



Prevalencia y caracterización del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en niños con diarrea de la ciudad de Loja, Ecuador

Rosa Simaluiza, Zorayda Toledo y Heriberto Fernández

Prevalence and antimicrobial behavior of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in children with diarrhea in Loja city, Ecuador

Introduction: *Campylobacter* is an important agent of diarrhea in humans. In Ecuador, the information on *Campylobacter* is scarce and there are not antecedents about antimicrobial susceptibility. **Objective:** To describe *Campylobacter* prevalence in children with diarrhea and their behavior against five antimicrobials *in vitro*. **Method:** We studied 253 children with diarrhea aging 7 months to 9 years who consulted for diarrhea in two hospitals in the city of Loja. Fecal samples were cultured and identification by tests by phenotypic tests and multiplex PCR. Susceptibility to 5 antibiotics was determined by the disc-diffusion method. **Results:** *Campylobacter* was found in 16 (6.3%) children, being *C. jejuni* the most frequent one (5.1%), followed by *C. coli* (1.2%). All strains were susceptible to gentamicin and ampicillin/clavulanic acid, being found low resistance to ampicillin and erythromycin and high resistance to ciprofloxacin.

Key words: *Campylobacter*; diarrhea; children; Ecuador; antimicrobial resistance.

Palabras Clave: *Campylobacter*; diarrea; niños; Ecuador; resistencia antimicrobiana.

Introducción

Las especies termotolerantes de *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari* y más recientemente *Campylobacter upsaliensis*) han adquirido gran importancia en salud pública, especialmente como agentes causales de diarrea infecciosa en el ser humano^{1,2}. De estas cuatro especies, *C. jejuni* es la más frecuentemente aislada, tanto en países en vías de desarrollo como en países industrializados. *Campylobacter coli* le sigue en frecuencia y, en Sudamérica, es responsable de cerca de 25% de los casos de diarrea atribuibles a especies

del género *Campylobacter*¹ mientras que *C. lari* y *C. upsaliensis* son las especies de menor frecuencia de aislamiento².

Aunque la Organización Mundial de la Salud recomienda a los países signatarios establecer sistemas de vigilancia epidemiológica respecto de *Campylobacter*, en Latinoamérica son pocos los países que han avanzado en este sentido³. No obstante, en esta región se ha generado información científica sobre este grupo bacteriano con una frecuencia de aislamiento relativamente alta en casos de diarrea, como también en portadores sanos¹.

En Ecuador existe un Sistema de Vigilancia Epidemiológica (SIVE) y que, a pesar de incluir enfermedades transmitidas por agua y alimentos, la campylobacteriosis no está considerada entre éstas⁴.

Considerando que la información existente sobre *Campylobacter* en Ecuador es escasa y como una manera de aportar a su conocimiento epidemiológico en este país, el objetivo de esta investigación fue establecer la prevalencia de *Campylobacter* y su comportamiento *in vitro* frente a cinco antimicrobianos, en niños con diarrea de la ciudad de Loja.

Metodología

Se estudiaron 253 muestras fecales obtenidas de niños entre los 7 meses y 9 años de edad, que consultaron por diarrea en dos hospitales de la ciudad de Loja, Ecuador. Las muestras fueron sembradas en agar Butzler e incubadas a 42 °C en microaerofilia por 48 h y en agar sangre mediante filtración pasiva, con incubación a 37 °C en microaerofilia hasta por 5 días⁵.

Las colonias sospechosas fueron identificadas inicialmente por sus características morfológicas (tinción de Gram) y bioquímicas (oxidasa, catalasa, susceptibilidad al ácido nalidixico y a la cefalotina, e hidrólisis del hipurato y del indoxylacetato). Fueron confirmadas mediante la prueba RPC múltiple propuesta por Yamazaki-Matsune y cols.⁶, la cual fue iniciada con la extracción de ADN de cada cepa mediante el *kit* E.Z.N.A Tissue ADN (OMEGA bio-tek). Luego, fueron efectuados los ciclos de amplificación para la identificación de género y de las seis especies de *Campylobacter* que detecta el método (*C. hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *C. coli*, *C. fetus*, *C. lari*, *C. jejuni* y *C. upsaliensis*). Se utilizó como control la cepa *C. jejuni* DSM 4688T.

La susceptibilidad a ampicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, eritromicina, ciprofloxacina y gentamicina fue determinada por el método de difusión en disco siguiendo las recomendaciones de EUCAST y del Comité para el Antibiograma de la Sociedad Francesa de Microbiología⁷, teniendo como control la cepa *C. jejuni* ATCC 33560.

