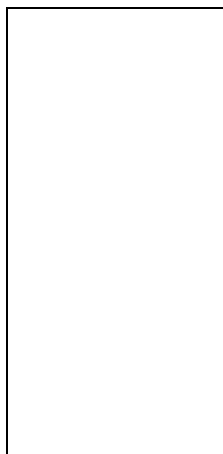




UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS  
INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS EN SALUD



**MONITOREO DE LA RESISTENCIA  
ANTIMICROBIANA DE *Campylobacter spp.* EN  
CUATRO HOSPITALES DE LA CIUDAD DE  
LA PAZ – BOLIVIA  
2005 -2006**

*Tesis Para Optar al Grado de Licenciatura en Bioquímica*

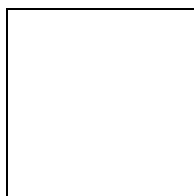
**ELABORADO POR:**

**ORIETTA LAURA OLAGUIBEL**

**LA PAZ -BOLIVIA  
2009**



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS  
INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS EN SALUD



**MONITOREO DE LA RESISTENCIA  
ANTIMICROBIANA DE *Campylobacter spp.* EN  
CUATRO HOSPITALES DE LA CIUDAD DE  
LA PAZ – BOLIVIA  
2005 -2006**

*Tesis para Optar al Título de Licenciatura en Bioquímica*

**ELABORADO POR:**

**ORIETTA LAURA OLAGUIBEL**

**ASESORA:**

**DRA. ESTHER DAMIANI MOISES**

**LA PAZ -BOLIVIA  
2009**



## DEDICATORIA

*A Dios quien me dio la vida y me ha guiado, permitiéndome alcanzar las metas que me he propuesto.*

*A mi papá Florentino, quien es el forjador de mi vida, quien en cada momento difícil ha estado conmigo ayudándome e incentivándome a seguir adelante a pesar de las adversidades encontradas, ya que sin el no hubiera sido posible llegar al final.*

*A mis Queridos hermanos Carla y Saúl por ser la luz en mi camino y la fuerza que me impulsa a seguir adelante*

*A mi mami, Maritza que siempre cuidó de mí y estuvo a mi lado y que no pudo estar conmigo al llegar a la meta pero desde donde esté se siente feliz porque lo logramos.*



## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi tutora: Dra. Esther Damián Moises:** Por ser un gran maestro y una gran persona incondicional que con sus conocimientos y paciencia ha contribuido grandemente a mi formación profesional.

**Al Dr. Christian Trigoso Agudo,** quien me permitió realizar mi trabajo de Tesis en el Laboratorio Nacional de Referencia en Salud en Bacteriología Clínica INLASA.

**A la Dra. Patricia Rosales,** Por su espíritu investigativo, su tiempo y disponibilidad que me ha brindado para la realización de este trabajo.

**Al Dr. Milton Lobo,** Jefe de la unidad de microbiología del Hospital “Arco Iris” por toda la colaboración prestada para la realización de este trabajo

**A la Dra. Raquel Calderón.** Jefe de la Unidad de Microbiología de SELADIS.

**A la Dra. Maria Luz Soto.** Jefe de la unidad de Parasitología de SELADIS

**A la Dra. Maxima Velarde.** Jefe del laboratorio del Hospital Municipal Boliviano Holandés

**A la Dra. Cecilia Bruzzone Pacheco.** Jefe de laboratorio de Clínica AMID

**A los compañeros de unidad de bacteriología de INLASA:** Pablo, Juan Jorge, Roxana, Lesli, Ericka y Loretta.

**A mis amigos:** Pablo Bilbao, Juan Calle, Jorge Bravo, Jhamelin Rocha, por haber compartido triunfos y derrotas, alegrías y tristezas y por haber estado en las buenas y en las malas.



## **RESUMEN**

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de los antibióticos. Las infecciones causadas por bacterias multirresistentes causan una amplia morbilidad y mortalidad.

En cepas de *Campylobacter spp*, la resistencia a antimicrobianos parece ser un problema emergente en varios países, no obstante en La Paz - Bolivia existen pocos reportes sobre susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Campylobacter spp*. y, hasta ahora no hay trabajos publicados que informen resistencia en estas cepas.

Para analizar la susceptibilidad antibiótica de cepas de *Campylobacter spp* aisladas en Bolivia, frente a Ciprofloxacina (CIP), Eritromicina (ERI), Tetraciclina (TET), Nitrofurantoina (NIT), Gentamicina (GEN), Cloranfenicol (CMP), Clindamicina (CLI), Imipenem (IMP) y Amoxicilina/clavulánico (AMC), se analizaron 44 cepas de *Campylobacter spp*; de las cuales 28 fueron de *C. jejuni*. 13 *C. coli* y 3 cepas de *C. lari*, aisladas de Hospitales de la ciudad de La Paz – Bolivia (2005 – 2006), se utilizó el método difusión en disco (Bauer Kirby). Se observó 31 cepas (70%) resistentes a ciprofloxacina, 27 cepas (61%) cepas resistentes a Eritromicina, 28 cepas (66%) resistente a Tetraciclina y 34 cepas (77%) a Clindamicina. Los resultados obtenidos muestran la presencia de cepas resistentes a Ciprofloxacina y Eritromicina, siendo que el tratamiento recomendado para diarrea por *Campylobacter* (cuando no se autolimita) son estos dos antibióticos, lo que demuestra la importancia de vigilar *Campylobacter spp*. en Bolivia, realizar un cultivo en forma rutinaria y detectar en forma oportuna las cepas resistentes frente a estos u otros antimicrobianos.



## **ABSTRACT**

Bacterial resistance is a growing phenomenon mainly generated by the indiscriminate and irrational use of antibiotics. Infections caused by multiresistant bacteria causing extensive morbidity and mortality.

In strains of *Campylobacter spp*, antimicrobial resistance appears to be an emerging problem in several countries, but in Bolivia, there are few reports on antimicrobial susceptibility of *Campylobacter spp*. strains and so far no studies published that report resistance in these strains.

To analyze the antibiotic susceptibility of strains of *Campylobacter spp* isolated in Bolivia, to ciprofloxacin (CIP), erythromycin (ERI), tetracycline (TET), nitrofurantoin (NIT), Gentamicin (GEN), chloramphenicol (CMP), Clindamycin (CLI) , Imipenem (IMP) and amoxicillin / clavulanate (AMC), were analyzed 44 strains of *Campylobacter spp*, of which 28 were *C. jejuni*. 13 *C. coli* strains and 3 *C. lari* isolated from Hospital La Paz (2005 - 2006) was used disk diffusion method (Kirby Bauer). 31 strains was observed (70%) resistant to ciprofloxacin, 27 strains (61%) strains resistant to erythromycin, 28 strains (66%) resistant to tetracycline and 34 isolates (77%) to clindamycin. The results show the presence of strains resistant to ciprofloxacin and erythromycin, while the recommended treatment for diarrhea due to *Campylobacter spp*. (if not self) are the two antibiotics, demonstrating the importance of monitoring *Campylobacter spp*. in Bolivia, to make a crop in routine and timely detect strains resistant to these or other antimicrobials.



## INDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	ANTECEDENTES .....	4
III.	DISEÑO TEORICO.....	8
A.	CAMPYLOBACTER.....	9
1.	HISTORIA.....	9
2.	CLASIFICACION TAXONOMICA.....	9
3.	ESPECIES Y GENERO.....	10
4.	CARACTERISTICAS GENERALES DEL GÉNERO.....	11
5.	MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA.....	12
6.	AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN.....	12
7.	EPIDEMIOLOGÍA.....	13
8.	PATOGENIA.....	14
9.	CLÍNICA.....	14
10.	TRATAMIENTO.....	15
B.	ANTIBIOTICOS.....	16
a.	MECANISMOS DE ACCIÓN Y CLASIFICACIÓN.....	16
b.	BETALACTAMICOS.....	16
c.	AMINOGLUCÓCIDOS.....	18
d.	QUINOLONAS.....	18
e.	MACRÓLIDOS.....	19
f.	TETRACICLINAS.....	19
g.	AMFENICOLES.....	19
h.	LINCOMICINA Y CLINDAMICINA.....	20



<b>C.</b>	<b>RESISTENCIA BACTERIANA.....</b>	<b>20</b>
<b>1.</b>	<b>MECANISMOS BIOQUÍMICAS DE RESISTENCIA.....</b>	<b>21</b>
<b>D.</b>	<b>SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA <i>Campylobacter</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>E.</b>	<b>ANTIBIOGRAMA.....</b>	<b>27</b>
<b>IV.</b>	<b>JUSTIFICACION.....</b>	<b>30</b>
<b>V.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>32</b>
<b>VI.</b>	<b>DISEÑO METODOLOGICO.....</b>	<b>34</b>
<b>VII.</b>	<b>METODO Y TECNICAS DE PROCEDIMIENTO.....</b>	<b>36</b>
<b>VIII.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>48</b>
<b>IX.</b>	<b>DISCUSION.....</b>	<b>58</b>
<b>X.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>63</b>
<b>XI.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>65</b>
<b>XII.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>67</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>74</b>





## *I. INTRODUCCIÓN.*



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

Los miembros del género *Campylobacter* son bacilos Gram negativos curvos y microaerófilos. Existen alrededor de 14 especies dentro de este género, de las cuales las que destacan están *C. jejuni* y *C. coli* como importantes agentes de diarrea para el ser humano, siendo *C. jejuni* la especie más frecuente aislada en casos de diarrea en todo el mundo. (*Campylobacter*, 2000)

