginosa</i>	$1,9 \cdot 10^5$	$6,6 \cdot 10^3$	$5,7 \cdot 10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$3 \cdot 10^4$	$9 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	$<10^2$	$<10^2$
<i>Escherichia coli</i>	$3 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$	$<10^2$
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC	$1 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^7$	$1,3 \cdot 10^7$
<i>C. jejuni</i> 23B2	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$	$6 \cdot 10^6$	$3,8 \cdot 10^7$
<i>C. lari</i> 23B55	$1 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^6$	$2,3 \cdot 10^7$
<i>C. coli</i> 20D71	$1,2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^5$	$1,8 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^7$
<i>C. coli</i> 23B14	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$	$4,5 \cdot 10^7$

Tabella IVConfronto tra la crescita di ceppi clinici di *Campylobacter* in giara per microaerofilia e nei supporti Linearcount aero-micro.

Ceppi di <i>Campylobacter</i>	Piastrre Petri		Linearcount	
	Diametro colonie (mm)		Diametro colonie (mm)	
	Skirrow	Karmali	Skirrow	Karmali
<i>C. jejuni</i> 20D70	1	2	0,1	2
<i>C. jejuni</i> 23B28	0,5	0,5	0,2	0,2
<i>C. jejuni</i> 20D60	2	2	0,3	2
<i>C. jejuni</i> 20D65	1	2	1	1
<i>C. jejuni</i> 23B2	1	1,5	0,2	1,5
<i>C. jejuni</i> ATCC	1	0,3	1	2
<i>C. coli</i> 20D71	1	1,5	0,2	1,5
<i>C. coli</i> 23B11	0,5	1	0,1	3
<i>C. coli</i> 23B14	2	2	1	3
<i>C. coli</i> 23B20	1	2	0,2	1,5
<i>C. coli</i> 23B15	1	1	0,1	1
<i>C. coli</i> Rubejui	1	1,5	0,1	1,5
<i>C. lari</i> 20D55	1	1	1	1
<i>Helicobacter cinaedi</i> 20D74	0,5	2	1	1,5
<i>H. cinaedi</i> 20D56	0,1	1	0,1	1
<i>H. fennelliae</i> 20D73	1	2	0,3	1,5

incremento di 2-3 logaritmi in circa 48 ore, fino ad ottenere titoli di 10^6 - 10^7 UFC/ml (Fig. 3A).

Valutazione del nuovo sistema Linearcount 3MA in paragone ai sistemi convenzionali

I risultati ottenuti paragonando la crescita dei diversi ceppi di *Campylobacter* nei terreni in piastra o in Linearcount evidenziano una sostanziale omogeneità dei valori. Questo riguarda soprattutto la valutazione della crescita come numero di colonie (dati non riportati), mentre vi è una certa differenza nelle dimensioni delle colonie ottenute (Tabella IV), parametro importante perché indica in quale sistema la crescita batterica è più rapida ed efficiente.

Nella Tabella V sono riportate le medie dei valori di diametro delle colonie di varie specie di *Campylobacter* cresciute nel terreno di Karmali con i due sistemi. Non c'è alcuna differenza significativa nelle medie dei diametri quando si considerano tutte le specie di *Campylobacter* nel loro complesso, o la specie *C. jejuni* e le specie minori di *Campylobacter* (*C. lari*, *H. cinaedi*, *H. fennelliae*). Invece si riscontra una certa differenza per la specie *C. coli*, che su piastra ha un diametro medio di $1,5 \pm 0,4$ mm, mentre su Linearcount 3MA arriva a $1,9 \pm 0,9$ mm.

CONCLUSIONI

La valutazione del nuovo sistema Linearcount 3MA per microaerofilia ha dato ri-

sultati positivi con l'utilizzo di numerosi ceppi di *Campylobacter* di isolamento clinico appartenenti a 5 specie diverse e di 1 ceppo di *C. jejuni* di collezione. Tutti i parametri utilizzati, tra cui le dimensioni delle colonie e la velocità della crescita, hanno dimostrato la sostanziale equivalenza del sistema Linearcount 3MA con i sistemi colturali attualmente in uso. La crescita valutata come diametro delle colonie sembra, solo nel caso dei ceppi della specie *C. coli*, essere addirittura migliore nel sistema Linearcount rispetto ai terreni su piastra.

In confronto al sistema classico di semina su piastra e incubazione in giara per microaerofilia, questo nuovo supporto ha il vantaggio di consentire la semina contemporanea di batteri aerobi e microaerofili su pozzetti e terreni diversi. Inoltre è possibile seguire giornalmente la crescita dei *Campylobacter* sui terreni selettivi senza dover aprire la piastra, che può quindi essere incubata nuovamente. Un altro vantaggio è quello del limitato ingombro del sistema Linearcount 3MA rispetto ai sistemi in giara. Questa caratteristica assume un'importanza notevole nei piccoli laboratori, dove si dispone di spazi limitati in termostato. Nel contempo si ha un minor spreco di materiale, poiché ogni campione è processato e incubato separatamente, mentre nel caso delle giare le dimensioni dei contenitori sono standardizzate per contenere almeno 10 piastre per volta. Questo stesso sistema, con i terreni opportuni, può anche essere utilizzato, in generale, per la coltura di altri microaerofili, come Neisserie ed Emofili, oltre che di *Gard-*

