

# PRESENZA DI *ARCOBACTER* SPP. NEI FILTRI DI MUNGITURA: UN PERICOLO EMERGENTE E SIGNIFICATIVO NEGLI ALIMENTI

## ***PRESENCE OF ARCOBACTER SPP. IN IN-LINE MILK FILTERS: AN EMERGING AND SIGNIFICANT MICROBIOLOGICAL HAZARD IN FOOD***

Giacometti F., Serraino A., Florio D., Piva S., Riu R., Zanoni R.G.  
Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie – Università di Bologna

### **SUMMARY**

While a study on the presence of foodborne pathogens in in-line milk filters of Italian dairy farms authorized for production and sale of raw milk was in progress, we fortuitously detected and isolated some *Arcobacter* spp. during routine analysis for thermotolerant *Campylobacter*. This observation suggested that extraordinary and non-standardized growth conditions for detection and identification were needed to provide more information and data on this poorly known emergent zoonotic pathogen. The presence of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* in milk filters of dairy farms authorized for production and sale of raw milk poses a risk for public health and rather suggests that raw milk samples should also be examined for *Arcobacter* contamination. While the role of *Arcobacter* spp. in human disease awaits further evaluation, a precautionary approach is advisable and control measures to prevent or to eliminate the hazard of *Arcobacter* spp. in food and from the human food chain should be encouraged as well as more epidemiological studies. With this article, we review the literature of this organism in order to focus the relevant information to food safety.

### **KEYWORDS**

*Arcobacter* spp., milk filters, raw milk

### **INTRODUZIONE**

Negli ultimi anni il genere *Arcobacter* ha assunto una sempre maggiore importanza poiché i suoi membri sono stati considerati enteropatogeni emergenti e potenziali agenti zoonotici (30; 64). Questo genere fa parte della suddivisione Epsilon dei *Proteobacteria* e viene considerato un gruppo atipico in base all'ampia diversità di habitat ed ospiti (16; 75). Alcune specie di *Arcobacter* sono state isolate e/o riscontrate nelle feci di pazienti con e senza diarrea ed, occasionalmente, anche in associazione a batteriemia, endocardite e peritonite (1; 30; 42; 46; 47; 48; 61; 76). Negli animali, la presenza di *Arcobacters* è stata evidenziata sia in animali asintomatici che in casi di aborti, mastiti e disturbi gastrointestinali (19). Attualmente quattro specie

sono state isolate: *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, *Arcobacter skirrowii* e *Arcobacter nitrofigilis* (69). *A. butzleri* è la specie più importante e prevalente del genere ed è stato classificato quale grave pericolo per la salute umana dall'International Commission on Microbiological Specifications for Foods (41) e viene riportato come significativo agente zoonotico (10).

Numerosi studi sono stati effettuati e notevoli progressi sono stati compiuti sia nella classificazione tassonomica che nell'individuazione dei fattori di patogenicità di questo gruppo di microrganismi, ma, nonostante questo, l'incidenza della specie *Arcobacter* risulta sottostimata, principalmente a causa delle limitazioni degli attuali metodi di rilevamento ed identificazione.

A seguire una breve review riguardante le principali caratteristiche di *Arcobacter* spp., le pro-

babili vie di trasmissione, il potenziale ruolo di questo patogeno emergente in infezioni umane e animali e i principali riferimenti a recenti indagini effettuate su umani, alimenti ed animali.

## MICROBIOLOGIA

La famiglia *Campylobacteraceae* comprende i generi *Campylobacter*, *Arcobacter* e *Sulfurospirillum*, e insieme al genere *Helicobacter* formano un gruppo filogeneticamente distinto in base all'analisi della sequenza 16s rRNA e all'appartenenza alla classe *Epsilonproteobacteria* (67; 68). *Arcobacters* sono bastoncini Gram-negativi, asporigeni, generalmente di 0,2-0,9µ di larghezza e 0,5-3µ di lunghezza, a forma di S, mobili con un unico flagello polare in una o in entrambe le estremità della cellula; sono catalasi ed ossidasi positivi e ureasi negativi (68). Una crescita ottimale si verifica in condizioni di microaerofilia (3-10% O<sub>2</sub>) ma gli *Arcobacters* sono in grado di crescere in condizioni sia aerobiche che anaerobiche e in un ampio intervallo di temperature (da 15°C a 42°C), caratteristiche peculiari per la differenziazione dai *Campylobacter* spp.