La campylobacteriosis es una zoonosis. Los principales reservorios de esta enfermedad son los animales de granja, que se infectan en los primeros años de vida y la mayoría de ellos permanecen como portadores. Las vías principales de infección son la ingestión de carnes mal cocidas (principalmente aves de corral, pero también cerdo, ganado bovino, etc.), leche no pasteurizada y agua u otros alimentos contaminados con excretas de animales infectados. (*Mandell G*, 1991)

La enterocolitis causada por *Campylobacter spp.* es una enfermedad leve a moderada, caracterizada por diarrea, fiebre y dolor abdominal. Generalmente es una infección autolimitada, que en la mayoría de los casos sólo requiere rehidratación oral, pero en ciertas circunstancias es necesario instaurar una terapia antibiótica adecuada. Entre los antibióticos usados para *Campylobacter*, están las fluoroquinolonas como primera elección y entre los alternativos el más usado es la eritromicina. En los últimos años, el aumento a nivel mundial de la resistencia a los antimicrobianos en este género, ha llevado a reconsiderar esta terapia empírica en algunos países y a buscar métodos confiables para evaluar la sensibilidad a los antimicrobianos en cada región en particular. (*Murray, B...*)

En el presente trabajo desarrollaremos un método para determinar la sensibilidad a los antimicrobianos para las especies del género *Campylobacter*. Las pruebas de sensibilidad por difusión para *Campylobacter spp.* aún no están estandarizadas, no hay una metodología recomendada ni puntos de corte establecidos. Si bien existen recomendaciones para las pruebas por difusión en las normas francesas, las condiciones que utilizan son distintas a las que recomienda el National Committee for Clinical Laboratory Standards. Todas las recomendaciones dadas en este trabajo para desarrollar las pruebas de sensibilidad por difusión se basan en los datos de la literatura internacional



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

y en nuestra experiencia propia tratando de asemejar las condiciones de trabajo a las citadas en el documento M2 – A8 de la NCCLS del año 2003.

En el 2003 la NCCLS ha estandarizado las pruebas de sensibilidad por dilución para este género (Tabla 3A del documento M100-S13 – Enero 2003), pero aún no se ha expedido en cuanto a los puntos de corte. El estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos puede ser realizado mediante métodos de difusión o dilución. La elección de uno u otro método depende de varios factores como preferencia, la sencillez y rapidez de las técnicas a utilizar, y de la disponibilidad recursos de cada laboratorio.

La sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos in vitro se puede determinar por varios métodos. La prueba de difusión en agar se utiliza de rutina en muchos laboratorios clínicos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos de bacterias comunes de desarrollo rápido y también para algunas bacterias con requerimientos nutricionales especiales.

La selección de los agentes antimicrobianos apropiados para la prueba de difusión, es una decisión de cada laboratorio clínico en consulta con el cuerpo médico, el comité de farmacia y el comité de enfermedades infecciosas. Se sugiere probar rutinariamente discos eritromicina (15µg), tetraciclina (30µg) y ciprofloxacina (5µg) que son los antimicrobianos de primera línea para el tratamiento de las diarreas por *Campylobacter spp.* y pueden complementarse con los discos de gentamicina (10µg), nitrofurantoina (300µg), cloranfenicol (30µg), clindamicina (2µg), imipenem (10µg) y amoxicilina/ ác. clavulánico (20/10µg). (Carlos G.2001)

El medio de cultivo de elección para las pruebas de sensibilidad de rutina es el agar Müeller Hinton, se considera el mejor de los medios disponibles por su buena reproducibilidad lote a lote, el bajo contenido de inhibidores y porque permite el desarrollo de la mayoría de las bacterias patógenas. Para la realización del método de difusión en agar para el género *Campylobacter* recomendamos el uso de Müeller Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero (MHS). El agregado de sangre sustenta mejor el crecimiento del *Campylobacter spp.* y hace más clara la lectura de los halos de inhibición.



## *II. ANTECEDENTES.*



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

En Europa, Asia y Estados Unidos las cifras de aislamiento de *Campylobacter*, a partir de pacientes con cuadros diarreicos oscilan entre 10 -15% y en algunos países hasta 1.5% en pacientes asintomáticos. En América del sur, en Brasil se ha informado 4.8% en casos diarreicos, en Chile 7.5% a 9.2% en enfermos y 3.2 a 4% en asintomáticos y en África del sur 3.5 y 16% respectivamente

En Bolivia existen muy pocos estudios que hayan investigado al género de *Campylobacter*. Hay varios estudios sobre el genero *Shigella*, los cuales nos dan un panorama de su frecuencia, especies más identificadas, así como su perfil de resistencia antimicrobiana. Muy poco se ha escrito sobre *Campylobacter* y su situación en Bolivia, sin embargo en los pocos estudios sobre este agente, se puede encontrar datos de importancia con relación a su comportamiento como agente etiológico en diarreas infecciosas.

Un estudio realizado en el año 1990, se realizó en La Paz - Bolivia, un estudio de frecuencia de *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* y *Campylobacter*, teniendo como resultado un 54% de *Shigella*, 21.74% de *Campylobacter*, 19.57% de *Salmonella* y 19.57% de *E. coli*. (Espada, 1990)

En el Lapso de diciembre de 1994 a marzo de 1995 se realizó un estudio con el propósito de proporcionar datos para documentar una guía de terapia con antibióticos. Este se llevó a cabo en tres ciudades: La Paz, Cochabamba, Santa Cruz, en niños menores de 5 años con diarrea y presencia de sangre en ella. Se examinaron 134 muestras donde un 40% se aisló algún patógeno bacteriano: 28% fue *Shigella* (74% *S. flexneri* y 26% *S. sonnei*), 12% *Campylobacter jejuni* y 6% *Salmonella*. (Townes JM, 2002)

En 1998 se realizó un estudio epidemiológico en niños y animales domésticos en la ciudad de La Paz – Bolivia para detectar la presencia de *Campylobacter*. Reportando un 16% de muestras positivas en niños menores de 5 años, en perros 21% y en gallinas 51%. (Rodrigues K, 1998).



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

En el año 2000 se realizó un estudio para determinar la frecuencia de diarreas en niños asociados a *Shigella* y *Campylobacter*. El mismo reportó 12 % de *Shigella* y un 14% de *Campylobacter*, estableciendo así mismo que no existe una diferencia sustancial en la presencia de moco y sangre en diarreas por ambos patógenos. (Sanzetenea R. 2003).

En 2004 se realizó un estudio donde se procesaron 160 muestras de heces diarreicas de niños menores de 5 años provenientes de los centros hospitalarios de la ciudad de La Paz y la ciudad de El Alto. El aislamiento se realizó por el método de filtración en agar sangre y paralelamente en el medio selectivo de Karmaly como medio de control, ambos a 35°C, los resultados revelaron la presencia de *Campylobacter* en un 10% de las muestras procesadas, de las cuales 8.75% correspondían a *C. jejuni* y 1.25% a *C. coli*, *Shigella* 13.13% y *Salmonella* 0.63%. (Pinto D. 2004).

Un estudio realizado en Inglaterra y Gales registrado como causa de enteritis bacteriana con cerca de 55000 casos reportados en el año 2000. Usualmente los pacientes se recuperan sin tratamiento antibiótico, pero en el caso de enfermedad severa o enteritis persistente, usualmente los antibióticos de elección son Eritromicina o Fluoroquinolonas. Se estudiaron 391 cepas de *C. jejuni* y 52 cepas de *C. coli* de origen humano y animal para determinar la frecuencia de cepas multiresistentes. En este estudio solo el 3,5 de las cepas de *C. Jejuni* mostraron resistencia a tres antibióticos; se probó Ampicilina, Cloranfenicol, Tetraciclina, Kanamicina y Ciprofloxacino. Se confirmó la resistencia a ampicilina, por presencia de betalactamasas en el 78% de las cepas. Por otro lado, También se determinó la resistencia a Tetraciclina en 76% de las cepas. (Randall AM, 2003)

En Suiza se realizó el estudio en una casa de cría de pollos para determinar los patrones de resistencia a antimicrobianos. Se probaron una variedad de antimicrobianos de uso en el tratamiento en humanos y en veterinaria. Se aislaron 195 cepas de *C. jejuni* a partir de carcasas de pollo, 134 cepas fueron susceptibles in vitro a todos los antibióticos probados. Se encontró 34 cepas fueron resistentes a estreptomina, 6 ampicilina, y 1 a ciprofloxacina, ninguna de las cepas fueron resistentes a Tetraciclina. (V. Fredianin – Wolf, 2003)



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

En Estados Unidos demostraron el incremento de la resistencia de especies de *Campylobacter spp* a Ciprofloxacina aisladas entre 1990 – 1997 de muestras humanas y de pollos encontrando además implicancia del tratamiento profiláctico de pollos con fluoroquinolonas. Encontró también que esta resistencia esta asociada al consumo de cepas resistentes en el tratamiento de pacientes con diarrea. Este estudio provee evidencia de que la fluoroquinolona usada en pollos en forma profiláctica o como promotor de crecimiento provoca la aparición de resistencia a fluoroquinolonas que luego infecta a humanos y que además incrementa los días de duración de la diarrea. En contraste se observaron que el tratamiento con enrofloxacin no lleva a la aparición de cepas resistentes. (Lovine, 2004)

En Hong Kong se estudiaron 98 cepas aisladas de pacientes con diarrea y 13 cepas aisladas de carcasa de pollo. La prevalencia de la resistencia a Quinolonas fue de 85,9%. (Yiu –Wai Chu, 2004)