Resultados

De los 253 niños estudiados, 16 (6,3%) tuvieron coprocultivo positivo para *Campylobacter*. Las especies aisladas fueron *C. jejuni* en 13 casos (5,1%) y *C. coli* en 3 (1,2%). No fueron aisladas otras especies del género.

Todas las cepas de *C. jejuni* y de *C. coli* aisladas fueron susceptibles a gentamicina y a ampicilina/ácido clavulánico. Frente a ampicilina, las tres cepas de *C. coli* y 12 (92,3%) de *C. jejuni* fueron susceptibles. Solamente una cepa (7,7%) de *C. jejuni* fue resistente a ampicilina. De las tres cepas de *C. coli*, una fue resistente y dos susceptibles a eritromicina. En *C. jejuni* una cepa fue resistente (7,7%) y 12 (92,3%) fueron susceptibles. Se encontró alta resistencia a ciprofloxacina, siendo todas las cepas de *C. coli* y 10 (76,9%) de *C. jejuni* resistentes a esta fluoroquinolona (Tabla 1). No fueron aisladas cepas multirresistentes (resistentes a tres o más antibacterianos)

Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador. Departamento de Ciencias de la Salud, Sección Genética Humana, Microbiología y Bioquímica Clínica (RS, ST).

Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. Instituto de Microbiología Clínica (HF).

Sin conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Este manuscrito fue financiado por la Universidad Técnica Particular de Loja, proyecto PROY-CCSAL_1077.

Recibido: 14 de septiembre de 2017 / Aceptado: 20 de marzo de 2018

Correspondencia a:

Heriberto Fernández
hfernand@uach.cl



Tabla 1. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* aislados de niños con diarrea de la ciudad de Loja, Ecuador

Antimicrobiano	<i>C. jejuni</i> n = 13		<i>C. coli</i> n = 3	
	S	R	S	R
Ciprofloxacina	2 (23,1%)	10 (76,9%)	0	3 (100%)
Eritromicina	12 (92,3%)	1 (7,7%)	2 (66,6%)	1 (33,2%)
Gentamicina	13 (100%)	0	3 (100%)	0
Amoxicilina	12 (92,3%)	1 (7,7%)	3 (100%)	0
Amoxicilina/ácido clavulánico	13 (100%)	0	3 (100%)	0

pero fue encontrada resistencia simultánea a dos antimicrobianos en dos cepas de *C. jejuni* (ciprofloxacina/eritromicina, ciprofloxacina/ampicilina) y en una de *C. coli* (ciprofloxacina/eritromicina).

Discusión

Campylobacter jejuni y *C. coli* son patógenos entéricos reconocidos en todo el mundo y en los países en vías de desarrollo, donde habitualmente no hay vigilancia ni estudio de brotes. La mayoría de los casos son esporádicos^{1,2}, como lo fueron los casos incluidos en este estudio. Dieciséis (6,3%) de los 253 niños estudiados presentaron coprocultivo positivo para *Campylobacter* aislándose solamente dos especies del género, *C. jejuni* (5,1%) y *C. coli* (1,2%). A pesar de haber sido utilizada la filtración pasiva⁵, no fueron aisladas otras especies de *Campylobacter*.

La frecuencia de aislamiento encontrada en Loja es menor, aunque cercana, a la informada por Vasco y cols.⁸ (10%) en niños del barrio Guamaní en Quito. Sin embargo, ambas son bastante más bajas que 23% encontrada por Guderian y cols.⁹ en niños de la ciudad de Quito. Es posible que las diferencias con los resultados obtenidos en 1984, se deban a diferencias ambientales de saneamiento básico, las que han debido mejorar desde esa época al presente. Además, también es más baja que las frecuencias informadas por otros estudios de América del Sur (9,1% en Buenos Aires¹⁰ y 15,3% en La Pampa¹¹, Argentina; 13,3% en Lima¹², Perú; 10,8% en el Nordeste de Brasil¹³ y 10% en el sur de Chile¹⁴). Sin embargo, la proporción de aislamientos de *C. coli*, respecto del total de ambas especies fue de 23,5%, lo que es consistente con la relación *C. jejuni/C. coli* de 4/1 observada en varios países de América del Sur¹.