## ARCOBACTER NELL'UOMO

Di tutti gli *Arcobacter* spp. solamente *A. butzleri* e *A. cryaerophilus* sono stati associati ad infezioni umane. Sebbene il ruolo di *Arcobacter* spp. nelle malattie umane non sia stato pienamente dimostrato, in numerose occasioni l'isolamento di *A. butzleri* e *A. cryaerophilus* è stato associato a patologie del tratto gastrointestinale, sia in studi di popolazione che in casi clinici, come ad esempio in feci di pazienti che presentavano diarrea acuta e cronica. *A. butzleri* risulta il quarto più comune organismo simil-*Campylobacter* isolato in pazienti con diarrea (1; 42; 46; 47; 61; 68) e recentemente è stato considerato l'agente eziologico delle cosiddette "diarree del viaggiatore" (42). Il principale sintomo associato alla presenza di *A. butzleri* risulta essere una persistente diarrea acquosa, in contrasto con una diarrea emorragica riscontrata nei casi di infezione da *Campylobacter jejuni*, mentre il resto delle manifestazioni cliniche sono molto simili (70). Ad esempio, in un focolaio di *A. butzleri* in una scuola Italiana, 10 bambini sono stati colpiti e l'infezione è risultata talmente grave da richiedere il ricovero ospedaliero di 3 bambini; il sintomo principale è stata la presenza di crampi addominali ricorrenti in assenza di diarrea (69). La prevalenza di *Arcobacter* spp. in campioni di feci diarroiche umane varia da 0.1% a 2.4% utilizzando metodi colturali mentre da 1.2% a 12.9% utilizzando la PCR. L'isolamento di *Arcobacter* spp. da feci di perso-

ne sane è stato riportato solo in pochi studi come pure occasionali sono stati i casi riportati di batteriemia attribuibili a *A. butzleri* e *A. cryaerophilus* (37; 61; 70).

Inoltre *Arcobacter* spp. è stato implicato in rari casi di malattie invasive extraintestinali; Yan et al. (2000) (77) hanno riportato l'isolamento di *Arcobacter* spp. in un fegato cirrotico di un uomo di 60 anni che presentava febbre alta e Lau et al. (2002) (48) hanno isolato *A. butzleri* da una donna di 69 anni con appendicite acuta gangrenosa.

## ARCOBACTER NEGLI ANIMALI

*Arcobacter* spp. è stato frequentemente isolato nel tratto intestinale e nelle feci di numerose specie di animali d'allevamento, ma sembra capace di causare malattia solo in alcuni di essi (30). Nello specifico, può essere presente nel tratto digestivo di animali da allevamento apparentemente sani, senza causare alcun segno clinico di malattia (40), oppure può essere causa di aborti, mastiti e diarree (50; 69).

La prevalenza di *Arcobacter* spp. varia da specie a specie e da paese a paese, ma in generale gli *Arcobacter* si trovano più frequentemente nei polli, seguiti da suini e infine dai bovini. Alcuni autori ritengono i polli in particolare ma anche i suini importanti ospiti e serbatoi per *Arcobacter* spp. (31; 39).

*A. butzleri* risulta prevalentemente associato ad enterite e diarrea nei suini, bovini e cavalli mentre *A. skirrowii* a diarrea e colite emorragica negli ovini e bovini (33; 69). *A. cryaerophilus* risulta essere la specie prevalentemente associata ad aborto negli animali, mentre *A. butzleri* e *A. skirrowii* sono meno frequenti (18). Nonostante *Arcobacter* spp. siano stati più volte associati ad aborto nel bovino (21; 55), questi patogeni sono stati isolati anche nel liquido di risciacquo di prepuzi di bovini sani (27) o in tamponi vaginali di vacche che non presentavano alcun problema riproduttivo (44).

La presenza di *Arcobacter* spp. è stata ben documentata anche in numerosi campioni di feci provenienti da animali sani, quali bovini (44; 57; 20), suini (40; 44; 19), polli (44), ovini ed equidi (19). L'eliminazione fecale di *Arcobacter* spp. nei volatili, quali polli, anatre, tacchini e oche domestiche (5; 6; 7; 38) è stata studiata e, dal momento che nessuna associazione con qualsiasi forma di malattia è stata segnalata in questi animali, i volatili sono stati considerati naturale reservoir per gli *Arcobacters*.

Van Driessche et al. (2003) (19) hanno validato una procedura di isolamento, precedentemente messa a punto per l'isolamento di *Arcobacter* spp. nei polli, applicandola anche ad altri animali da allevamento; in Belgio, lo stesso proto-

collo è stato utilizzato in campioni fecali al momento della macellazione e *Arcobacter* spp. sono stati isolati nel 44% dei suini, 40% dei bovini, 16% degli ovini e 15% degli equini considerati nello studio. Kabeya et al. (2003) (44) hanno esaminato la distribuzione di *Arcobacter* spp. negli allevamenti in Giappone; *Arcobacter* spp. sono stati isolati in 3,6% e 10% dei campioni fecali rispettivamente di bovini e suini, e in 14,5% di tamponi cloacali nei polli. *A. butzleri* è risultato essere la specie maggiormente presente seguito da *A. cryaerophilus*.