Se estudiaron cepas de *Campylobacter jejuni* en 5 estados de Australia para evaluar el impacto de la prohibición del gobierno de Australia de emplear fluoroquinolonas en la producción de alimentos de origen animal. *Campylobacter* es el microorganismos mas común como causa de diarreas de origen alimentario en Australia, se reporto una incidencia de 116.5 casos por 100.000 personas en el 2003, un aproximado de 227.000 casos anuales de infección por *Campylobacter*. En los Estados Unidos, la frecuencia de *Campylobacter* resistente a fluoroquinolonas es alta, esta se ve acompañada de un incremento en la severidad de la diarrea, mayor duración y mayor probabilidad de procesos invasivos. Se estudiaron 585 casos de diarrea, se estudió la resistencia a diez antimicrobianos encontrando los siguientes resultados: Sulfisoxazol 55% y Ciprofloxacina 2% en los pacientes que adquirieron la infección en forma local. Por otro lado los pacientes que se infectaron fuera del país, *Campylobacter* presento una resistencia del 82%. También se encontró mayor resistencia en Tetraciclina 55%. (Leanne E, 2006)



### *III. DISEÑO TEORICO.*





## **F. CAMPYLOBACTER.**

### **1. HISTORIA.**

La primera aparición del *Campylobacter spp.* en la historia de la microbiología ocurrió en 1886, cuando *Escherichia* describió bacterias morfológicamente compatibles con este germen en el colon de infantes muertos por lo que las llamó “cólera infantum”, pero los intentos por cultivar estos “vibrios” no tuvieron éxito. (*Escherich T. 1886*).

Los primeros reconocimientos de este agente como patógeno provienen del área de la veterinaria. En 1906, Mc Fadyean y más tarde Smith en 1919, describieron al *Vibrio fetus* (*C. fetus*) como agente causante de abortos sépticos en ovejas y cabras. (*Mc Fadyean J*)

En 1931 Jones describió al *Vibrio jejuni* (actualmente *C. jejuni*) como causante de diarreas en cabras. (*Jones F.S*)

En 1947 este agente fue aislado en un aborto séptico en una mujer y durante 3 décadas se lo consideró como un patógeno raro y oportunista en los huéspedes debilitados. (*Vinzent R.*)

En 1973 fue propuesto el género *Campylobacter*, pero recién a fines de los años 80, con el desarrollo de los medios de aislamiento selectivos por Butzler y Skirrow, este género fue reconocido como patógeno intestinal y ya en los mediados de los 80 se determinó que *Campylobacter spp.* era uno de los principales agentes causantes de diarrea en el mundo. (*Butzler J-P*).

### **2. CLASIFICACION TAXONOMICA.**

Las primeras especies de este género fueron identificadas hace más de 90 años en animales, pero no fue sino hasta 1970 cuando se reconoció como patógeno humano. Inicialmente incluidos dentro del género *Vibrio*, en 1963 se encontró que presentaban notorias diferencias bioquímicas y serológicas con el agente del cólera y otros vibrios



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

halofílicos, constituyéndose entonces el género *Campylobacter*. Aunque la clasificación de estas bacterias está en continua revisión y modificación, (*National Center, 2000*)

### **Grupo I:**

Incluye. *C. fetus*, *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari*, *C. hyointestinalis*, *C. concisus*, *C. mucosalis*, *C. sputorum*, *C. upsaliensis*, *C. curvus*, *C. rectus*.

### **Grupo II:**

Incluye: *Arcobacter cryaerphilus*, *A. nitrofigilis*, y *A. buzleri*.

### **Grupo III:**

Incluye: *Helicobacter pylori*, *H. mustelae*, *H. felis*, *H. nemestrinae*, *H. cinaedi* (CLO-1), *H. fennelliae* (CLO-2), especies no bautizadas CLO-3.

(Clasificación tomada de Koneman E. W., 1992)

## **3. ESPECIES Y GENERO.**

El género *Campylobacter* se restringió a las especies pertenecientes al cluster de homología de RNAr del *C. fetus* (especie tipo). De esta manera se reconocen 14 especies: *C. jejuni* (*subsp. jejuni* y *subsp. doylei*), *C. lari*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis*, *C. fetus* (*subsp. fetus* y *subsp. veneralis*), *C. helveticus*, *C. mucosalis*, *C. curvus*, *C. showae*, *C. rectus*, *C. sputorum*, *C. gracilis* y *Bacteroides urealyticus* (aún está en estudio su permanencia en este género). (*Campylobacter 2000*)

Las especies más frecuentemente implicadas en infección humana son las termófilas (temperatura óptima de crecimiento entre 37-42°C) *Campylobacter jejuni* subespecie *jejuni* y *C. coli*, se encuentran entre los principales agentes causales de diarrea aguda en humanos, *C. jejuni* subespecie *jejuni* es el responsable del 80-90% de las gastroenteritis producidas por *Campylobacter spp.* mientras que entre el 5-10% son debidas a *C. coli*. *Campylobacter fetus* subespecie *fetus*.



## *Campylobacter spp* .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

Otra especie de importancia clínica es el *Campylobacter fetus subsp. Fetus* que se asocia a bacteremia e infecciones extraintestinales principalmente en pacientes con una enfermedad subyacente. Puede estar implicado en trabajo de parto prematuro y sépsis neonatal. No se sabe si podría producir gastroenteritis pero su hallazgo está subestimado debido a que no crece a 42°C (temperatura óptima de crecimiento entre 25°C y 37,00 °C) y es sensible a cefalotina, droga frecuentemente utilizada en la preparación de algunos medios de aislamiento selectivos.

El *Campylobacter lari* es otra especie termófila pero a diferencia de *C. jejuni* y *C. coli* es resistente natural al ác. nalidíxico, generalmente es aislado de gaviotas y otros animales y puede causar, en muy bajo porcentaje, gastroenteritis y bacteriemia en humanos.

*Campylobacter upsaliensis* y *Campylobacter hyointestinalis*.- crecen a 42°C pero su temperatura óptima de crecimiento es 37 °C, raramente son aislados como productores de diarrea en humanos, aunque puede producir infecciones extraintestinales en pacientes inmunocomprometidos. A pesar de ser termotolerantes, ambas especies son sensibles a cefalotina, por lo que el empleo de medios selectivos utilizados para el aislamiento de *Campylobacter spp*. en materia fecal pueden inhibir su desarrollo y su prevalencia puede estar subestimada.

### **4. CARACTERISTICAS GENERALES DEL GÉNERO**

*Campylobacter spp* se caracteriza por:

- Son bacilos Gram negativos, cortos, con forma de coma, espiral o alas de gaviota. Con forma de S. (bacilos curvos).
- Son microaerófilos, es decir, crecen en atmósfera con baja concentración de oxígeno.
- Son móviles por un flagelo polar y no esporulados.
- No fermentan los carbohidratos y dan positivas las pruebas de la Oxidasa y Catalasa.
- Habitan en el tracto gastrointestinal de muchos animales.

(Características tomadas de Jawets E. 2002)



## 5. MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA.

Morfología y características fisiológicas: Se trata de bacterias gram negativas, pequeñas (0.3 - 0.6  $\mu\text{m}$  de diámetro, 0.5 - 5  $\mu\text{m}$  de ancho), no esporuladas, con una forma distintiva curva o en espiral, con aspecto de vibrio, cuando se observan a partir de cultivos jóvenes; con más de 48 horas de incubación o tras prolongada exposición al aire adoptan una forma cocoide.

Presentan un flagelo no envainado único en uno o dos de sus extremos y se mueven característicamente en forma rápida y a modo de sacacorchos. Casi todas las especies son sensibles al oxígeno y sólo pueden desarrollar en condiciones de una atmósfera microaerofílica (5 - 10% de oxígeno).

Todas las especies son capaces de desarrollar a 37°C, pero *C. jejuni* tiene una temperatura óptima de crecimiento de 42°C, por lo que es práctica habitual en el laboratorio la incubación a esta temperatura con el fin de facilitar el aislamiento selectivo del principal patógeno humano del género.



(Koneman E. W., 2001)

## 6. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN

Para el aislamiento a partir de materias fecales, los medios de cultivo selectivos más comunes se basan en agar sangre y antibióticos; los más usados son Skirrow y Butzler. Los caldos de enriquecimiento no suelen ser necesarios ya que los individuos enfermos excretan grandes cantidades de bacterias ( $10^6$  -  $10^9$ ) por gramo de materia fecal.

El desarrollo de técnicas de filtración, con filtros que permiten el pasaje de estas pequeñas bacterias pero retienen las de mayor tamaño como las de la flora entérica, seguidas del cultivo en medios no selectivos como agar sangre, ha representado un avance significativo sobre el uso de medios selectivos y es actualmente el método recomendado para el aislamiento primario de *Campylobacter spp.*

Las colonias pueden apreciarse en las placas en 24 - 48 horas, aunque a veces pueden ser necesarias 72 horas. *Campylobacter* puede diferenciarse de otras bacterias por métodos estándar. La capacidad de hidrolizar el hipurato distingue a *C.jejuni* de otras especies, aunque una minoría de las cepas de esta especie es hipurato-negativas. (Carlos G., 2001)

## 7. EPIDEMIOLOGÍA.

La infección por *Campylobacter* constituye una zoonosis de distribución mundial. A pesar de que algunos aspectos de la transmisión del microorganismo aún se desconocen, se ha logrado progresar considerablemente en la comprensión de sus reservorios. Aparentemente los modos de transmisión predominante son diferentes en países industrializados y países en vías de desarrollo.

