



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA
DE CEPAS DE *Campylobacter jejuni* Y *Campylobacter coli* AISLADAS DE
DEYECCIONES DE AVES, CARNES DE POLLOS BROILER Y
PACIENTES HUMANOS

MARÍA DE LOS ANGELES GATICA EGUIGUREN

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal

PROFESORA GUÍA: LISETTE LAPIERRE ACEVEDO
Proyecto FONDECYT 11110200

SANTIAGO, CHILE

2013



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA
DE CEPAS DE *Campylobacter jejuni* Y *Campylobacter coli* AISLADAS DE
DEYECCIONES DE AVES, CARNES DE POLLOS BROILER Y
PACIENTES HUMANOS

MARÍA DE LOS ANGELES GÁTICA EGUIGUREN

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina
Preventiva Animal

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESORA GUÍA : LISETTE LAPIERRE A.
PROFESOR CORRECTOR: DANIELA IRAGÜEN C.
PROFESOR CORRECTOR: PATRICIO RETAMAL M.

SANTIAGO, CHILE
2013

A todos los que de una u otra forma me ayudaron a finalizar esta etapa, en especial a mi familia, Andrés Lazo y Lisette Lapierre quien ha sido una gran guía en mi desarrollo profesional.

RESUMEN

El desarrollo de la resistencia a los antibióticos por parte de patógenos bacterianos es un significativo problema de salud pública a nivel mundial. Al respecto, para agentes zoonóticos como *Campylobacter spp.*, este es un problema emergente de importante magnitud, existiendo en las últimas décadas un incremento en la resistencia a antibióticos de la familia de las fluoroquinolonas y macrólidos, fármacos utilizados para el tratamiento de campylobacteriosis en humanos. El uso indiscriminado de antibióticos en producción animal, se describe como una de las principales causas de este fenómeno. En Chile, existen muy pocos estudios sobre la susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Campylobacter spp.* aisladas de distintos orígenes. El objetivo de este trabajo fue evaluar la susceptibilidad a los antibióticos en 40 cepas provenientes de pacientes humanos, 40 cepas aisladas de carnes de pollos Broiler y 40 cepas aisladas de deyecciones de aves. Los antibióticos analizados fueron ciprofloxacino, tetraciclina, eritromicina y gentamicina. Se utilizaron dos métodos, un *screening* con la técnica de Etest y todas aquellas cepas que resultaron resistentes, fueron sometidas a dilución en agar mediante la técnica de concentración mínima inhibitoria. Del total de cepas estudiadas (120) se encontraron 59 cepas resistentes a ciprofloxacino, 35 a tetraciclina, 20 a eritromicina y 4 a gentamicina; mientras que 41 cepas fueron multiresistentes. De acuerdo a estudios realizados anteriormente en nuestro país, los niveles de resistencia de *Campylobacter spp.* a los antimicrobianos analizados han aumentado, lo que demuestra la importancia de establecer un sistema de vigilancia en Chile, el cual posea un enfoque integrado entre Medicina Veterinaria, alimentos y Medicina Humana, con el fin de resguardar la salud de la población.

Palabras claves: *Campylobacter spp.*, sensibilidad antimicrobiana, aves, humanos.

SUMMARY

The development of antibiotic resistance by bacterial pathogens is a worldwide public health problem. In this regard, in relevant zoonotic agents such as *Campylobacter spp.*, this is an important and emerging issue, that in recent decades there has been a relevant increase in resistance to antibiotics of the fluoroquinolone and macrolide family, drugs used to treat campylobacteriosis in humans. It is described as the main cause of this phenomenon, the indiscriminate use of antibiotics in animal production. In Chile, there are very few reports on the antimicrobial susceptibility of *Campylobacter*

spp. strains isolated from different sources. The aim of this study was to evaluate the susceptibility to antibiotics of 40 strains from human patients, 40 strains of Broiler chicken meat and 40 strains of poultry droppings, which were tested for sensitivity to ciprofloxacin, tetracycline, erythromycin and gentamicin. Two methods were used, a screening with Etest and all those that were resistant, were undergo to agar dilution by minimum inhibitory concentration. Of the strains studied in total 120; 59 were strains resistant to ciprofloxacin, 35 to tetracycline, 20 to erythromycin and 4 to gentamicin; and 41 strains were multiresistant. According to previous studies in Chile, resistance levels of *Campylobacter spp.* have increased, demonstrating the importance of surveillance in the country, which has an integrated approach to veterinary medicine, food and human medicine, in order to safeguard the health of the population.

Keywords: *Campylobacter spp.*, antimicrobial susceptibility, birds, humans.

INTRODUCCIÓN

La infección causada por *Campylobacter spp.* es una zoonosis denominada campylobacteriosis. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la enfermedad se puede presentar como un trastorno gastrointestinal leve o como una colitis recidivante o fulminante (OMS, 2011). De acuerdo a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), la transmisión desde los animales al humano se debe principalmente a la manipulación y consumo de alimentos de origen animal, aunque el contacto directo también es considerado una fuente de infección. Las especies de *Campylobacter* aisladas con mayor frecuencia en casos de gastroenteritis en humanos en todo el mundo son *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, las cuales son parte de la microbiota normal en la mayoría de mamíferos y aves (OIE, 2008).