Un nuovo sistema integrato per l'arricchimento selettivo e la coltura su piastra di *Campylobacter*

A novel integrated system for the isolation of *Campylobacter*

Tabella V

Valori medi e deviazione standard dei diametri delle colonie di diverse specie di *Campylobacter* cresciute in terreno Karmali. Altri *Campylobacter*: *C. lari*, *Helicobacter cinaedi*, *H. fennelliae*; *Campylobacter* spp. = media calcolata su tutte le specie di *Campylobacter*

Specie	Media diametri (mm)	
	Capsule	Petri Linearcount
<i>Campylobacter</i> spp.	$1,5 \pm 0,6$	$1,6 \pm 0,7$
<i>Campylobacter jejuni</i>	$1,4 \pm 0,8$	$1,5 \pm 0,7$
<i>C. coli</i>	$1,5 \pm 0,4$	$1,9 \pm 0,9$
Altri <i>campylobacter</i>	$1,5 \pm 0,6$	$1,3 \pm 0,3$

Lampis et al.

nerella vaginalis (dati non riportati). Per quanto riguarda i sistemi di arricchimento utilizzati, il brodo Campy-Plus si è dimostrato particolarmente efficace in confronto al terreno commerciale Campy-thio nelle condizioni migliori di incubazione. Infatti il terreno Campy-Plus ha mostrato maggior selettività nei confronti dei controlli negativi utilizzati, con eguale efficienza nel favorire lo sviluppo dei *Campylobacter*. Inoltre la temperatura di incubazione è stata mantenuta a 37°C per il Campy-Plus, con la possibilità di evitare la presenza di un incubatore a 42°C, non sempre facile da mantenere in tutti i laboratori, e la possibilità di mettere in evidenza anche i *Campylobacter* non termofili, attualmente sottovalutati proprio a causa della temperatura di incubazione.

Non tutti gli autori concordano sui vantaggi dell'uso di un brodo di arricchimento per la ricerca dei *Campylobacter* nei campioni di feci, ma la gran parte di loro convengono che può dare dei benefici, quando ci si aspetta una bassa carica microbica a causa di un campione non trasportato in modo idoneo, o perché la fase acuta della malattia è passata (Nachamkin, 1999). Inoltre l'uso di un brodo di arricchimento è particolarmente indicato per la ricerca dei *Campylobacter* nei campioni alimentari e ambientali in cui i microrganismi presenti sono sottoposti a stress e sono abitualmente in concentrazione molto bassa (Hunt *et al.*, 2001).

Il sistema integrato Linearcount 3MA ha sicuramente dimostrato la sua validità su ceppi di isolamento clinico e di collezione, e se ne propone l'uso soprattutto per piccoli laboratori o per vasti screening di campioni di feci o di alimenti.

RINGRAZIAMENTI

Il lavoro è stato finanziato con fondi PRIN 2000 e in parte dalla Fondazione Banco di Sardegna. Si ringrazia il Consorzio Biotecne e la società Ce.Co.Se.Im per la valida collaborazione.

BIBLIOGRAFIA

- Barot M.S., Bokkenheuser V.D.** Systematic investigation of enrichment media for wild-type *Campylobacter jejuni* strains. *J. Clin. Microbiol.*, 20: 77-80, 1984.
- Blaser, M. J., I. D. Berkowitz, F. M. LaForce, et al.** *Campylobacter* enteritis: clinical and epidemiological features. *Ann. Intern. Med.*, 91:179-185,1979.
- Hodge D.S., Terro R.** Comparative efficacy of enrichment medium for isolation of *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.*, 19: 434-437, 1984.
- Hunt J.M., Abeyta C., Tran T.** *Campylobacter*, *In* Bacteriological Analytical Manual Online, U.S. Food & Drug Administration (<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-7.html>), 2001.
- Murgia S., Manca C., Lampis G., Pompei R.** Linearcount: un nuovo sistema integrato per la conta e l'isolamento microbico nelle urinocolture. *Microbiol. Med.*, 12: 502-505, 1997.
- Nachamkin I.** *Campylobacter* and *Arcobacter*, *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C.Tenover and R.H. Tenover (ed.). *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology Press, Washington, D.C., 1999, p. 483-491.
- Ng L.-K., Kingombe C.I.B., Yan W., et al.** Specific detection and confirmation of *Campylobacter jejuni* by DNA hybridization and PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 4558-4563, 1997.
- Rubin S.J., Woodard M.** Enhanced isolation of *Campylobacter jejuni* by cold enrichment in Campy-thio broth. *J. Clin. Microbiol.*, 18: 1008-1010, 1983.
- Schlundt J.** Emerging food-borne pathogens. *Bio-med. Environ. Sci.*, 14: 44-52, 2001.
- Tauxe, R.V.** Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. *In* I. Nachamkin, M.J. Blaser, and L.S. Tompkins (ed.), *Campylobacter jejuni*: current status and future trends. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1992, p. 9-19.
- Vandamme P., E. Falsen, R. Rossau, et al.** Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41: 81-103, 1991