**Reservorios animales:** Varias especies de *Campylobacter* se encuentran como comensales en el tracto gastrointestinal de animales salvajes y domésticos. Los principales reservorios los constituyen el ganado bovino, ovino y roedores, todas las aves de corral, perros y gatos. La vía de infección humana más frecuente, en relación a este reservorio, es el consumo de carne obtenida de animales infectados. La leche no



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

pasteurizada también constituye un vehículo frecuente de infección. Otra vía de infección humana menos frecuente es el contacto con animales infectados, ya sea con animales domésticos o como accidente ocupacional en personas expuestas al ganado. (Franco DA, 1999)

La transmisión a partir de personas infectadas asintomáticas que manipulan los alimentos es extremadamente rara, pero es frecuente cuando la infección es sintomática, lo que justifica la exclusión de tales trabajadores del entorno laboral mientras se encuentran afectados.

**Reservorios ambientales:** El agua contaminada puede ser la fuente de brotes de Campylobacteriosis, sobre todo por el consumo de la misma y en vinculación con actividades recreacionales. También, bajo condiciones que favorecen la replicación del germen, la contaminación fecal del suelo puede ser origen de infección humana, principalmente por el consumo de vegetales cosechados en ellas. En los países industrializados el microorganismo se transmite principalmente a través de alimentos de origen animal (el consumo de carne de ave de corral mal cocida es responsable del 50 - 70% de las infecciones esporádicas), mientras que en los países menos desarrollados predominan la transmisión por alimentos y aguas contaminadas con excretas así como el contacto directo con personas o animales enfermos.

### **8. PATOGENIA.**

El microorganismo se adquiere por vía oral (ingestión de comidas y bebidas contaminadas) o por contacto con animales infectados. *Campylobacter* es sensible al pH gástrico, por lo que debe ingerirse un inóculo de  $10^{4-6}$  para que se produzca la infección. Sin embargo en algunos casos es altamente infectivo, provocando la infección con dosis del orden de 500 microorganismos. En todo caso además de la dosis inféctante, la producción de la enfermedad depende de los mecanismos defensivos del huésped. El periodo de incubación es de 1 a 10 días con una media de 2 a 5 días. La infección afecta tanto al intestino delgado como grueso. De diferentes estudios epidemiológicos realizados en países en vías de desarrollo e industrializados se desprende la existencia de cepas con distinto grado de patogenicidad y distintas respuestas del huésped a la infección.



Estas bacterias no poseen fimbrias pero se ha demostrado que el flagelo y el LPS actúan como adhesinas que le permiten adherencia a la célula epitelial y al mucus intestinal, paso inicial para la instalación de la infección. (Fernandez H.)

## 9. CLÍNICA.

La mayoría de las infecciones por *Campylobacter spp.* producen una enfermedad gastrointestinal aguda y autolimitada. El espectro clínico de la enfermedad puede ir desde asintomático a severamente enfermo con un cuadro diarreico con fiebre y dolor abdominal, clínicamente indistinguible de las gastroenteritis producidas por *Salmonella sp.* o *Shigella spp.* La diarrea puede presentarse con o sin sangre y leucocitos fecales con 8 a 10 deposiciones por día en el pico de la enfermedad. También puede mimetizar una apendicitis aguda La infección sintomática es generalmente autolimitada, pero pueden ocurrir recaídas en un 5 - 10% de los pacientes no tratados. (*Manual of Clinical Microbiology*)

La dosis infectiva es de 500 - 1000 microorganismos. Las manifestaciones extraintestinales son bastante raras e incluyen meningitis, endocarditis, osteomielitis, artritis séptica y sepsis neonatal. La bacteriemia se presenta en menos del 1% de los pacientes con enteritis por *Campylobacter spp.*, pero es más común en los pacientes inmunosuprimidos o en los extremos de la vida. La fatalidad de las infecciones por *Campylobacter spp.* es de 0.05 cada 1000 infecciones. (Mandell G., 1991)

## 10. TRATAMIENTO.

La diarrea por *Campylobacter spp.* no requiere un tratamiento específico en la mayoría de los pacientes, salvo la rehidratación oral, debido a que generalmente son infecciones autolimitadas. La terapia antimicrobiana juega un rol menor, debido a que el paciente en general mejora antes de tener el diagnóstico. Sin embargo hay circunstancias específicas como fiebre alta, enfermedad prolongada (síntomas por más de una semana), embarazo, enfermedad sistémica y pacientes inmunocomprometidos que requieren tratamiento con antibióticos. A diferencia de lo que sucede en las infecciones por *Salmonella sp.* el



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

tratamiento antibiótico no prolonga el estado de portador.

El tratamiento de elección para las infecciones producidas por este género son los macrólidos y las quinolonas fluoradas. La eritromicina es el antibiótico de primera elección para las diarreas producidas por *Campylobacter spp.*, por su fácil administración, bajo costo, baja toxicidad, su reducido espectro de actividad y su probada efectividad clínica. (Hoge C.W. 1998.)

La segunda droga de elección tradicionalmente es la ciprofloxacina, cuyo amplio espectro permite que sea una droga útil para el tratamiento de las diarreas por *Campylobacter spp.* y de otros enteropatógenos. En los últimos años se ha producido un incremento en el porcentaje de resistencia a los antimicrobianos en este género a nivel mundial. La eritromicina sigue siendo la droga de elección. Mucho más marcado es el aumento de la resistencia a ciprofloxacina. (*Campylobacter 2000*)

Por lo tanto, se hace necesario contar con métodos estandarizados para estudiar la sensibilidad a los antimicrobianos en este género, y conocer la epidemiología propia de cada región para permitir la instauración de tratamientos antibióticos efectivos.

### **G. ANTIBIOTICOS.**

Los antibióticos, o agentes antimicrobianos, son sustancias (obtenidas de bacterias u hongos, o por síntesis química) que se emplean en el tratamiento de infecciones. La elección de uno u otro antibiótico en el tratamiento de una infección depende del microorganismo (obtenido por cultivo o supuesto por la experiencia), de la susceptibilidad del microorganismo (obtenida por un antibiograma o supuesta por la experiencia), la gravedad de la enfermedad, la toxicidad, los antecedentes de alergia del paciente y el costo. En infecciones graves puede ser necesario combinar varios antibióticos.

#### **a. MECANISMOS DE ACCIÓN Y CLASIFICACIÓN**

Los antibióticos actúan a través de dos mecanismos principales: matando los microorganismos existentes (acción bactericida), e impidiendo su reproducción (acción bacteriostática). Su mecanismo de acción predominante los divide en dos grandes grupos:





## **b. BETALACTAMICOS.**

**Generalidades.-** Los antibióticos betalactámicos representan un amplio grupo de moléculas con actividad bactericida. La característica común a todos los miembros de esta familia la determina la presencia de una lactama de cuatro miembros. Casi todos los

preparados son bicíclicos es decir, el núcleo betalactámico está unido a un segundo anillo que varía en los diferentes grupos.

Atendiendo a la estructura del núcleo, los antibióticos betalactámicos, se han clasificado de la siguiente manera:

- **Penicilinas (núcleos):** Penam, penem, clavam, clavem, carbapenam y carbapenem.
- **Cefalosporinas (núcleos):** Cefam, cefem, oxacefam, carbacefam y carbacefem.

### **Bactericidas**

- Beta-lactámicos(Penicilinas cefalosporinas)
- Glicopéptidos (Vancomicina, teicoplanina)
- Aminoglucósidos (Grupo estreptomicina)
- Quinolonas (Grupo norfloxacino)
- Polimixinas

### **Bacteriostáticos**

- Macrólidos (Grupo eritromicina)
- Tetraciclinas
- Cloramfenicol
- Clindamicina, Lincomicina
- Sulfamidas

Las cefalosporinas se clasifican en generaciones, según el tipo de bacterias que atacan:

- **Cefalosporinas de 1ª generación:** cefadroxilo, cefalexina, cefalotina, cefazolina
- **Cefalosporinas de 2ª generación:** cefaclor, cefuroxima, cefonicid, cefamandol
- **Cefalosporinas de 3ª generación:** cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefixima
- **Monobactamos.**

**Mecanismo de acción.** Se han descrito dos mecanismos que intervienen de una manera más o menos directa en la acción antibiótica de los betalactámicos. El primero es la inhibición directa de las proteínas fijadoras de penicilina (PFP) de la membrana



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

citoplasmática. El segundo mecanismo, inductor de la lisis celular, viene determinado por la acción concomitante de las autolisinas. (*láñez Pareja E. 1998*)

Las Betalactamasas podrían haber evolucionado a partir de enzimas relacionadas con la síntesis del peptidoglicano (PFPs). De la misma forma que ciertas Betalactamasas son inducibles por exposición a los antibióticos betalactámicos, también algunas PFPs son inducibles. Sin embargo no ocurre el proceso inverso, ya que no se ha observado ninguna Betalactamasa con una función directa en el metabolismo de la pared bacteriana. (*Estudio de la resistencia a los Antibacterianos*)

Las autolisinas intervienen en el crecimiento de la pared celular generando una serie de rupturas en la estructura del peptidoglicano, en la separación de las células en el momento de la división celular, en el proceso de transformación génica y en la liberación de fagos. Una vez bloqueado el crecimiento celular por la inhibición de las PFPs parece que la acción lítica de las autolisinas acabaría por completar el proceso. (*Estudio de la resistencia a los Antibacterianos*)