El principal reservorio de *Campylobacter spp.*, son las aves de corral (García *et al*, 2009). En los últimos años, el consumo de carne de pollo y sus subproductos han sido responsables de un alto número de casos de campylobacteriosis en la población humana a nivel mundial, siendo los niños, ancianos e inmunodeprimidos los más afectados (Silva *et al*, 2011).

Por lo general, la campylobacteriosis es una infección autolimitada y los antibióticos son utilizados sólo en casos prolongados y/o de mayor severidad. Los fármacos de elección son los macrólidos (eritromicina), fluoroquinolonas (ciprofloxacino) y tetraciclinas, siendo la gentamicina la única droga alternativa utilizada en pacientes críticos (García *et al*, 2009).

A inicios de los años noventa, en Europa, se comenzó a observar un aumento en el número de cepas de *Campylobacter spp.* resistentes a fluoroquinolonas. Un estudio realizado en España en cepas de *Campylobacter spp.* aisladas desde pacientes pediátricos, dio a conocer una alta tasa de resistencia a estos antimicrobianos (61,7% para ofloxacino y 37% para moxifloxacino). Por otro lado, durante el 2007, una investigación realizada en Tailandia reveló un valor de resistencia cercano al 100% a ciprofloxacino por parte de *C. jejuni* de origen animal (Rivera *et al*, 2007). En Chile, si bien los porcentajes de resistencia son menores, se ha observado un preocupante aumento de ellos en los últimos años (Rivera *et al*, 2007, García *et al*, 2009).

Por otra parte, la tasa de resistencia de *Campylobacter spp.* frente a macrólidos, aunque más lentamente, también ha ido en aumento. Un estudio realizado en

pacientes con campylobacteriosis de distintas partes del mundo, señala que más de dos tercios de las cepas de *C. coli* presentaban resistencia a estos antibióticos, mientras que las de *C. jejuni* no superaban el 10% (Vlieghe *et al*, 2008).

Diversas investigaciones indican que el uso indiscriminado de antibióticos en la producción animal, puede llevar a la aparición y diseminación de la resistencia a antibióticos por parte de *Campylobacter spp.*, y estas contaminar los alimentos de origen animal y el medioambiente. Esta situación, se sugiere como la principal causa del incremento de la resistencia a antimicrobianos en cepas aisladas desde el hombre (Orden y de la Fuente, 2001).

Por todas estas razones, la resistencia a los antibióticos que ha desarrollado *Campylobacter spp.*, tanto en cepas aisladas desde humanos como desde animales, es un hecho de preocupación a nivel mundial. Este ha sido descrito por diversos investigadores y definido como un problema importante de salud pública por parte de la OMS (Silva *et al*, 2011).

De acuerdo a los antecedentes señalados, la hipótesis que sustenta esta memoria de título postula que las cepas de *C. jejuni* y *C. coli* aisladas de pacientes humanos, carnes de pollos Broiler y deyecciones de aves presentan los mismos perfiles de resistencia frente a los antibióticos analizados. Para verificar esta hipótesis, nuestro objetivo fue establecer y comparar los perfiles de resistencia de *C. jejuni* y *C. coli* aisladas de las distintas fuentes frente a los antimicrobianos utilizados como tratamiento de la campylobacteriosis.

MATERIALES Y MÉTODOS.

1.- Aislamiento de las cepas. Durante el año 2012 se realizó el aislamiento de un total de 120 cepas de *C. coli* y *C. jejuni*, de las cuales 40 se aislaron desde deyecciones de aves, 40 desde carnes de pollos Broiler y 40 desde heces de pacientes humanos. Las cepas de deyecciones de pollos fueron recolectadas desde distintas plantas faenadoras de la Región Metropolitana de Chile. Las cepas de alimentos fueron obtenidas de distintos supermercados de la Ciudad de Santiago, siendo analizadas solo aquellas listas para la venta y que se conservaran refrigeradas. Las cepas de origen humano fueron donadas por el Laboratorio de Enfermedades

Emergentes y Zoonóticas del Instituto de Salud Pública (ISP) de Chile. Las cepas provenientes de deyecciones de aves fueron aisladas en el laboratorio de Enteropatógenos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile; las cepas obtenidas de carnes de pollos Broiler se aislaron en el Laboratorio de Alimentos del Instituto de Salud Pública de Chile.

Todas las cepas fueron sometidas a análisis de sensibilidad mediante el método de Etest. Posteriormente, las cepas clasificadas como resistentes fueron analizadas por el método de dilución en agar mediante concentración mínima inhibitoria (CMI). Los antibióticos utilizados en ambos casos fueron: ciprofloxacino, tetraciclina, eritromicina y gentamicina.