Pochi studi in letteratura si sono focalizzati sulla prevalenza di *Arcobacter* spp. nei bovini da latte e i valori risultano piuttosto variabili da studio a studio. Vilar et al. (2010) (72) hanno considerato la presenza di *Arcobacter* spp. nelle aziende da latte in Spagna e il 68,5% degli allevamenti e 41,7% dei campioni fecali analizzati sono risultati positivi, individuando *A. cryaerophilus* come la specie maggiormente presente. In una indagine negli Stati Uniti, Wesley et al. (2000) (74) hanno rilevato la presenza di *Arcobacter* spp. nel 71% delle aziende considerate e nel 14,3% di singoli campioni di feci di bovini da latte. Un'altra indagine effettuata negli Stati Uniti ha rilevato che il 18% dei bovini da latte (n = 50) presentavano *Arcobacter* spp. nelle feci (28). La presenza di *Arcobacter* spp. in campioni fecali di tre aziende completamente indipendenti di bovini da latte è stata studiata da Driessche et al. (2005) (20) che hanno riportato una prevalenza variabile tra il 7,5% e il 15%; l'escrezione di *Arcobacter* nelle feci variava da 0 a 10<sup>4</sup> UFC/g e *A. cryaerophilus* è risultato la specie dominante. In precedenza, sempre Driessche et al. (2003) (19), hanno isolato *Arcobacter* spp. nel 10% delle feci bovine analizzate tramite isolamento diretto e nel 39,2% dei campioni dopo una fase di arricchimento; *A. butzleri* è stato isolato in 13 campioni, *A. cryaerophilus* in 5 e *A. skirrowii* in 2. Aydin et al. (2007) (3) hanno analizzato la presenza di *Arcobacter* in tamponi rettali di bovini in Turchia e hanno osservato una prevalenza di *Arcobacter* spp. pari al 6,9%, di cui *A. butzleri* (4%), *A. skirrowii* (2,9%) e *A. cryaerophilus* (0,5%).

## FATTORI DI PATOGENICITA'

I meccanismi di patogenicità e virulenza di *Arcobacter* spp. risultano tuttora poco chiari nonostante numerosi lavori abbiano studiato la loro capacità di adesione (9; 29; 32; 37; 54; 70), invasività (24; 32; 54; 70) e citotossicità (24; 32; 54; 70) in differenti linee cellulari. Tali studi hanno messo in luce come ceppi di *Arcobacter* spp. abbiano la capacità di produrre citotossicità, adesione, invasione ed infiammazione causando la produzione di interleuchina-8 (IL-8).

La capacità di determinare l'espressione di tale molecola viene considerata il principale fattore di virulenza di *H. pylori* e *Campylobacter* spp. ed è stata riportata anche per *A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii* e *A. cibarius*. Il meccanismo con il quale *A. butzleri* determina diarrea è stato studiato infettando cellule epiteliali di colon nell'uomo (HT-29/B6); i risultati indicano che il processo viene mediato da una riduzione nell'espressione di claudina-1, -5 e 8 nelle tight junctions con la conseguente disfunzione della barriera epiteliale e il concomitante aumento nel trasporto paracellulare che porta ad una perdita di flusso simile alla diarrea (8). Lo stesso meccanismo è stato descritto quale fattore di virulenza per il *C. jejuni* (11).

## ARCOBACTER NEGLI ALIMENTI

A causa della mancanza di un metodo standardizzato per l'isolamento di *Arcobacter* spp. che permetta di comparare i dati ottenuti in campo, la reale presenza di questo potenziale patogeno negli alimenti è in gran parte sconosciuta o sottostimata.

La maggior parte degli studi sulla prevalenza degli *Arcobacter* negli alimenti sono riferibili alla carne avicola, che presenta la più alta prevalenza seguita dalla carne suina, carne bovina ed infine dal latte crudo (13; 15; 31). *A. butzleri* è risultata la specie più diffusa, seguita da *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii* (49; 17; 34; 60; 45; 57; 53; 13; 58; 63).

In uno studio in Giappone il 23% dei campioni di carne avicola, il 7% di maiale e il 2,2% di carne bovina provenienti da negozi al dettaglio sono risultati positivi rispettivamente per *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* e *A. skirrowii* (45). Una maggiore prevalenza è stata osservata in Australia, dove le positività hanno raggiunto valori pari al 73% per i campioni di carne avicola, 29% della carne suina e 22% di carne bovina. *A. butzleri* è stato trovato da Rivas et al. (2004) (60) nel 15% dei campioni di carne di agnello analizzati. Questa sintesi non comprende numerosi studi effettuati su carcasse, visceri o pelle, dove peraltro gli *Arcobacters* risultano essere abbondanti. (4; 6; 35; 25; 62). Si ritiene che la contaminazione da parte di *Arcobacter* spp. dei prodotti a base di carne si verifichi durante la macellazione, probabilmente in seguito a contaminazione delle carcasse da parte delle feci degli animali contaminati (3).

I frutti di mare rappresentano un'altra potenziale fonte di infezione, anche se gli studi attualmente disponibili non sono numerosi (25; 51); ad esempio, in uno studio che ha analizzato 84 campioni di molluschi e crostacei (gamberi, cozze, vongole e ostriche), il 100% delle vongole e il 41,1% dei campioni di mitili è risultato con-

taminato da *Arcobacter* spp. (14). Proprio nei mitili sono stati isolate due nuove specie, *A. mytili* e *A. molluscorum* (14; 26). La presenza di *Arcobacter* spp. in tali prodotti potrebbe essere di notevole importanza per la salute pubblica visto che i prodotti a base di pesce vengono tradizionalmente consumati crudi o comunque poco cotti.