### **c. AMINOGLUCÓCIDOS**

Entre los aminoglucósidos más utilizados clínicamente figuran la estreptomicina, neomicina, gentamicina, kamamicina, tobramicina. (*Palomino J. 2003*)

**Mecanismo de acción.-** Inhiben la síntesis proteica, los aminoglucósidos se unen en forma irreversible a la unidad ribosómica 30S, provocando cambios configuracionales en los sitios dadores y aceptores, lo que da lugar a un complejo de iniciación incapaz de formar uniones peptídicas. Esto implica que se bloquea el ciclo ribosomal en una etapa temprana. Provocan errores de lectura del ARN mitocondrial (ARNm), algunos aminoglucósidos interfieren en la traducción cuando se unen a la unidad 30S y provocan errores de lectura del ARNm, lo que lleva a que se sintetice una cadena peptídica diferente a la que se debería sintetizar. (*Palomino J. 2003*)

### **d. QUINOLONAS**



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

Hay dos subgrupos de quinolonas. Las más antiguas (ácido nalidíxico, ácido pipemídico) sólo actúan contra algunos microorganismos Gram negativo y se utilizan sólo como antisépticos urinarios (en infecciones leves de orina). Las más recientes, o fluoroquinolonas, incluyen fármacos como norfloxacino, ciprofloxacino y ofloxacino, y son activos frente a otras muchas bacterias, incluyendo *Pseudomona*. Se reconocen en el momento actual dos grandes grupos de quinolonas: las cuatro quinolonas y las seis fluoroquinolonas. (*Quinolonas 1999*)

**Mecanismo de acción:** El mecanismo o los mecanismos mediante los cuales las quinolonas ejercen su acción, son aún motivo de discusión. De modo general se acepta que la acción bactericida de las quinolonas puede lograrse por:

1. Penetración del compuesto en el citoplasma celular.
2. Inhibición de la girasa del Acido Desoxirribunocleico (ADN) bacteriano.
3. Inhibición en la síntesis de replicación del ADN.
4. Inducción de una reacción de alarma y efectos deletéreos sobre la estructura celular y bioquímica de la bacteria.

(*Mecanismo tomado: Quinolonas y Terapia Antimicrobiana, 2003*)

### **e. MACRÓLIDOS**

Son inhibidores de la síntesis de proteínas, la eritromicina y fármacos similares (claritromicina, azitromicina, etc) son activos, sobre todo, frente a microorganismos Gram positivo y tienen utilidad en muchas infecciones (amigdalitis, infecciones bucales, neumonías ,etc), sobre todo en alérgicos a penicilina.(*Antimicrobianos, 2004*)

**Eritromicina: Mecanismo de acción y espectro de actividad:** Es un antimicrobiano macrólido generalmente bacteriostático, pero puede ser bactericida, que actúa sobre la unidad ribosomal 50S y compite por el sitio de unión con el Cloranfenicol, que aunque parecen ser diferentes interactúan entre sí. La Eritromicina bloquea la translocación del ribosoma debido a que no permite que el Ácido Ribunocleico de transcripción (ARNt) descargado abandone el sitio P (Peptidil). (*Antimicrobianos, 2004*)

### **f. TETRACICLINAS**



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

Inhibidores de la síntesis de proteínas, las Tetraciclinas (oxitetraciclina, demeclociclina, doxiciclina, minociclina, aureomicina, etc.) tienen un espectro de actividad muy amplio. Las tetraciclinas actúan sobre cocos Gram positivos y Gram negativos, enterobacterias. Se utilizan en infecciones de boca, bronquitis, e infecciones por bacterias relativamente raras. (*Antimicrobianos, 2004*)

**Mecanismo de Acción,** actúan sobre bacterias que se multiplican rápidamente y son bacteriostáticas. Son introducidas en la célula por un sistema de transporte activo formando un complejo con iones Magnesio ( $Mg^{2+}$ ). Dentro de la célula, el complejo Tetraciclina- $Mg^{2+}$  se une a residuos fosfatos de la subunidad 30S, bloquean la unión de los ARNt-aminoácido al sitio aminoacil del ribosoma e impiden el alargamiento de la cadena peptídica en formación. Además interfieren en la formación del complejo de iniciación 30S. (*Antimicrobianos, 2004*)

### **g. AMFENICOLES**

Inhibidores de la síntesis de proteínas, es un antibiótico de espectro muy amplio, pero puede producir una anemia aplásica (falta completa de glóbulos rojos por toxicidad sobre la médula ósea), que puede llegar a ser mortal. Por ello, su empleo se limita al uso tópico en colirios y gotas para los oídos; así como para infecciones muy graves cuando los otros antibióticos son menos eficaces o más tóxicos, como por ejemplo fiebre tifoidea y algunas meningitis. (*Tuotromedico, 2003*)

**Cloranfenicol: Mecanismo de Acción,** Es un antimicrobiano bacteriostático que inhibe la síntesis proteica. El cloranfenicol se une estereoespecíficamente a las unidades ribosomales 50S inhibiendo la formación de uniones peptídicas (no interfiere con la iniciación de la síntesis proteica). (*Tuotromedico, 2003*)

### **h. LINCOMICINA Y CLINDAMICINA: ESPECTRO DE ACTIVIDAD**

Inhibidores de la síntesis de proteínas, son activos también frente a microorganismos Gram positivo, pero además pueden con otros microorganismos llamados anaerobios. También se emplean en infecciones de hospital, sobre todo en alérgicos a penicilina. La Clindamicina se utiliza tópicamente en algunas infecciones de piel. (*Tuotromedico, 2003*)



**Mecanismo de acción,** se unen a la unidad 50S, compiten con el cloranfenicol por el sitio de unión al ribosoma y su acción bacteriostática es similar, inhiben la formación de las uniones peptídicas, pero además producen una rápida destrucción de los polirribosomas. (Tuotromedico, 2003)

## H. RESISTENCIA BACTERIANA

Cada antibiótico se caracteriza por un espectro natural de actividad antibacteriana. Este espectro comprende las especies bacterianas que, en su estado natural, sufren una inhibición de su crecimiento por concentraciones del antibiótico susceptibles de ser alcanzadas in vivo. A estas especies bacterianas se les dice naturalmente sensibles a dicho antibiótico. Las especies bacterianas que no se encuentran incluidas dentro de dicho espectro se denominan naturalmente resistentes

El antibiótico no crea resistencia pero selecciona las bacterias resistentes eliminando las sensibles. Es lo que se conoce con el nombre de presión de selección. El aumento de la frecuencia de las cepas resistentes va unido casi siempre al uso intensivo del antibiótico en cuestión.

**Resistencia natural:** Se conoce como *resistencia natural* a los mecanismos permanentes determinados genéticamente, no correlacionables con el incremento de dosis del antibiótico.

**Resistencia adquirida:** Aparece por cambios puntuales en el DNA (mutación) o por la adquisición de éste (plásmidos, trasposones, integrones). En el primero se dan casos tales como la transformación de una Betalactamasa en una Betalactamasa de espectro extendido o como en el caso de mutaciones de los genes que codifican las porinas con el consecuente bloqueo del ingreso del antibiótico al interior del microorganismo. Existen otras denominaciones de resistencia como son:

**Resistencia relativa o intermedia:** ocurre un incremento gradual de la MIC (concentración inhibitoria mínima) a través del tiempo. Para obtener un efecto terapéutico es necesario alcanzar niveles séricos y tisulares adecuados. La susceptibilidad o resistencia del germen es en este caso dependiente de concentración.



**Resistencia absoluta:** sucede un incremento súbito en la MIC de un cultivo durante o después de la terapia. Es inefectivo el incremento de la dosis clínica usual. Ejemplo de ello es la *Pseudomonas spp.* resistente a gentamicina y el *Streptococcus pneumoniae* altamente resistente a penicilina y uso de levofloxacina.

**Seudoresistencia:** ocurre una resistencia *in vitro* pero una gran efectividad *in vivo*.

## 1. Mecanismos Bioquímicas de Resistencia

Desde el punto de vista molecular y bioquímico existen básicamente tres mecanismos por medio de los cuales una bacteria puede hacerse resistente al efecto del antibiótico, a saber:

- Inactivación del antibiótico.
- Barreras de permeabilidad
- Alteración del sitio blanco del antibiótico

Cabe resaltar que los tres mecanismos pueden ocurrir simultáneamente.

### 2.1. *Inactivación del antibiótico.*

Se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico. Son ejemplos de esta la producción de B-lactamasa, de amplio espectro, eritromicina estereasa y enzimas modificadoras de aminoglucósidos, cloramfenicol, lincosamidas y estreptograminas. Sabemos que los antibióticos, B-lactámicos como penicilina, oxacilina, cefalosporinas, actúan inhibiendo la enzima D-alanil D-alanin carboxipeptidasa (PBPS) encargada de la síntesis de la pared. La B-lactamasa hidroliza el enlace amida del anillo penicilánico o cefalosporínico resultando un derivado ácido inactivo. Se trata de un sistema enzimático amplio, común y eficiente de resistencia frecuentemente producidas por bacterias Gram negativas

### 2.2. *Barreras de permeabilidad.*

Incluye tres componentes básicos:



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

- La estructura de la membrana externa de la bacteria.
- Las porinas. Canales inespecíficos que excluyen el antibiótico por tamaño molecular.
- Características fisicoquímicas del antimicrobiano. En el caso de los medicamentos hidrofílicos (imipenem) requieren presencia de porinas para su transporte al interior de la célula.