2.- Método de Etest. Desde la placa de cultivo, se tomaron algunas colonias y se prepararon los inóculos en suero fisiológico estéril a una densidad estándar de 0,5 Mc Farland ($1-2 \times 10^8$ UFC/ml). Estos inóculos fueron sembrados con tórula estéril en la superficie de placas de agar Mueller Hinton+5% de Sangre, para luego aplicar las tiras antibióticas de ciprofloxacino, tetraciclina, eritromicina y gentamicina (Biomérieux®), sobre cada placa. Posteriormente, las placas fueron incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas en ambiente de microaerofilia (jarra de anaerobiosis con generador de microaerofilia). Finalizada la incubación, se realizó la lectura de los resultados, registrándose la concentración a la cual fue inhibido el crecimiento bacteriano para cada antibiótico, clasificando cada cepa como sensible o resistente de acuerdo a los puntos de corte entregados por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008). Las cepas una vez analizadas fueron guardadas en sangre de cordero desfibrinada a -80°C para su conservación.

3.- Método de dilución en agar. Se realizó una solución madre de cada uno de los antibióticos a utilizar (Cyprofloxacin hydrochloride Dr. Ehrenstorfer®, Tetraciclina SIGMA-ALDRICH®, Gentamycin 2,5 sulfate hydrate Dr. Ehrenstorfer® y Eritromicina SIGMA-ALDRICH®), utilizando los solventes y diluyentes recomendados por el CLSI, 2008. Para la preparación del medio, se realizaron las concentraciones de los antimicrobianos (soluciones stock) requeridas para el procedimiento de acuerdo a las recomendaciones del CLSI, 2008 (Tabla 1). Las distintas diluciones se mezclaron con agar Mueller Hinton y sangre de cordero desfibrinada, para luego ser vertidos en una placa petri estéril. Una vez solidificadas, las placas fueron mantenidas en refrigeración hasta su uso. Las cepas a analizar fueron cultivadas y se prepararon los inóculos a

una concentración de 0,5 Mc Farland, los cuales fueron sembrados en las placas preparadas mediante un inoculador de Steers. Las placas sembradas fueron incubadas a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 horas en ambiente de microaerofilia. Al término de la incubación se realizó la lectura de los resultados de acuerdo a los puntos de corte entregados por el CLSI, 2008.

Cepas control. Como cepas control para ambos métodos se utilizó la ATCC *Campylobacter jejuni* 33560. Los puntos de corte utilizados para la cepa control en los métodos de Etest y dilución en agar, son los descritos por el CLSI, 2008 (Tabla 2).

4.- Análisis estadístico. Con los datos obtenidos se realizó un análisis de los perfiles de resistencia de cada una de las cepas agrupadas de acuerdo a su origen (pacientes humanos, deyecciones de aves, carnes de pollos Broiler). Los resultados fueron clasificados como sensibles y resistentes. A los primeros se les otorgó el valor 0 y a los segundos el valor 1. Los datos fueron analizados mediante una técnica jerárquica aglomerativa, usando el método de la media (*average linkage*), expresándose en un dendograma, para lo cual se usó el software estadístico Infostat (Di Rienzo *et al*, 2011).

RESULTADOS

De las 40 cepas aisladas desde pacientes humanos, 12 aislados (30%) correspondieron a *C. coli* y 28 (70%) a *C. jejuni*; de las cepas aisladas de carnes de pollos Broiler, 30 (75%) fueron *C. coli* y 10 (25%) *C. jejuni*; mientras que de las cepas aisladas de deyecciones de aves, 14 (35%) correspondieron a *C. coli* y 26 (65%) a *C. jejuni*.

De acuerdo a los análisis de susceptibilidad realizados en los tres grupos de cepas, el antibiótico que presentó los mayores porcentajes de resistencia fue ciprofloxacino. La tetraciclina, también alcanzó altos niveles de resistencia en los tres grupos analizados. Si bien en todos los grupos estudiados se observaron cepas resistentes a eritromicina, el de mayor importancia fue el proveniente de carnes de pollos Broiler. Todas las cepas con resistencia a gentamicina fueron provenientes de carnes de pollos Broiler (Tabla 3).

En los tres grupos de muestras analizadas, la especie *C. coli* fue la que presentó el mayor número de cepas resistentes a los antibióticos probados (Tabla 3).

Las cepas aisladas desde carnes de pollo Broiler fueron las que presentaron el mayor porcentaje de multiresistencia, seguido de las aisladas desde pacientes humanos. Las cepas multiresistentes fueron en su mayoría de la especie *C. coli* (Tabla 4). Los perfiles de multiresistencia se señalan en la Tabla 5.

Dos cepas provenientes de pacientes humanos no pudieron ser analizadas mediante el método de dilución en agar debido a que no hubo sobrevida luego de su proceso de congelación. Lo mismo ocurrió con dos cepas de carnes de pollos Broiler y una de deyecciones de aves. En estos casos se consideraron los valores de resistencia entregados por el método Etest.

En el dendograma se observa la formación de ocho grandes grupos, cada uno con un perfil de resistencia independiente del resto. Cada grupo se encuentra compuesto por cepas con las mismas características fenotípicas de resistencia a los antibióticos estudiados. En solo cuatro de ellos se observan cepas provenientes de humanos, carnes de pollos Broiler y deyecciones de aves y dos de ellos se encuentran compuestos por cepas únicamente de origen animal (Figura 1).