Infine, anche la prevalenza di *Arcobacter* spp. nel latte crudo è stata studiata; Pianta et al. (2007) (59) hanno osservato una prevalenza di *Arcobacter* spp. pari al 3,2% in Brasile e pari al 46% in Irlanda del Nord, come mostrato da Scullion et al. (2006) (63). In un altro studio, Ertas et al. (2010) (22) hanno osservato che il 6% dei campioni analizzati di latte crudo, ottenuto da vacche sane in Turchia, presentavano *Arcobacter* spp. Logan et al. (1982) (50) hanno descritto l'isolamento di *Arcobacter* spp. nel latte crudo di una vacca con mammella contaminata; in tale studio, quattro vacche sono state in seguito sperimentalmente infettate tramite inoculazione intramammaria con il ceppo isolato dal focolaio stesso, e tutte hanno sviluppato un mastite clinica acuta che si è risolta spontaneamente in 5 giorni. Un altro isolato recuperato dal latte di una vacca mastitica è stato inserito tra i ceppi utilizzati per descrivere le specie di *A. cryaerophilus* (55).

Inoltre, numerosi studi hanno messo in correlazione la presenza di *Arcobacter* spp. nel latte crudo con una non adeguata condizione igienica dell'allevamento, delle fonti di acqua e dell'alimentazione degli animali (57; 63). In accordo con questa considerazione, Collado et al. (2008) (12), hanno osservato che *Arcobacter* spp. vengono più frequentemente isolati nei campioni che presentano alti livelli di contaminazione fecale.

In un recente studio, Teague et al. (2010) (66), hanno dimostrato che *Arcobacter* è presente non solo nei prodotti alimentari crudi ma anche nei pasti venduti nei ristoranti popolari a Bangkok, con una maggiore prevalenza rispetto agli altri enteropatogeni comuni, come ad esempio *Salmonella* e *Campylobacter*; in tale studio è stato valutato il rischio di esposizione per ogni singolo pasto consumato (13%) e nel caso di 10 o più pasti (superiore al 75%).

## ANTIBIOTICO-RESISTENZA

La maggior parte dei casi di enterite e batteriemia connessi con la presenza di *Arcobacter* spp. sembrano essere auto-limitanti e non richiedono un trattamento antimicrobico, proprio come accade per *Campylobacter* spp. (37). Tuttavia, la gravità o il prolungamento dei sintomi può giustificare l'uso di una terapia antibiotica. A differenza dei test di sensibilità agli antibioti-

ci attualmente presenti per *Campylobacter* spp., quelli per *Arcobacter* spp. non sono ancora stati standardizzati (77) e pochi studi sono stati effettuati, utilizzando inoltre metodi assai diversi tra loro, come ad esempio l'Estest, la diluizione in agar, l'agar diffusione su disco, o metodi microdiluizione in brodo (23; 37; 45; 56; 65; 71). I risultati dimostrano che molti ceppi di *A. butzleri* sono resistenti alla clindamicina, azitromicina, ciprofloxacina, metronidazolo, carbenicillina e cefoperazone (37; 56; 65; 66). I fluorochinoloni e le tetracicline sono stati suggeriti per il trattamento delle infezioni umane e animali da *Arcobacter* spp. (65; 71) dal momento che presentano una buona efficacia verso ceppi di diverse origini (23; 71). Tuttavia sono stati rilevati ceppi resistenti ad acido nalidixico e ciprofloxacina (2; 56; 66). Finora è stato dimostrato che due ceppi di *A. butzleri* e un ceppo di *A. cryaerophilus*, che erano resistenti alla ciprofloxacina (con MIC da 6 a 12 mg-1), hanno evidenziato una mutazione nella regione di determinazione di resistenza ai chinoloni del gene *gyrA* (2), che potrebbe essere presente anche in altri ceppi. D'altra parte, il ceppo *A. butzleri* (RM4018) da cui è stato sequenziato il genoma completo, presentava una elevata resistenza agli antibiotici associati alla presenza o assenza di specifici geni che regolano la sensibilità agli antibiotici (52). A questo proposito, la presenza del gene *cat*, che codifica una cloramfenicolo O-acetiltransferasi, era connessa con la resistenza al cloramfenicolo, e tre geni putativi  $\beta$ -lattamasi o dell'operone *lrgAB* sono stati considerati associati con la resistenza  $\beta$ -lattamici, e l'assenza di *upp* gene, che codifica fosforibosiltransferasi uracile, è stata associata con la resistenza di 5-fluorouracile (52). Da notare comunque che pochi studi di sensibilità agli antibiotici sono stati effettuati con ceppi di *Arcobacter* isolati da casi clinici, sia umani che animali e che quindi, in assenza di uno specifico trattamento, il trattamento stesso risulta essere empirico. Questa osservazione assume un ruolo particolare in caso di batteriemia di neonati, dove l'efficacia della terapia data viene considerata fortuita in base alla resistenza multipla agli antibiotici evidenziata dal ceppo isolato di *A. butzleri*. Alcuni autori inoltre suggeriscono che le infezioni causate da *Arcobacter* spp. probabilmente richiedano un trattamento diverso da quello applicato alle infezioni prodotte dalle comuni specie di *Campylobacter* (71). Pertanto, vi è la necessità di eseguire questi test al fine di stabilire il trattamento più appropriato in ciascun caso specifico.