Existen fundamentalmente dos mecanismos de resistencia:

### **a. Entrada disminuida.**

- **Permeabilidad de la membrana externa:** claramente definida en los microorganismos Gram negativos que poseen una membrana lipídica externa que constituye una barrera intrínseca para la penetración de antibiótico.
- **Permeabilidad de la membrana interna:** otra forma de resistencia de la bacteria consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva el antibiótico hacia el interior de la célula. La presencia de capa lipídica en la membrana actúa como un mecanismo de resistencia para medicamentos hidrofóbicos.
- **Porinas:** son canales de difusión presentes en la membrana externa de la bacteria. De la modificación por mutación de estas proteínas se genera una disminución del paso del antibiótico.

### **b. Eflujo activo.**

Es debido a la presencia de proteínas de membrana especializadas. Se altera la producción de energía y se disminuye no solamente la entrada del antibiótico sino que a su vez las bacterias reducen la concentración del antibiótico y se promueve la extracción activa del mismo. Confiere resistencia a tetraciclinas, fluoroquinolonas, cloramfenicol y B-lactámicos, antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario.

## **2.3. Alteración del sitio blanco.**



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

En este mecanismo de resistencia bacteriana se modifican algunos sitios específicos de la anatomía celular, como pared celular, subunidad 50s, 30S ribosomales, etc. De esta manera la modificación de enzimas catalizadoras en la producción de proteoglicanos celulares, conferirán resistencia a los b-lactámicos, dado que es esta enzima su sitio de acción. Esta resistencia es común en enterobacterias y puede desarrollarse en *Staphylococcus*, *N. meningitidis* y *H. influenzae*.

Respecto a las demás estructuras ribosomales encontramos modificaciones a nivel de múltiples subunidades como 30s, 50s. Sitios de acción de aminoglucósidos, lincosamidas, macrólidos y tetraciclinas. Por ejemplo: la metilación ARN ribosomal de la subunidad 50S es el mecanismo de resistencia de *S. aureus*, *Bacteroides fragilis* y *Clostridium perfringens* a tetraciclinas, cloramfenicol y macrólidos. El mecanismo de resistencia (ribosomal) a gentamicina, tobramicina y amikacina es poco frecuente y consiste en la mutación del péptido S12 de la subunidad 30S.

### **I. SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA *Campylobacter***

**Resistencia natural:** *C. jejuni* y *C. coli* son resistentes naturales a las penicilinas y cefalosporinas de 1° y 2° generación debido a que estos antimicrobianos ven dificultado su ingreso a través de las porinas de membrana externa. También son resistentes a trimetoprima, sulfametoxazol, vancomicina, estreptograminas B y rifampicina. Esta resistencia natural fue aprovechada por Butzler y Skirrow para la elaboración de medios selectivos para el aislamiento de estas especies a partir de muestras de materia fecal.

Otras especies como *C. lari*, *C. fetus* *sbp. fetus* y *sbp. veneralis* y *C. hyointestinalis* presentan resistencia natural al ác. nalidíxico, sin embargo, no presentan resistencia cruzada a ciprofloxacina u otras fluorquinolonas (Taylor D, 1988)

**Resistencia adquirida:** Los primeros estudios sobre la sensibilidad de *C. jejuni* y *C. coli* a los antimicrobianos, los describen como altamente sensibles a eritromicina, quinolonas fluoradas, tetraciclina, aminoglucósidos y clindamicina y moderadamente sensibles a cloranfenicol, cefotaxima, ceftazidima y cefpirome. Lamentablemente esta situación ya no es la misma y la resistencia a los antimicrobianos en este género ha ido en aumento y varía mucho según la región, por lo que se hace necesario tener datos de resistencia





## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

locales para asegurar un tratamiento adecuado para las infecciones por *Campylobacter spp.*

**Multiresistencia:** Habiéndose hallado una cepa multiresistente (resistente a eritromicina, Tetraciclina, cloranfenicol, beta lactámicos y quinolonas), se propuso la posibilidad de que se tratara de una cepa mutante con bomba de eflujo.

Se ha descrito en *Salmonella enteritidis* y *E. coli*, la presencia de la bomba de eflujo tipo **AcrAB** asociada a mutiresistencia a antibióticos desinfectantes, colorantes, detergentes y solventes orgánicos. Adicionalmente se ha demostrado que **Acr AB** esta regulada por los genes **marRAB** y/o **soxRS**. Las cepas que presentan esta resistencia a múltiples antibióticos, desinfectantes, colorantes, detergentes y solventes orgánicos son denominados generalmente como mutantes MAR.

Una bomba de multi eflujo **CmeABC** ha sido identificada recientemente en *C. jejuni*. La secuencia de aminoácidos **CmeB** muestra un 52 % de similitud a la secuencia de aminoácidos de **AcrB** de *E. coli*. En *C. jejuni* wilde type esta bomba a demostrado un cambio doble a cuádruple en la susceptibilidad a ampicilina, ciprofloxacina, eritromicina, tetraciclina, Bromuro de Etilo y naranja de acridina y también ha demostrado ser activa en el eflujo de Ciprofloxacina y Bromuro de Etilo. (Lachance, N...)

**Macrólidos,** desde el reconocimiento del *Campylobacter spp.* como causa de enteritis a fines de los setentas, la eritromicina es la droga de elección para el tratamiento de pacientes que padecen esta infección. Los porcentajes de resistencia a eritromicina en *C. jejuni* van de 0 a 11%. En muchos países la resistencia a eritromicina se asocia más frecuentemente a *C. coli* (0 al 68%) ya que su principal reservorio, los cerdos, son tratados con tylosin (eritromicina) como estimulante de crecimiento. Países como España, Taiwán y Tailandia son los que muestran mayores porcentajes de resistencia a eritromicina, mientras que aún se observan bajos niveles de resistencia en Canadá, Finlandia, Japón y Dinamarca. (Yan W, 1991)

El mecanismo de resistencia es cromosómico y no está relacionado con la presencia de una metilasa, ni modificación del antibiótico, ni eflujo, sino que estaría mediado por la presencia de una mutación en el sitio de unión en el ribosoma bacteriano, ya sea alguna



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

de las proteínas ribosomales o en el RNA de la subunidad 23S del ribosoma (Yan W, 1991)

Generalmente la resistencia a eritromicina da resistencia cruzada al resto de los macrólidos de 14 y 15 miembros, lincosaminas y streptogramina B.

**Quinolonas**, las fluorquinolonas son una de las familias de antibióticos más ampliamente usadas en el mundo y son una de las drogas de elección para el tratamiento de la diarrea aguda bacteriana incluyendo la enteritis por *Campylobacter spp.* Desafortunadamente a partir de 1990 la resistencia a ác. nalidíxico y fluorquinolonas ha ido en aumento en el género *Campylobacter* debido a la introducción de la enrofloxacin (un derivado de la ciprofloxacina) en la medicina veterinaria y en menor medida al uso de fluorquinolonas en humanos. Los porcentajes de resistencia llegan a niveles alarmantemente altos de 56.9 a 88% en países como Taiwán, Tailandia y España, mientras que en otros países como Estados Unidos, Reino Unido y Canadá si bien la resistencia aumentó a partir de 1990, los porcentajes permanecen en niveles inferiores al 20% (Engberg J.2001)

El mecanismo más frecuente de resistencia a quinolonas en *Campylobacter spp.* es la presencia de mutaciones en los genes que codifican las subunidades gyrA de la DNA girasa y parC de la topoisomerasa IV. La mutación más frecuentemente hallada en muestras clínicas es la sustitución Thr 86-Ile, la cual se asocia a un alto nivel de resistencia a ác. nalidíxico y a ciprofloxacina. (Gootz T, 1991)

**Tetraciclina**, la tetraciclina es usada como alternativa para el tratamiento de las enteritis por *Campylobacter spp.*, pero se han observado tasas de resistencia variables en todo el mundo: Dinamarca (11%), España (25%), EEUU (48%), Canadá (55%), Israel (70%), y Taiwán (85-95%). (*Campylobacter*, 2000)

La resistencia a tetraciclina en este género está mediada por plásmidos, los cuales presentan un muy pequeño rango de huéspedes y solo se transfieren entre especies de *Campylobacter*. El determinante de resistencia codificado en el plásmido es el gen tetO que determina la protección ribosomal y codifica para una GTPasa estimulada por el ribosoma que presenta una gran similitud aminoacídica con los factores de elongación ribosomales. Tet O se une al ribosoma pre-traslocacional desplazando a la tetraciclina y



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

luego hidroliza el GPT y se disocia del ribosoma, por lo que restablece la tasa de elongación y hace que la síntesis de proteínas progrese en presencia de tetraciclina (Taylor D. E ,1996)

La gran variabilidad de la resistencia a tetraciclina a nivel mundial, junto al hecho de que está contraindicada en niños, hace que su uso para el tratamiento de las campylobacteriosis esté limitado.

**Cloranfenicol**, La resistencia al cloranfenicol en las especies de *Campylobacter* es rara, aunque se documentaron tasas entre 0,6-10%. (*Campylobacter*, 2000)

La resistencia se debe a la presencia de un plásmido que codifica una enzima que acetila el cloranfenicol (Cloranfenicol Acetil Transferasa) evitando que éste se una al ribosoma e inhiba la síntesis proteica. A pesar de que se trata de una droga muy activa in vitro, no se emplea para el tratamiento de las enfermedades producidas por *Campylobacter spp* debido a su alta toxicidad.