DISCUSIÓN

La campylobacteriosis es una de las enfermedades zoonóticas más notificadas en los sistemas de vigilancia. En los países desarrollados, *C. jejuni* es considerado como el primer agente causal de diarrea en el ser humano, y el segundo o tercero en las naciones en vías de desarrollo (Rivera *et al*, 2007). En el caso de Chile, *Campylobacter spp.*, según un estudio realizado hace aproximadamente 20 años en las ciudades de Concepción, Valparaíso y Santiago, es una de las principales causas de diarrea en niños menores de dos años (García *et al*, 2009). De acuerdo a los datos entregados por el ISP de Chile, el número de casos notificados de campylobacteriosis en humanos ha ido en aumento, para el año 2008 hubo 65 casos confirmados, mientras que para el año 2012 esta cifra se elevó a 137, datos que revelan la importancia nacional que ha adquirido esta enfermedad en los últimos años (datos no publicados).

En Chile, en 1996 ya habían sido detectadas las primeras cepas de *Campylobacter spp.* resistentes a fluoroquinolonas (Fernández *et al*, 1996). A pesar de esto, otro estudio efectuado entre los años 1996 y 1997 en el sur de Chile, reportó un 100% de susceptibilidad a ciprofloxacino (García *et al*, 2009). La misma situación fue descrita en la ciudad de Valdivia durante el año 2000 en cepas aisladas de pacientes humanos. Si bien los niveles de resistencia pueden variar de acuerdo a la región analizada, investigaciones más recientes han dado a conocer un 32,4% de resistencia a ciprofloxacino en muestras de heces humanas (Rivera *et al*, 2007).

De acuerdo a los datos obtenidos en este estudio, estos porcentajes continúan aumentando de manera considerable, hecho que se ve respaldado por los reportes anuales entregados por el ISP de Chile, en donde se indica que desde el año 2008 hasta el año 2012 los niveles de resistencia a ciprofloxacino y tetraciclina se han acrecentado (datos no publicados). Respecto de la eritromicina, también se ha presentado una alarmante alza en sus niveles de resistencia en cepas de *Campylobacter spp.*, ya que para el año 2009 existía un 0% de resistencia (García *et al*, 2009), aumentando solo a un 1% durante el 2011, mientras que, de acuerdo a los datos entregados por el ISP de Chile (antecedentes no publicados), un año más tarde esto aumentó a un 15%. Debido a que la eritromicina es en la actualidad el antimicrobiano de elección en el tratamiento de la campylobacteriosis, este hecho es de gran preocupación por los efectos que puede provocar en la salud de los pacientes. Estos datos nos demuestran que existe un consistente aumento de la resistencia en las cepas de *Campylobacter spp.* aisladas desde pacientes humanos en Chile, hecho que también se observa a nivel mundial (Silva *et al*, 2011).

Tanto estudios internacionales (García-Campos *et al*, 2003 y Zhao *et al*, 2010) como nacionales (García *et al*, 2009 y Rivera *et al*, 2007) señalan que el grupo de antimicrobianos frente al cual se ha presentado el mayor desarrollo de resistencia por parte de *Campylobacter spp.*, ha sido el de las fluoroquinolonas, lo que concuerda con los resultados de este estudio. Posiblemente esto ha sucedido debido a que, este antimicrobiano es uno de los que se ha utilizado por mayor tiempo en la producción animal y se conoce que bajo presión selectiva la aparición de cepas mutantes resistentes a las fluoroquinolonas por sobre otras, son muy frecuentes. Incluso se han encontrado mutantes de *Campylobacter spp.* en deyecciones de aves a las 24 horas después del inicio del tratamiento con estas drogas (Luangtongkum *et al*, 2009).

A diferencia de lo que ocurre en el caso del ciprofloxacino, en la familia de los macrólidos, el desarrollo de resistencia por parte de *Campylobacter spp.* requiere de una serie de mutaciones, además de una exposición prolongada al antibiótico, por ende, la aparición de cepas resistentes a eritromicina es mucho menos frecuente. Por otra parte, también se ha visto que en un ambiente sin presión selectiva, las cepas resistentes a fluoroquinolonas mantienen ese fenotipo por mucho tiempo, mientras que en el caso de los macrólidos, este desaparece rápidamente (Luangtongkum *et al*, 2009). Lo anterior podría ser una explicación a las diferencias en los niveles de resistencia frente a ciprofloxacino y eritromicina.

A diferencia de los demás antibióticos analizados, la aparición de resistencia a los aminoglucósidos por parte de *Campylobacter spp.*, ha sido prácticamente nula. En este estudio solo cuatro cepas de carnes de pollos Broiler fueron resistentes a la gentamicina, hecho no aislado, ya que otras investigaciones también han dado a conocer la aparición de cepas de *C. coli* en aves de corral resistente a este antimicrobiano (Marinou *et al*, 2012). La gentamicina es la única de las drogas analizadas en este estudio que no es utilizada en producción aviar, a pesar de esto, existen cepas resistentes. Una posible explicación es el uso de otros antibióticos pertenecientes a la misma familia, como estreptomina o neomicina, lo que podría favorecer la selección de cepas con resistencia cruzada. Respecto a lo anterior, más investigaciones deberían ser realizadas para dilucidar esta situación.