## CONCLUSIONI

Nonostante un considerevole ammontare di in-

formazioni siano state accumulate di recente, la complessiva conoscenza di *Arcobacter* spp. rimane scarsa e sono necessarie ulteriori indagini relative all'epidemiologia di questo microrganismo.

Uno dei principali problemi per l'isolamento di *Arcobacter* spp. è che le condizioni di crescita ottimali per questo patogeno, e cioè l'incubazione del brodo di arricchimento a 30°C, non vengono generalmente applicate ai campioni clinici che vengono analizzati nella routine. Inoltre, persino i *Campylobacters* non-*Campylobacter jejuni* o *coli* e altri microrganismi correlati vengono raramente identificati a livello di specie (70). Pertanto, è consigliabile, durante indagini di ricerca clinica, utilizzare un ulteriore supporto di coltura che possa essere incubato a 37°C o 30°C al fine di poter valutare la reale diffusione di *Arcobacter* spp.

Negli umani, gli *Arcobacters* sono stati associati a batteriemia e diarrea, mentre negli animali hanno dato luogo a casi di diarrea, aborti e mastiti. Il consumo di acqua e prodotti alimentari contaminati da *Arcobacter* spp., in particolare carni bianche e rosse, latte e crostacei, rivela- si spesso contaminati da *Arcobacters*, viene considerato la principale via di trasmissione di *Arcobacter* spp., anche se non è ancora stata dimostrata dall'identificazione dello stesso ceppo che ha causato la malattia anche nel campione di cibo o di acqua considerato veicolo (15).

Risulta quindi di peculiare importanza effettuare ulteriori attività di sorveglianza sui prodotti alimentari, sul consumo e/o manipolazione di alimenti di origine animale contaminati, soprattutto se consumati crudi o poco cotti (15).

Nello specifico, riteniamo che la presenza di *Arcobacter* spp. nei filtri dell'impianto di mungitura di aziende autorizzate alla produzione e vendita di latte crudo in Italia possa rappresentare un pericolo per i consumatori di tale prodotto, dal momento che numerosi *Arcobacter* spp. potrebbero ragionevolmente essere presenti anche nel latte crudo e in minima parte anche nei prodotti a base di latte crudo.

In conclusione, anche se una definitiva associazione tra *Arcobacter* spp. e malattie umane trasmesse da alimenti non è ancora stata stabilita, una forte preoccupazione per la salute pubblica è stata sollevata nei confronti di questo patogeno emergente, considerato l'elevato rischio di esposizione umana a questi patogeni.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abdelbaqi K., Buissonnière A, Prouzet-Mauleon V. et al. (2007a). Development of a real-time fluorescence resonance energy transfer PCR to detect *Arcobacter* species. *J. Clin. Microbiol.*, 45: 3015-3021.
2. Abdelbaqi K., Ménard A., Prouzet-Mauleon V. et al. (2007b). Nucleotide sequence of the *gyrA* gene of *Arcobacter* species and characterization of human ciprofloxacin-resistant clinical isolates. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 49: 337-345.
3. Aydin F., Gumussoy K.S., Atabay H.I., Ica T. and Abay S. (2007) Prevalence and distribution of *Arcobacter* species in various sources in Turkey and molecular analysis of isolated strains by ERIC-PCR. *J. Appl. Microbiol.*, 103: 27-35.
4. Andersen M.M., Wesley I.V., Nestor E. and Trampel D.W. (2007). Prevalence of *Arcobacter* species in market-weight commercial turkeys. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 92: 309-317.
5. Atabay H.I. and Corry J.E. (1997). The prevalence of *Campylobacters* and *Arcobacters* in broiler chickens. *J. Appl. Microbiol.*, 83: 619-626.
6. Atabay H.I., Waino M. and Madsen M. (2006). Detection and diversity of various *Arcobacter* species in Danish poultry. *Int. J. Food Microbiol.*, 109: 139-145.
7. Atabay H.I., Unver A., Sahinb M. et al. (2008). Isolation of various *Arcobacter* species from domestic geese (*Anser anser*). *Vet. Microbiol.*, 128: 400-405.
8. Bucker R., Troeger H., Kleer J. et al. (2009). *A. butzleri* induces barrier dysfunction in intestinal HT-29/B6 cells. *J. Infect. Dis.*, 200:756-764.
9. Carbone M., Maugeri T.L., Giannone M. et al. (2003). Adherence of environmental *A. butzleri* and *Vibrio* spp. isolates to epithelial cells in vitro. *Food Microbiol.*, 20: 611-616.
10. Cardoen S., Van Huffel X., Berkvens D. et al. (2009). Evidence-based semiquantitative methodology for prioritization of foodborne zoonoses. *Foodborne Pathog. Dis.*, 6:1083-1096.
11. Chen M.L., Ge Z., Fox J.G. et al. (2006). Disruption of tight junctions and induction of proinflammatory cytokine responses in colonic epithelial cells by *Campylobacter jejuni*. *Infect. Immun.*, 74: 6581-6589.
12. Collado L. Inza I., Guarro J. and Figueras M.J. (2008). Presence of *Arcobacter* spp. in environmental waters correlates with high levels of faecal pollution. *Environ. Microbiol.*, 10: 1635-1640.
13. Collado L., Guarro J. and Figueras M.J. (2009a). Prevalence of *Arcobacter* in meat and shellfish. *J. Food Prot.*, 72: 1102-1106.
14. Collado, L., Cleenwerck I., Van Trappen S., De Vos P. and Figueras M.J. (2009b). *Arcobacter mytili* sp. nov., an indoxyl acetate-hydrolysis-negative bacterium isolated from