**Antibióticos  $\beta$ -lactámicos**, *C. jejuni* y *C. coli* son resistentes a la mayoría de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Imipenem es el más activo frente a este género, mientras que cefotaxima y cefpirome presentan una actividad moderada, y dentro de las penicilinas, amoxicilina mostró ser la más activa (Page W ,1989).

Entre el 83-92% de los aislamientos de *C. jejuni* y el 68% de los aislamientos de *C. coli* son productores de  $\beta$ -lactamasa. Esta enzima es inhibible por ácido clavulánico y parece afectar solamente los valores de CIM de ampicilina, amoxicilina y ticarcilina, pero sin embargo no representa un mecanismo de resistencia eficiente. A pesar del alto porcentaje de cepas productoras de  $\beta$ -lactamasa, no se observan valores de CIM muy elevados para los antibióticos que se comportan como sustratos. Si bien la mayoría de las cepas se mantienen sensibles a las aminopenicilinas, la ampicilina no es un tratamiento recomendado para las infecciones por *Campylobacter spp*. (Lachance N, 1991)

En general, los antibióticos  $\beta$ -lactámicos no son utilizados para el tratamiento de infecciones producidas por *Campylobacter spp*, aunque imipenem y amoxicilinaclavulánico podrían ser efectivos para el tratamiento de infecciones sistémicas por estos microorganismos.



## **J. ANTIBIOGRAMA**

El antibiograma es un test de resistencia o sensibilidad de las bacterias bajo la acción de diversos antibióticos. Si un microorganismo está en contacto con la droga y aún así persiste su capacidad vital, se deduce la inoperancia farmacológica del producto para tal germen. Hay resistencia al antibiótico. Inversamente si la zona que rodea al antibiótico está totalmente libre, o sea, que no hay desarrollo de la bacteria: esta es sensible a la droga. Esta zona circundante al antibiótico, llamada halo de inhibición, es de gran valor clínico para iniciar, continuar o modificar una terapia.

### **1. SENSIBILIDAD BACTERIANA A LOS ANTIBIOTICOS.**

La concentración mínima inhibitoria (CIM) es la base de la medida de la sensibilidad de una bacteria a un determinado antibiótico. La CIM se define como la menor concentración de una gama de diluciones de antibiótico que provoca una inhibición de cualquier crecimiento bacteriano visible. Es el valor fundamental de referencia que permite establecer una escala de actividad del antibiótico frente a diferentes especies bacterianas.

Hay diferentes técnicas de laboratorio que permiten medir o calcular de rutina y de manera semicuantitativa, la CIM (Métodos manuales y métodos automatizados). Estos diferentes métodos de rutina permiten categorizar una cierta cepa bacteriana en función de su sensibilidad frente al antibiótico probado, según la CLSI:

**Sensible (S)**, si existe una buena probabilidad de éxito terapéutico en el caso de un tratamiento a la dosis habitual.

**Intermedia (I)**, Cuando el éxito terapéutico es imprevisible. Se puede conseguir efecto terapéutico en ciertas condiciones (fuertes concentraciones locales o aumento de la posología).

**Resistente (R)**, si la probabilidad de éxito terapéutico es nula o muy reducida. No es de esperar ningún efecto terapéutico sea cual fuere el tipo de tratamiento.



## **2. INTERPRETACION DEL ANTIBIOGRAMA**

Ciertos mecanismos de resistencia se expresan débilmente in Vitro, cuando se inscriben en el DNA bacteriano. Su expresión en el organismo, en donde las condiciones en cuanto a medios son diferentes, expondría a riesgos de fracaso terapéutico, para evitar esto, el antibiograma debe ser interpretado de manera global a fin de descubrir, a través de la comparación de las respuestas para cada antibiótico, un mecanismo de resistencia incluso débilmente expresado. Así, gracias a la interpretación, una cepa que aparece como falsamente sensible será categorizada como I o R

## **3. METODO DE DIFUSION EN DISCO (O METODO Bauer Kirby)**

Este método fue descrito inicialmente por Vincent y Vincent en 1944 y modificado parcialmente por otros investigadores. Las técnicas de un antibiograma requieren experiencia en el laboratorio y conocimientos bacteriológicos adecuados, de lo contrario se cometen errores importantes de repercusión clínica.

Se emplean discos de papel impregnados de antibiótico localizados en zonas libres de microorganismos con dosis seriada. Observando el tamaño del halo de inhibición de crecimiento se puede obtener resultados semicuantitativos. La sensibilidad está determinada por el diámetro del halo cuya lectura viene estandarizada.

El microorganismo a investigar se inocula en una o varias placas de agar y sobre superficie se disponen los discos correspondientes a varios antibióticos. Se incuban las placas durante 16 – 24 horas a 35°C y al cabo de este tiempo se estudia el crecimiento en ellas. Se valora el diámetro de la zona de inhibición que se forma al rededor de cada disco y se compara con las referencias oportunas publicadas por el CLSI. Con esta referencia podemos informar si el microorganismo es Sensible (S), Intermedio (I) o Resistente (R) a cada uno de los antibióticos ensayados en placas.

Factores a tener en cuenta que podrían causar problemas a la hora de la terapéutica.

- Consistencia del medio de cultivo
- Cantidad de antibiótico contenida en cada disco ensayado
- Material infeccioso fresco



### ***Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana***

---

- Tiempo de incubación y espera para efectuar la lectura
- Medición correcta (en milímetros) del halo inhibitorio
- Calidad de la inhibición
- Prever contaminación (posible) del antibiograma por empleo de técnicas defectuosas.

Cabe resaltar que el laboratorista realiza comúnmente la técnica de difusión en disco en placa de petri, porque es más sencillo y menos costoso que la técnica de dilución en tubo.



## *IV. JUSTIFICACION.*



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

Estudios realizados sugieren que más de dos millones de casos estimados anualmente tienen una incidencia similar en otros países desarrollados. Siendo la tercera causa de enfermedad diarreica asociada a la ingesta de agua y alimentos. Las personas que viajan a países en desarrollo presentan un riesgo de presentar una infección por *Campylobacter*.

Según estudios realizados se sabe que la resistencia de *Campylobacter spp* a antimicrobianos parece ser un problema emergente en varios países. Estudios realizados en Chile muestra la resistencia a Eritromicina y Ciprofloxacina lo que demuestra la importancia de vigilar *Campylobacter spp*.

En Bolivia, no se tiene una vigilancia específica que permita ver cuál es el comportamiento de *Campylobacter spp.* a los diferentes antimicrobianos

Con este estudio se pretende mostrar cual es el perfil de resistencia del microorganismo *Campylobacter spp.* aislado en cultivos de muestras biológicas recolectadas en Hospital Boliviano Holandés, Hospital Arco iris, Clínica AMID y SELADIS, de septiembre 2005 a Noviembre 2006, para contribuir con información que oriente la formulación de políticas para el uso racional de antibióticos, la elección empírica de los mismos, la creación de programas de educación continua para el personal profesional de acuerdo a las necesidades y características de resistencia y subrayar la necesidad de una vigilancia permanente de la resistencia bacteriana antibiótica a *Campylobacter spp.*





## *V. OBJETIVOS.*

---

---



**A. Objetivo General:**

Determinar el perfil de resistencia antibiótica por el método de difusión en disco (Bauer Kirby) en *Campylobacter spp* aislados en Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris, Clínica AMID, SELADIS durante el periodo de Septiembre 2005 a Noviembre 2006 en La Paz –Bolivia.

**B. Objetivos Específicos**

- Recolectar muestras de heces de Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris, Clínica AMID y SELADIS.
- Identificar cepas de *Campylobacter spp*
- Realizar la bioquimiotipificación para la determinación de especies de *Campylobacter*.
- Realizar pruebas de sensibilidad y resistencia a las cepas obtenidas de *Campylobacter spp*.



## *VI. DISEÑO METODOLÓGICO.*



## **A. UNIVERSO**

Aislamientos de *Campylobacter spp.* obtenidos de muestras de los pacientes de Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco iris, Clínica AMID y SELADIS.

## **B. MUESTRA**

44 aislamientos de *Campylobacter spp.* obtenidas de muestras de los pacientes de Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco iris, Clínica AMID y SELADIS.

- **Criterios de inclusión.-**

Se incluyeron en este estudio aquellas muestras que dieron positivo para el aislamiento de *Campylobacter spp.*

- **Criterios de exclusión.-**

Se excluyeron aquellas muestras que dieron negativo para el aislamiento de *Campylobacter spp.*

## **C. TIPO DE INVESTIGACION**

El presente trabajo busca especificar las características de susceptibilidad siendo este estudio de carácter descriptivo por que cumple con las condiciones de persona tiempo lugar.



*VII. METODO Y TECNICAS DE*  
*PROCEDIMIENTO.*



**A. MATERIALES:**

1. Asa de nicromo
2. Hisopos estériles
3. Estándar de Mac Farland 0.5.
4. Agar Muller Hinton con sangre de cordero
5. Agar sangre de Carnero (ASC)
6. Discos impregnados de antibióticos.
  - a. Ciprofloxacino (CIP)
  - b. Eritromicina (ERI)
  - c. Tetraciclina (TET)
  - d. Nitrofurantoina (NIT)
  - e. Gentamicina (GEN)
  - f. Cloranfenicol (CMP)
  - g. Clindamicina (CLI)
  - h. Imipenem (IMP)
  - i. Amoxicilina/clavulánico (AMC)
7. Cajas de petri
8. Tubos de vidrio
9. Incubadora 37<sup>a</sup> C
10. Regla graduada en milímetros
11. Tablas con perfiles de Susceptibilidad antibiótica de *Campylobacter spp.* de la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
12. Pinzas
13. Mechero
14. Campana bacteriológica



## B. METODOLOGIA

### 1. OBTENCION DE LA MUESTRA.

Se obtuvieron muestras de heces de Hospital Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris, Clínica AMID y SELADIS. El método recomendado para la toma de muestra es una porción de la deposición espontánea en un frasco pequeño.