En relación a los perfiles de multiresistencia, se ha visto que aquellas cepas de *C. jejuni* y *C. coli* resistentes a macrólidos, por lo general también lo son a las fluoroquinolonas y a otros grupos de antimicrobianos, lo que deja muy pocas alternativas de tratamientos para la campylobacteriosis en humanos (Lehtopolku *et al*, 2010). En este estudio se pudo observar que la resistencia a eritromicina estaba presente en tres de los cuatro perfiles de multiresistencia generados en todos los grupos de cepas de analizadas (Tabla 5).

Por otra parte, en esta investigación se observó que las cepas de *C. coli* aisladas, independiente de su origen, presentaron mayores niveles de resistencia que las de *C. jejuni*, ya sea a uno o más de los antimicrobianos analizados. Similares resultados se han observado en otras investigaciones, las razones aún no están esclarecidas, pero se ha descrito que las cepas de *C. coli* aisladas de aves de corral y otros animales,

parecen tener una mayor resistencia a múltiples antibióticos como macrólidos y fluoroquinolonas (Silva *et al*, 2011).

Al igual que en publicaciones de otros autores, en nuestro estudio se observó una buena concordancia entre el método de dilución en agar y difusión en agar Etest (Ge *et al*, 2002). Sin embargo, hubo determinados casos, en los tres grupos de cepas analizados, en que los resultados entre ambas técnicas no coincidieron, considerándose en dichas situaciones los resultados otorgados por el Etest. En general, la difusión que realizan las cepas sobre el medio del método de dilución en agar resulta engorrosa de observar, lo que podría incurrir en errores de lectura. Si bien el uso de Etest no ha sido estandarizado, se ha señalado que cualquiera de los dos métodos pueden ser usados indistintamente para la obtención de resultados precisos en bacterias fastidiosas como es el caso de *Campylobacter* spp. (Rennie *et al*, 2012).

Si bien la presión selectiva ejercida por el uso de antibióticos es una de las principales causas de la emergencia y diseminación de la resistencia a estos mismos, otro de los factores más relevantes son los genes de resistencia transferibles por vía horizontal (Witte, 1999). Los tres mecanismos de transferencia horizontal: transformación, conjugación o transducción, han sido descritos en *Campylobacter* spp. Un ejemplo de lo anterior son los múltiples plasmidios, con genes de resistencia (especialmente a tetraciclinas y/o aminoglucósidos), que han sido reportados en *Campylobacter* spp., algunos de los cuales pueden ser transmitidos por conjugación (Luangtongkum *et al*, 2009). La importancia de la transmisión horizontal de genes de resistencia en *Campylobacter* spp. es un hecho que se debe considerar, ya que puede contribuir de manera importante al incremento y propagación de la resistencia a los antibióticos.

Debido a los elevados niveles de resistencia que ha desarrollado *Campylobacter* spp. frente a las fluoroquinolonas, es que el año 2005, la *Food and Drug Administration* (FDA) retiró el permiso para el uso de esta clase de antibióticos en aves de corral en los Estados Unidos de América. Gracias a esta medida, los niveles de resistencia a ciprofloxacino se han mantenido estables o con variaciones muy bajas en dicho país. El extensivo uso de antibióticos en la producción animal, parece ser uno de los principales factores en el aumento de la resistencia en patógenos como *Campylobacter* spp., también se ha reconocido como una de las causas más relevantes del incremento de la resistencia a antimicrobianos en el hombre (Orden y

de la Fuente, 2001). Los primeros aislados de cepas de humanos resistentes a las fluoroquinolonas ocurrieron a inicios de los años 90 en países Asiáticos y Europeos, lo cual coincidió con el inicio del uso de estos fármacos en animales de producción en los mismos países (Allos, 2001). Por otra parte, Chile también ha considerado que el uso inadecuado de antibióticos como promotores del crecimiento, tanto en la industria ganadera, avícola como acuícola, ha tenido un alto impacto en la proliferación en el animal y en la liberación al ambiente de bacterias resistentes con claro potencial zoonótico (Wolff, 2004).

Al analizar los datos obtenidos en este estudio por medio de la construcción de un dendograma, se observa que las cepas de origen humano y animal no presentan los mismos perfiles de resistencia, con lo cual la hipótesis planteada en esta investigación es rechazada.

Respecto de los perfiles de multiresistencia observados, estos se encuentran conformados principalmente por cepas aisladas de carnes de pollos Broiler, lo cual indica que estas podrían ser transferidas a los seres humanos por medio de la cadena alimenticia. Ante esto, también cabe recalcar que en este trabajo investigativo, los niveles de resistencia a ciprofloxacino alcanzados en cepas aisladas de humanos superan a aquellos obtenidos por las cepas de origen animal. A partir de lo anterior, para conocer si las cepas que enferman pacientes humanos son todas de origen aviar, específicamente pollos Broiler más estudios deben realizarse, con especial énfasis en investigaciones de relaciones de clonalidad.