- mussels. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59: 1391-1396.
15. Collado L. and Figueras M.J. (2011). Taxonomy, epidemiology and clinical relevance of the genus *Arcobacter*. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1): 174-192.
  16. Debruyne L., Gevers D. and Vandamme P. (2008). Taxonomy of the family Campylobacteraceae. p. 3-25. In I. Nachamkin, C. Szymanski, and M. Blaser, *Campylobacter*, 3rd ed., ASM Press, Washington, DC.
  17. de Boer E., Tilburg J.J., Woodward D.L., Lior H. and Johnson W.M. (1996). A selective medium for the isolation of *Arcobacter* from meats. *Let. Appl. Microbiol.*, 23: 64-66.
  18. de Oliveira S.J., Baetz A.L., Wesley I.V. and Harmon K.M. (1997). Classification of *Arcobacter* species isolated from aborted pig fetuses and sows with reproductive problems in Brazil. *Vet. Microbiol.*, 57: 347-354.
  19. Driessche E.V., Houf K., Hoof J.V. et al. (2003). Isolation of *Arcobacter* species from animal faeces. *FEMS Microbiology Letters*, 229: 243-248.
  20. Driessche E.V., Houf K., Vangroenweghe F. et al. (2005). Prevalence, enumeration and strain of *Arcobacter* species in faeces of healthy cattle in Belgium. *Vet. Microbiol.*, 105: 149-154.
  21. Ellis W.A., Neill S.D., O'Brien J.J., Ferguson H.W. and Hanna J. (1977). Isolation of Spirillum/Vibrio-like organisms from bovine fetuses. *Vet. Rec.*, 100: 451-452.
  22. Ertas N., Dogruer Y., Gonulalan Z., Guner A. and Ulger I. (2010). Prevalence of *Arcobacter* species in drinking water, spring water, and raw milk as determined by multiplex PCR. *J Food Protection*, 73(11): 2099-2102.
  23. Fera M.T. Maugeri T.L., Giannoneaba M. et al. (2003). In vitro susceptibility of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* to different antimicrobial agents. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 21: 488-491.
  24. Fernández H., Eller G., Paillacar J. et al. (1995). Toxigenic and invasive capacities: possible pathogenic mechanisms in *A. Cryaerophilus*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 90: 633-634.
  25. Fernández H., Otth L., Wilson M. et al. (2001). Occurrence of *Arcobacter* spp. in river water, mussels and commercial chicken livers in southern Chile. *Int. J. Med. Microbiol.*, 291:140.
  26. Figueras, M. J., Collado L., Levican A. et al. (2011). *Arcobacter molluscorum* sp. nov., new species isolated from shellfish. *Systematic and Applied Microbiology*, 34: 105-109.
  27. Gill K.P. (1983). Aerotolerant *Campylobacter* strain isolated from a bovine preputial sheath washing. *Vet. Rec.*, 112: 459.
  28. Golla S.C., Murano E.A., Johnson L.G., Tipton N.C., Cureington E.A. and Savell J.W. (2002). Determination of the occurrence of *Arcobacter butzleri* in beef and dairy cattle from Texas by various isolation methods. *J Food Protection*, 65: 1849-1853.
  29. Gugliandolo C., Irrera G.P., Lentini V. et al. (2008). Pathogenic *Vibrio*, *Aeromonas* and *Arcobacter* spp. associated with copepods in the Straits of Messina (Italy). *Mar. Pollut. Bull.*, 56: 600-606.
  30. Ho H.T., Lipman L.J. and Gaastra W. (2006a). *Arcobacter*, what is known and unknown about a potential foodborne zoonotic agent! *Vet. Microbiol.*, 115:1-13.
  31. Ho T.K., Lipman L.J., van der Graaf-van Bloois L., van Bergen M. and Gaastra W. (2006b). Potential routes of acquisition of *Arcobacter* species by piglets. *Vet. Microbiol.* 114:123-133.
  32. Ho H.T., Lipman L.J., Hendriks H.G. et al (2007). Interaction of *Arcobacter* spp. with human and porcine intestinal epithelial cells. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 50: 51-58.
  33. Ho H. T., Lipman L.J., and Gaastra W. (2008). The introduction of *Arcobacter* spp. in poultry slaughterhouses. *Int. J. Food Microbiol.*, 125:223-229.
  34. Houf K., Devriese L.A., De Zutter L., Van Hoof J. and Vandamme P. (2001). Development of a new protocol for the isolation and quantification of *Arcobacter* species from poultry products. *Int. J. Food Microbiol.*, 71:189-196.
  35. Houf, K., De Zutter L., Van Hoof J. and Vandamme P. (2002). Assessment of the genetic diversity among arcobacters isolated from poultry products by using two PCR-based typing methods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68: 2172-2178.
  36. Houf K., Devriese L.A., Haesebrouck F. et al. (2004). Antimicrobial susceptibility patterns of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* strains isolated from humans and broilers. *Microb. Drug Resist.*, 10: 243-247.
  37. Houf K. and Stephan R. (2007). Isolation and characterization of the emerging foodborne pathogen *Arcobacter* from human stool. *J. Microbiol. Methods.*, 68: 408-413.
  38. Houf K., On S.L.W, Coenye T. et al. (2009). *Arcobacter thereius* sp. nov., isolated from pigs and ducks. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59: 2599-2604.