En ninguna de las cepas de *C. jejuni* y de *C. coli* estudiadas se encontró resistencia a gentamicina y a amoxicilina/ácido clavulánico mientras que las tres cepas de *C. coli* y 12 (92,3%) de *C. jejuni* también fueron susceptibles a ampicilina. Solamente una cepa (7,7%) de *C. jejuni* presentó resistencia a ampicilina, pero, a su vez, fue susceptible a amoxicilina/ácido clavulánico, lo que sugiere que esta cepa sería productora de β -lactamasas, hecho que ha sido observado previamente en otros países latinoamericanos¹⁵. En relación a eritromicina, solo se encontraron dos cepas resistentes, una de *C. jejuni* y otra de *C. coli*. Sin embargo, se encontró una alta frecuencia de cepas resistentes a ciprofloxacina, ya que todas las cepas de *C. coli* y 76,9% de las de *C. jejuni* fueron resistentes a este antimicrobiano. La literatura especializada reconoce que la resistencia a macrólidos y quino-

lonas en especies de *Campylobacter* responde al uso de antibacterianos en el proceso de producción animal y se reflejaría en las cepas aisladas de seres humanos, con mayor predominio de resistencia a quinolonas^{16,17}. En esta serie, hubo alta prevalencia de cepas resistentes a ciprofloxacina y una baja resistencia a eritromicina. Estos resultados están en concordancia con estudios previos realizados en esta región donde se encontró una alta resistencia a ciprofloxacina (62,5-100%) y una baja o nula resistencia a eritromicina (0-12,5%) en cepas de *Campylobacter* aisladas de hígados de pollo para consumo humano¹⁸ y de materia fecal de pollos de traspatio¹⁹.

Aunque la gastroenteritis por *Campylobacter* es generalmente auto-limitada, se recomienda el tratamiento antimicrobiano en infecciones sistémicas graves, diarreas prolongadas o en casos de infecciones que ocurren en pacientes de edades extremas, inmunocomprometidos o mujeres embarazadas. Cuando está indicada la terapia antimicrobiana, los macrólidos (eritromicina, claritromicina o azitromicina) son los agentes de elección para el tratamiento de los casos de *Campylobacter* confirmados por cultivo, especialmente en niños. Las fluoroquinolonas (ciprofloxacina) son utilizadas en adultos para el tratamiento empírico de la diarrea del viajero y casos de diarreas sin agente etiológico diagnosticado mientras que la gentamicina se reserva para el tratamiento de infecciones sistémicas y extraintestinales^{20,21}. Considerando el surgimiento de resistencia a los antimicrobianos de elección, la OMS recomienda realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana *in vitro*, tanto para proporcionar una orientación sobre el tratamiento apropiado de la campylobacteriosis como para contribuir al conocimiento epidemiológico y a la vigilancia de la resistencia en *Campylobacter*².

Estos resultados sugieren la necesidad de realizar estudios de mayor alcance en el tiempo, incluyendo cepas de origen humano, ambiental, de animales y de alimentos, para establecer relaciones epidemiológicas en el origen de las cepas de *Campylobacter* y diseñar estrategias de control y de mitigación de la resistencia en estos agentes zoonóticos de diarrea en el ser humano.

Resumen

Introducción: *Campylobacter* es un importante agente de diarrea en el ser humano. En Ecuador, la información sobre *Campylobacter* es escasa y no existen antecedentes de susceptibilidad antimicrobiana. **Objetivo:** Describir la prevalencia de *Campylobacter* en niños con diarrea y su comportamiento *in vitro* frente a cinco antimicrobianos. **Método:** Se estudiaron 253 niños entre siete meses y 9 años de edad, que consultaron por diarrea en dos hospitales de la ciudad de Loja. Se realizó cultivo de muestras fecales e identificación por pruebas fenotípicas y por RPC múltiple. La susceptibilidad antimicrobiana fue determinada por el método de difusión en disco. **Resultados:** *Campylobacter* fue diagnosticado en 16 (6,3%) de las muestras, aislándose *C. jejuni* en 13 (5,1%) y *C. coli* en 3 (1,2%). Todas las cepas fueron susceptibles a gentamicina y ampicilina/ácido clavulánico, con baja resistencia a ampicilina y eritromicina y alta resistencia a ciprofloxacina.