Todos estos resultados indican la necesidad de realizar más investigaciones, ya sea por medio de estudios genéticos u otros, los cuales indaguen de manera más detallada sobre el origen de estas alzas en cepas de *Campylobacter spp.*, tomando en consideración otros factores epidemiológicos como, el consumo de otras carnes de origen animal, la contaminación de verduras con purines, como también el uso indebido de antibióticos en la medicina humana, que por medio de la presión selectiva consigue un alza en los niveles de resistencia de innumerables bacterias, ya que el consumo de carnes y productos provenientes de aves de producción es solo uno de ellos.

Por otra parte, debido a que *Campylobacter spp.* es una bacteria fastidiosa de difícil cultivo, en Chile no se realiza su búsqueda rutinaria en servicios asistenciales, y en el

caso de los alimentos, no se encuentra como patógeno para ser detectado en el Reglamento Sanitario de los Alimentos, lo que resulta en una subvaloración de su importancia epidemiológica (García et al, 2009). Se cree que la tasa de infección real podría ser entre 7,6 y 100 veces mayor a la que se estima (Hartnett *et al*, 2009), por lo que los casos conocidos podrían estar subestimados.

Los datos obtenidos en el presente estudio indican que en nuestro país existen cepas de *Campylobacter spp.*, aislados desde humanos, alimentos de origen animal y aves, resistentes a los antibióticos, lo que evidencia la necesidad de instaurar programas sistemáticos de vigilancia de la resistencia en este patógeno, tanto en Medicina Humana como en cepas aisladas de alimentos y animales, lo anterior, con el fin de resguardar la salud pública y la inocuidad de los alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

ALLOS, B. M. 2001. *Campylobacter jejuni* infections: Update on emerging issues and trends. [en línea]. <<http://cid.oxfordjournals.org/content/32/8/1201.full.pdf+html>> [consulta: 12-8-13]

CLSI. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. 2008. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard. 3^a ed. CLSI. Wayne, PA. Document M31-A3.

GE, B.; BODEIS, S.; WALKER, R.; WHITE, D.; ZHAO, S.; McDERMOTT, P.; MENG, J. 2002. Comparison of the Etest and agar dilution for *in vitro* antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter*. JAC. 50: 487-494.

DI RIENZO J.A.; CASANOVES F.; BALZARINI M.G.; GONZALEZ L.; TABLADA M.; ROBLEDO C.W. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

FERNÁNDEZ, H.; MARTIN, R.; THIBAUT, J. 1996. *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* resistentes a fluoroquinolonas en animales domésticos. Arch Med Vet. 28(1): 151-4.

GARCÍA-CAMPOS, J.A.; ALARCÓN, T.; DOMINGO, D.; MENÉNDEZ-RIVAS, M.; LÓPEZ-BREA, M. 2003. Sensibilidad de *Campylobacter jejuni* a ocho antibióticos en cepas aisladas de muestras clínicas de niños. Rev Esp Quimioterap. 16(2): 216-220.

GARCÍA, P.; VALENZUELA, N.; RODRIGUEZ, M.; LEÓN, E.; FRENÁNDEZ, H. 2009. Susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* aislado de coprocultivos en Santiago de Chile. Rev Chil Infect. 26(6): 511-514.

HARTNETT, E.; FAZIL, A.; PAOLI, G.; NAUTA, M.; CHRISTENSEN, B.; ROSENQUIST, H.; ANDERSON, S. 2009. Evaluación de riesgos de *Campylobacter spp.* en pollos para asar. [en línea]. <http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/MRA11_Sp.pdf>. [consulta: 10-11-12]

LEHTOPOLKU, M.; NAKARI, U.; KOTILAINEN, P.; HUOVINEN, P.; SIITONEN, A.; HAKANEN, A. 2010. Antimicrobial Susceptibilities of Multidrug-Resistant

Campylobacter jejuni and *Campylobacter coli* Strains: *In Vitro* Activities of 20 Antimicrobial Agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 54(3): 1232-1236.

LUANGTONGKUM, T.; JEON, B.; HAN, J.; PLUMMER, P.; LOGUE, C.; ZHANG, Q. 2009. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. [en línea]. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2691575/>> [consulta: 3-6-13]

MARINOU, I.; BERSIMIS, S.; IOANNIDIS, A.; NICOLAOU, C.; MITROUSSIA-ZIOUVA, A.; LEGAKIS, N.J.; CAHTZIPANAGIOTOU, S. 2012. Identification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* species isolated from animal sources. [en línea]. <http://www.frontiersin.org/Food_Microbiology/10.3389/fmicb.2012.00058/abstract> [consulta: 3-11-12]

OIE. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. 2008. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter Coli*. [en línea]. <http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.09.03.%20campilobacter%20ejuni.pdf> [consulta: 10-11-12]