39. Houf K. 2010. *Arcobacter*. In Molecular detection of foodborne pathogens, p. 289-305. D. Liu ed., CRC Press, Boca Raton, FL.
40. Hume M.E., Harvey R.B., Stanker L.H., Droleskey R.E., Poole T.L. and Zhang H.B. (2001). Genotypic variation among *Arcobacter* isolates from a farrow-to-finish swine facility. *J. Food Prot.*, 64: 645-651.
41. ICMSF. Microorganisms in foods. (2002). Microbiological testing in food safety management. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Kluwer Academic/Plenum, New York, NY.
42. Jiang Z.D., DuPont H.L., Brown E.L. et al. (2010). Microbial etiology of travelers' diarrhea in Mexico, Guatemala and India importance of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* and *Arcobacter* species. *J. Clin. Microbiol.*, 48: 1417-1419.
43. Johnson L.G. and Murano A. (2002). Lack of cytolethal distending toxin among *Arcobacter* isolates from various sources. *J. Food Prot.*, 65: 1789-1795.
44. Kabeya S., Maruyama, Morita Y., Kubo M., Yamamoto K., Arai S., Izumi T., Kobayashi Y., Katsube Y. and Mikami T. (2003). Distribution of *Arcobacter* species among livestock in Japan. *Vet. Microbiol.*, 93:153-158.
45. Kabeya H., Maruyama S., Morita Y., Ohsuga T., Ozawa S., Kobayashi Y., Abe M., Katsube Y. and Mikami T. (2004). Prevalence of *Arcobacter* species in retail meats and antimicrobial susceptibility of the isolates in Japan. *Int. J. Food Microbiol.*, 90: 303-308.
46. Kopilovic B., Ucakar V., Koren N., Krek M. and Kraigher A. (2008). Waterborne outbreak of acute gastroenteritis in a coastal area in Slovenia in June and July 2008. *Euro-surveillance*, 13:1-3.
47. Kownhar H., Shankar E.M., Rajan R., Vengatesan A. and Rao U.A. (2007). Prevalence of *Campylobacter jejuni* and enteric bacterial pathogens among hospitalized HIV infected versus non-HIV infected patients with diarrhoea in southern India. *Scand. J. Infect. Dis.*, 39: 862-866.
48. Lau S.K., Woo P.C., Teng J.L., Leung K.W. and Yuen K.Y. (2002). Identification by 16S ribosomal RNA gene sequencing of *Arcobacter butzleri* bacteraemia in a patient with acute gangrenous appendicitis. *Mol. Pathol.*, 55:182-185.
49. Lehner A., Tasara T. and Stephan R. (2005). Relevant aspects of *Arcobacter* spp. as potential foodborne pathogen. *Int. J. Food Microbiol.*, 102: 127-135.
50. Logan, E.F., Neill S.D. and Mackie D.P. (1982). Mastitis in dairy cows associated with an aerotolerant *Campylobacter*. *Vet. Rec.*, 110: 229-230.
51. Maugeri T.L., Gugliandolo C., Carbone M., Caccamo D. and Fera M.T. (2000). Isolation of *Arcobacter* spp. from a brackish environment. *New Microbiol.*, 23:143-149.
52. Miller W.G., Parker C.T., Rubenfield M. et al. (2007). The complete genome sequence and analysis of the Epsilonproteobacterium *Arcobacter butzleri*. *PLoS One*, 2e: 1358.
53. Morita Y., Maruyama S., Kabeya H., Boonmar S., Nimsuphan B., Nagai A., Kozawa K., Nakajima T., Mikami T. and Kimura H. (2004). Isolation and phylogenetic analysis of *Arcobacter* spp. in ground chicken meat and environmental water in Japan and Thailand. *Microbiol. Immunol.*, 48: 527-533.
54. Musumanno R.A., Russi M., Lior H. et al. (1997). In vitro virulence factors of *A. butzleri* strains isolated from superficial water samples. *New Microbiol.*, 20: 63-68.
55. Neill S.D., Campbell J.N., O'Brien J.J., Weatherup I.S.T.C. and Ellis W.A. (1985). Taxonomic position of *Campylobacter cryaerophila* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 35: 342-356.
56. On S.L., Stacey A. and Smyth J. (1995). Isolation of *Arcobacter butzleri* from a neonate with bacteraemia. *J. Infect.*, 31: 225-227.
57. Ongor H., Cetinkaya B., Acik M.N. and Atabay H.I. (2004). Investigation of *Arcobacters* in meat and faecal samples of clinically healthy cattle in Turkey. *Lett. Appl. Microbiol.*, 38: 339-344.
58. Pentimalli D., Pegels N., Garcia T., Martin R. and González I. (2009). Specific PCR detection of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus*, *Arcobacter skirrowii*, and *Arcobacter cibarius* in chicken meat. *J. Food Prot.*, 72: 1491-1495.
59. Pianta C., Passos D.T., Hepp D. et al. (2007). Isolation of *Arcobacter* spp. From the milk dairy cows in Brazil. *Cienc. Rural Santa Maria*, 37: 171-174.
60. Rivas L., Fegan N. and Vanderlinde P. (2004). Isolation and characterisation of *Arcobacter butzleri* from meat. *Int. J. Food Microbiol.*, 91: 31-41.
61. Samie A., Obi C.L., Barrett L.J., Powell S.M. and Guerrant R.L. (2007). 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.*, 54: 558-566.
62. Scullion R., Harrington C.S. and Madden R.H. (2004). A comparison of three methods for the isolation of *Arcobacter* spp. from re-