Referencias bibliográficas

- 1.- Fernández H. *Campylobacter* y campylobacteriosis: una mirada desde América del Sur. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2011; 28: 121-27.
- 2.- World Health Organization. 2013. The global view of campylobacteriosis:



- report of an expert consultation, Utrecht, Netherlands, 9-11 July 2012. WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland. pp 57.
- 3.- Instituto de Salud Pública de Chile. Vigilancia de laboratorio de *Campylobacter* spp., 2005-2013. Bol Inst Salud Pública Chile 2014; 4: 1-17.
 - 4.- Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Enfermedades transmitidas por agua y alimentos. Gaceta Epidemiológica 2017. SE-23: 9-12. Disponible en: <http://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2013/02/Gaceta-General-SE-23.pdf>
 - 5.- Fernández H, Vera F, Villanueva MP, García A. Occurrence of *Campylobacter* species in healthy well-nourished and malnourished children. Braz J Microbiol 2008; 39: 56-8.
 - 6.- Yamazaki-Matsune W, Taguchi M, Seto K, Kawahara R, Kawatsu K, Kumeda Y, et al. Development of a multiplex PCR assay for identification of *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari* and *Campylobacter upsaliensis*. J Med Microbiol 2007; 56: 1467-73.
 - 7.- Société Française de Microbiologie. Comité de l'Antibiogramme-Recommandations 2014.2014. Société Française de Microbiologie, Paris, France, pp 1-115.
 - 8.- Vasco G, Trueba G, Atherton R, Calvopiña M, Cevallos W, Andrade T, et al. Identifying etiological agents causing diarrhea in low income Ecuadorian communities. Am J Trop Med Hyg 2014; 91: 563-9. doi: 10.4269/ajtmh.13-0744.
 - 9.- Guderian R H, Ordóñez G, Bossano R. Acute diarrhea associated with *Campylobacter* and other pathogens in Quito, Ecuador. Bol Oficina Sanit Panam 1987; 102: 333-9.
 - 10.- López C, Agostini A, Giacoboni G, Cornero F, Tellechea D, Trinidad J J. Campilobacteriosis en una comunidad de bajos recursos de Buenos Aires, Argentina. Rev Sci Tech Off Int Epiz 2003; 22: 1013-20.
 - 11.- Tamborini A L, Casabona L M, Viñas M R, Asato V, Hoffer A, Farace M I, et al. *Campylobacter* spp.: prevalencia y caracterización feno-genotípica de aislamientos de pacientes con diarrea y de sus mascotas en la provincia de La Pampa, Argentina. Rev Argent Microbiol 2012; 44: 266-71.
 - 12.- Perales M, Camiña M, Quiñones C. Infección por *Campylobacter* y *Shigella* como causa de diarrea aguda infecciosa en niños menores de dos años en el distrito de la Victoria, Lima-Perú. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2002;19: 186-92.
 - 13.- Quetz JDS, Lima IFN, Havt A, De Carvalho EB, Lima NL, Soares AM, et al. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in children from communities in Northeastern Brazil: molecular detection and relation to nutritional status. Diagn Microbiol Infect Dis 2010; 67: 220-7. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.02.025.
 - 14.- Collado L, Gutiérrez M, González M, Fernández H. Assessment of the prevalence and diversity of emergent campylobacteria in human stool samples using a combination of traditional and molecular methods. Diagn Microbiol Infect Dis 2013; 75: 434-6. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.12.006.
 - 15.- Fernández H, Oval A. Occurrence of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* biotypes and antimicrobial susceptibility in healthy dogs in Southern Chile. Acta Scient Vet 2013; 41: 1100.
 - 16.- Gibreel A, Taylor D E. Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 243-55.
 - 17.- Pollett S, Rocha C, Zerpa R, Patiño L, Valencia A, Camiña M, et al. *Campylobacter* antimicrobial resistance in Peru: a ten-year observational study. BMC Infect Dis 2012; 12: 193. doi: 10.1186/1471-2334-12-193.
 - 18.- Simaluiza R J, Toledo Z, Ochoa S, Fernández H. The prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in chicken livers used for human consumption in Ecuador. J Anim Vet Adv 2015; 14: 6-9.
 - 19.- Ochoa S, Simaluiza R J, Toledo Z, Fernández H. Frequency and antimicrobial behavior of thermophilic *Campylobacter* species isolated from Ecuadorian backyard chickens. Arch Med Vet 2016; 48: 311-4.
 - 20.- Fernández H, Pérez-Pérez G. *Campylobacter*: fluoroquinolone resistance in Latin-American countries. Arch Med Vet 2016; 48: 255-9.
 - 21.- Lapierre L, Arias M L, Fernández H. Chapter 10: Antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp. Fonseca B, Fernández H, Rossi D, editors. *Campylobacter* spp. and Related Organisms in Poultry. Pathogen-Host Interactions, Diagnosis and Epidemiology. Springer International Publishing Switzerland; 2016, p. 165-83.