OMS. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2011. *Campylobacter*. [en línea]. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/es/index.html>>. [consulta: 8-11-12]

ORDEN, J.; DE LA FUENTE, R. 2001. Repercusiones en la salud pública de la resistencia a quinolonas en bacterias de origen animal. *Rev Esp Salud Pública.* 75(4):3

RENNIE, R.P.; TURNBULL, L.; BROSNIKOFF, C.; CLOKE, J. 2012. First comprehensive evaluation on the M.I.C. evaluator device compared to Etest and CLSI reference dilution methods for antimicrobial susceptibility testing of clinical strains of anaerobes and other fastidious bacterial species. [en línea]. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3318539/>> [consulta: 10-10-12]

RIVERA, N.; FERNÁNDEZ, H.; BUSTOS, R.; VALENZUELA, M.; TRABAL, N.; MONTENEGRO, S.; CASTILLO, J.; PALMA, C.; PINCHEIRA, E.; CONTRERAS, A., CHÁVEZ, D. 2007. Susceptibilidad antimicrobiana de cepeas de *Campylobacter* aisladas de carcasas de aves y heces humanas. *Revlab.* 1(2): 32-37.

- SILVA, J.; LEITE, D.; FERNANDES, M.; MENA, C.; GIBBS, P.; TEIXEIRA, P.** 2011. *Campylobacter spp.* as a foodborne pathogen: a review. [en línea]. Front microbiol. 2(200):1-12. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3180643/>> [consulta: 5-11-12]
- VLIEGHE, E.; JACOBS, J.; VAN ESBROEVK, M.; KOOLE, O.; VAN GOMPEL, A.** 2008. Trends of norfloxacin and erythromycin resistance of *Campylobacter jejuni/Campylobacter coli* isolates recovered from international travelers, 1994 to 2006. <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1708-8305.2008.00236.x/full>>. [consulta: 29-11-12]
- WITTE, W.** 1999. Uso de antibióticos en la producción animal y desarrollo de la resistencia en las infecciones humanas. Enf Infec y Microbiol. 19 (2): 83-86.
- WOLFF, M.** 2004. Uso y abuso de antibióticos. Momento de su evaluación, más allá del ser humano. [en línea]. Rev Méd Chile. 132(8): 909-911. <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872004000800001&script=sci_arttext>
- ZHAO, S.; YOUNG, S.R.; TONG, E.; ABBOTT, J.W.; WOMACK, N.; FRIEDMAN, S.L.; McDERMOTT, P.F.** 2010. Antimicrobial resistance of *campylobacter* isolates from retail meat in the united states between 2002 and 2007. Appl Environ Microbiol. 76(24): 7949-7956.