- tail raw poultry in Northern Ireland. *J. Food Prot.*, 67: 799-804.
63. Scullion R., Harrington C.S. and Madden R.H. (2006). Prevalence of *Arcobacter* spp. in raw milk and retail raw meats in Northern Ireland. *J. Food Prot.*, 69(8): 1986-1990.
64. Snelling W.J., Matsuda M., Moore J.E., and Dooley J.S. (2006). Under the microscope: *Arcobacter*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 42:7-14.
65. Son I., Englen M.D., Berrang M.E., Fedorka-Cray P.J. and Harrison M.A. (2007). Antimicrobial resistance of *Arcobacter* and *Campylobacter* from broiler carcasses. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 29:451-455.
66. Teague N.S. Srijan A., Wongstitwilairoong B. et al. (2010). Enteric pathogen sampling of tourist restaurants in Bangkok, Thailand. *J. Travel Med.*, 17:118-123.
67. Vandamme P. and De Ley, J. (1991a). Proposal for a new family *Campylobacteraceae*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41: 451-455.
68. Vandamme P., Falsen E., Roussau R. et al. (1991b). Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41:88-103.
69. Vandamme P., Vancanneyt M., Pot B. et al. (1992). Outbreak of recurrent abdominal cramps associated with *Arcobacter butzleri* in an Italian school. *J. Clin. Microbiol.* 30: 2335-2337.
70. Vandenberg O., Dediste A., Houf K. et al. (2004). *Arcobacter* species in humans. *Emerg. Infect. Dis.*, 10:1863-1867.
71. Vandenberg O., Houf K., Douat N. et al. (2006). Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of non-jejuni/coli campylobacters and arcobacters from Belgium. *J. Antimicrob. Chemother.* 57: 908-913.
72. Vilar M.J., Pena F.J., Pérez I., Dièguez F.J., Sanjuàn M.L., Rodríguez-Otero J.L. and Yus E. (2010). Presence of *Listeria*, *Arcobacter* and *Campylobacter* spp. in dairy farms in Spain. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 123(1-2): 58-62.
73. Villarruel-Lopez A., Márquez-González M., Garay-Martínez L.E. et al. (2003) Isolation of *Arcobacter* spp. from retail meats and cytotoxic effects of isolates against Vero cells. *J. Food Prot.*, 66: 1374-1378.
74. Wesley I.V. Wells S.J. Harmon K.M. et al. (2000). Fecal shedding of *Campylobacter* and *Arcobacter* spp. in dairy cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5): 1994-2000.
75. Wesley I.V. and Miller G.W. (2010). *Arcobacter*: an opportunistic human food-borne pathogen? p. 185-211. In W. M. Scheld, M. L. Grayson, and J. M. Hughes, (ed.), *Emerging infections 9*. ASM Press, Washington, DC.
76. Woo P.C., Chong K.T., Leung K., Que T. and Yuen K. (2001). Identification of *Arcobacter cryaerophilus* isolated from a traffic accident victim with bacteremia by 16S ribosomal RNA gene sequencing. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 40:125-127.
77. Yan J.J., Huang A.H., Chen H.M. et al. (2000). *Arcobacter butzleri* bacteremia in a patient with liver cirrhosis. *J. Formos. Med. Assoc.*, 99:166-169.