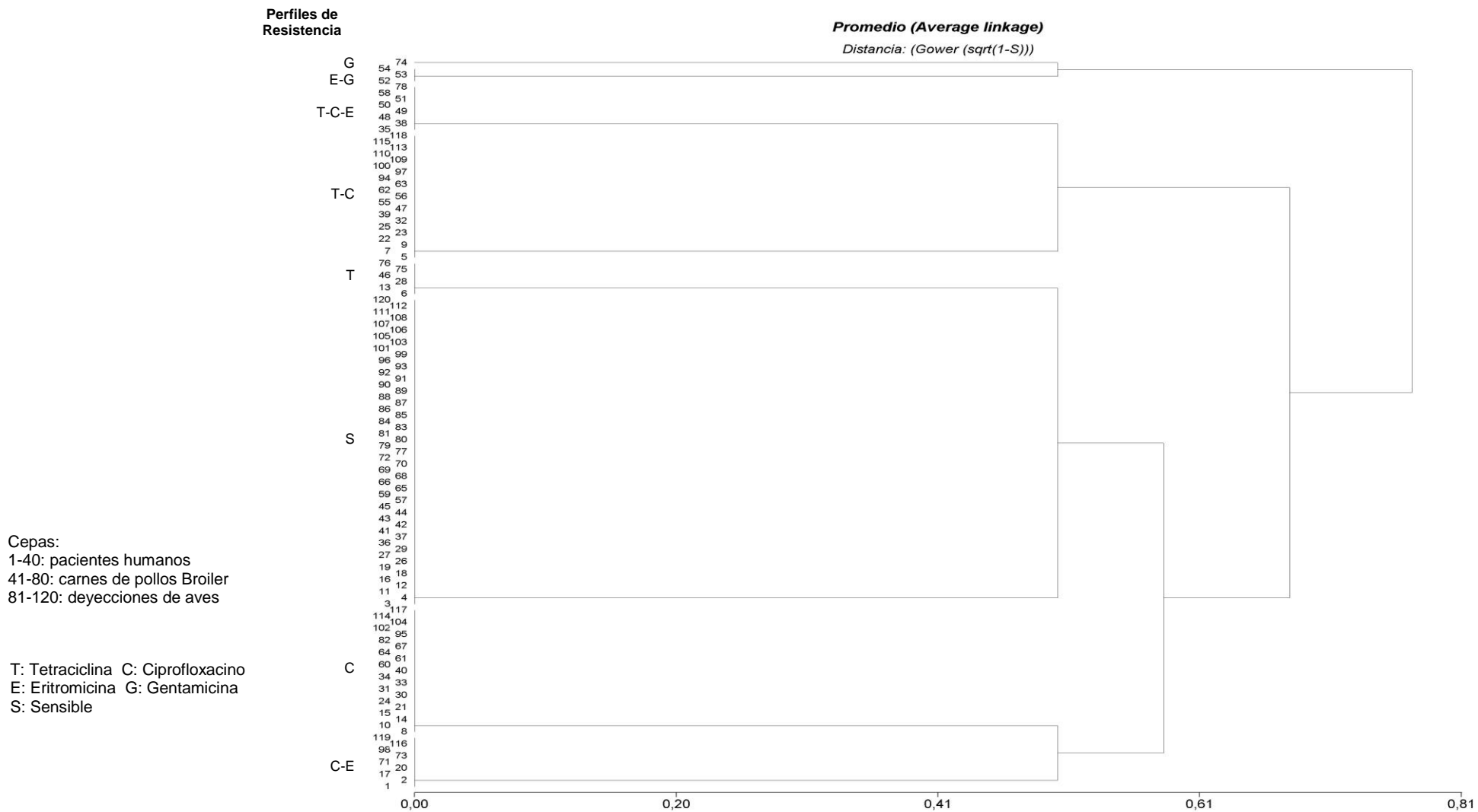


Figura 1. Dendrograma de perfiles de resistencia cepas de *C. jejuni* y *C. coli* provenientes de humanos, carnes de pollos Broiler y deyecciones de aves.

Tabla 1. Concentraciones antimicrobianas utilizadas para el método dilución en agar

Antimicrobiano	Concentraciones ($\mu\text{g/ml}$)
Ciprofloxacino	0,06-0,125-0,25-0,5-1-2-4-8-16
Tetraciclina	0,125-0,25-0,5-1-2-4-8-16-32
Eritromicina	0,25-0,5-1-2-4-8-16-32-64
Gentamicina	0,06-0,125-0,25-0,5-1-2-4-8-16

Tabla 2. Puntos de corte de la cepa ATCC *C. jejuni* 33560 para los antibióticos ciprofloxacino, tetraciclina, eritromicina y gentamicina para los métodos de Etest y dilución en agar

Antibiótico	Sensible	Resistente
Ciprofloxacino	≤ 1	≥ 4
Tetraciclina	≤ 4	≥ 16
Eritromicina	≤ 8	≥ 32
Gentamicina		≥ 8

Tabla 3. Número (%) de cepas de *C. jejuni* y *C. coli* aisladas de pacientes humanos, carnes de pollos Broiler y deyecciones de aves resistentes a los distintos antimicrobianos

Antimicrobiano	Pacientes humanos			Carnes de pollos Broiler			Deyecciones de aves		
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	Total	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	Total	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	Total
Ciprofloxacino	17/28 (60,7)	8/12 (66,6)	25/40 (62,5)	1/10 (10,0)	16/30 (53,3)	17/40 (42,5)	11/26 (42,3)	6/14 (42,8)	17/40 (42,5)
Tetraciclina	9/28 (32,1)	4/12 (33,3)	13/40 (32,5)	0/10 (0,0)	14/30 (46,6)	14/40 (35,0)	6/26 (23,0)	2/14 (14,2)	8/40 (20,0)
Eritromicina	1/28 (3,5)	5/12 (41,6)	6/40 (15,0)	0/10 (0,0)	11/30 (36,6)	11/40 (27,5)	2/26 (7,6)	1/14 (7,1)	3/40 (7,5)
Gentamicina	0/28 (0,0)	0/12 (0,0)	0/40 (0,0)	0/10 (0,0)	4/30 (13,3)	4/40 (10,0)	0/26 (0,0)	0/14 (0,0)	0/40 (0,0)

Tabla 4. Número (%) de cepas multiresistentes de *C. jejuni* y *C. coli* de pacientes humanos, carnes de pollos Broiler y deyecciones de aves

Origen	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	Total
Pacientes humanos	7 (50,0)	7 (50,0)	14 (35,0)
Carnes de pollos Broiler	0 (0,0)	16 (100,0)	16 (40,0)
Deyecciones de aves	8 (72,7)	3 (27,3)	11 (27,5)

* Los porcentajes totales de cepas multiresistentes se expresan en función del total de cepas aisladas de acuerdo a su origen (n=40)

Tabla 5. Perfiles de multiresistencia generados y el número de cepas de *Campylobacter* spp. provenientes de pacientes humanos, carnes de pollos Broiler y deyecciones de aves

Origen	Tetraciclina/Ciprofloxacino	Ciprofloxacino/Eritromicina	Eritromicina/Gentamicina	Tetraciclina/Ciprofloxacino/Eritromicina
Pacientes humanos	8	4	0	2
Carnes de pollos Broiler	5	2	3	6
Deyecciones de aves	8	3	0	0