### 2. RECOLECCION DE LA MUESTRA Y TRANSPORTE.

Una vez obtenidas las muestras se empleó el medio de transporte Cary Blair (mantiene de 1 a 2 semanas a 4°C), conservando a temperatura ambiente y posteriormente transportados a INLASA – Unidad de Bacteriología Clínica para su posterior procesamiento.

### 3. AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE *Campylobacter spp.*

#### 3.1. CULTIVO

Se realizó el cultivo por el método de filtro bajo el principio de que *Campylobacter* puede pasar a través de la membrana de filtro de acetato de celulosa (poro 0.45µm - 0.65 µm), con relativa facilidad, debido a su grosor, mientras otros microorganismos de la flora intestinal son retenidos durante el corto tiempo de procesamiento. De esta manera se obtiene un cultivo



selectivo, situación que reemplaza la adición de antibióticos, para eliminar la flora acompañante. Este método se recomienda para el aislamiento de *Campylobacter spp.*

Cabe resaltar que este método no puede reemplazar a los medios selectivos, sino complementarlos.



### 3.1.1. METODO DE FILTRACION PARA LA DETECCION DE *Campylobacter spp*

#### a. PROCEDIMIENTO.

El medio de cultivo utilizado fue agar base columbia (OXOID código CM 0331 B) con sangre de codero al 5%, acomodar con una pinza los filtros estériles de celulosa, esperar a que se adhieran al medio. (Ver anexo 1). Se realizó una suspensión de materia fecal en solución fisiológica y con una micropipeta o pipeta Pasteur, depositar aproximadamente 100  $\mu$ l (10 – 15 gotas) sobre la membrana, tratando que no se derrame sobre el medio de cultivo. Se dejo filtrar por un tiempo mínimo de 30 minutos, luego levantar el filtro con la pinza y desecharlo y acondicionar las placas en jarras para incubar en microaerofilia a 37°C durante 24-48 horas. (Ver anexo 2) Si la diarrea es acuosa, no es necesario realizar una suspensión en solución fisiológica. (Ver Esquema 1)



### 3.2. INCUBACIÓN

El tiempo de incubación ideal es de 48 horas aunque si el caso lo requiere se puede examinar a las 24 horas. La incubación es un ambiente microaerofílico, para generar el ambiente de microaerofilia se utilizó el método de la jarra con vela, la combustión de la vela aporta una atmosfera de 17 – 19% de oxígeno y de 2 – 4% de dióxido de carbono, este ambiente mejora el aislamiento de *Campylobacter*. (Fernández H.)

### 3.3. TEMPERATURA DE INCUBACION

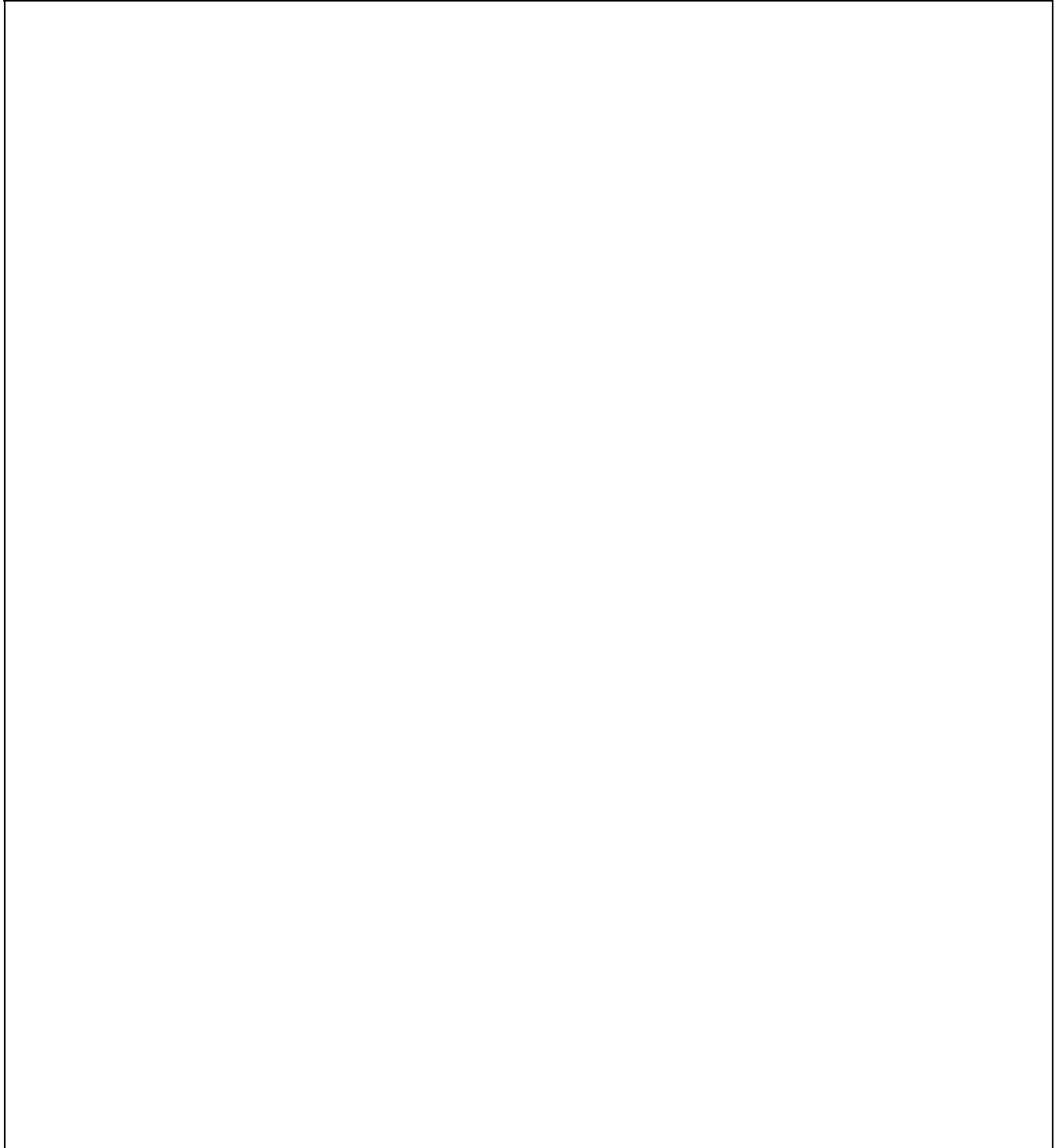
La temperatura empleada para el aislamiento de *Campylobacter* fue 37°C





**Esquema 1**

**Técnica de Filtración con Membrana de Celulosa para la detección de  
*Campylobacter spp* en Heces**





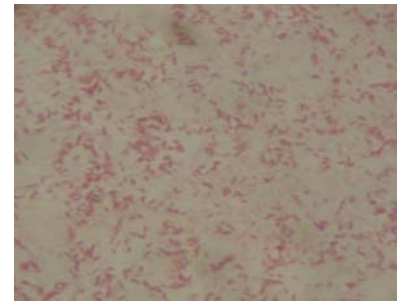
### 3.4. IDENTIFICACION

#### 3.4.1 Observación macroscópica

Las colonias sospechosas pueden observarse planas, no hemolíticas de aspecto acuoso, con bordes irregulares. Muchas veces se pueden ver incoloras. (Ver Anexo 3)

#### 3.4.2 Observación microscópica.

Para la identificación de *Campylobacter ssp* se realizó, Tinción Gram: donde se observó bacilos gram negativos curvos, forma de S, forma de alas de gaviota o espiralada, su tamaño oscila entre 0.6 a 1  $\mu\text{m}$  de diámetro su tamaño promedio aproximadamente 0.8  $\mu\text{m}$  de diámetro. (Ver anexo 5)



*Campylobacter spp*  
Tinción Gram LNRBC - INLASA

#### 3.4.3 Prueba de catalasa. ( debe ser positiva)

Prueba de catalasa, con la aguja bacteriológica recoger una colonia de un cultivo sospechoso de *Campylobacter* colocar portaobjetos y agregar una gota de peróxido de hidrogeno 30% sobre la colonia. (Ver anexo 6)



#### 3.4.4 Prueba de oxidasa. (Debe ser positiva)

Prueba Citocromo oxidasa, utilizando papel filtro con dihidrocloruro de tetrametil p-fenilendiamina al 1 %, sobre una placa de vidrio inocular con un aplicador de plastico



colonias sopechosas de *Campylobacter*. (Ver anexo 7)

### **3.4.5 Hidrólisis del Hipurato**

Suspender una ansada de la cepa en 400µl de una solución hipurato de sodio al 1%. Luego de incubar a 37°C durante 2 horas, se le agrega 200 µl de solución de ninhidrina al 3,5% en acetona-butanol 1:1 por la pared del tubo y se deja en reposo a 37°C observándolo a los 10 minutos. La aparición de una coloración azul-violeta indica una reacción positiva que revela la presencia de glicina, producto final de la hidrólisis del hipurato. (Ver anexo 8)



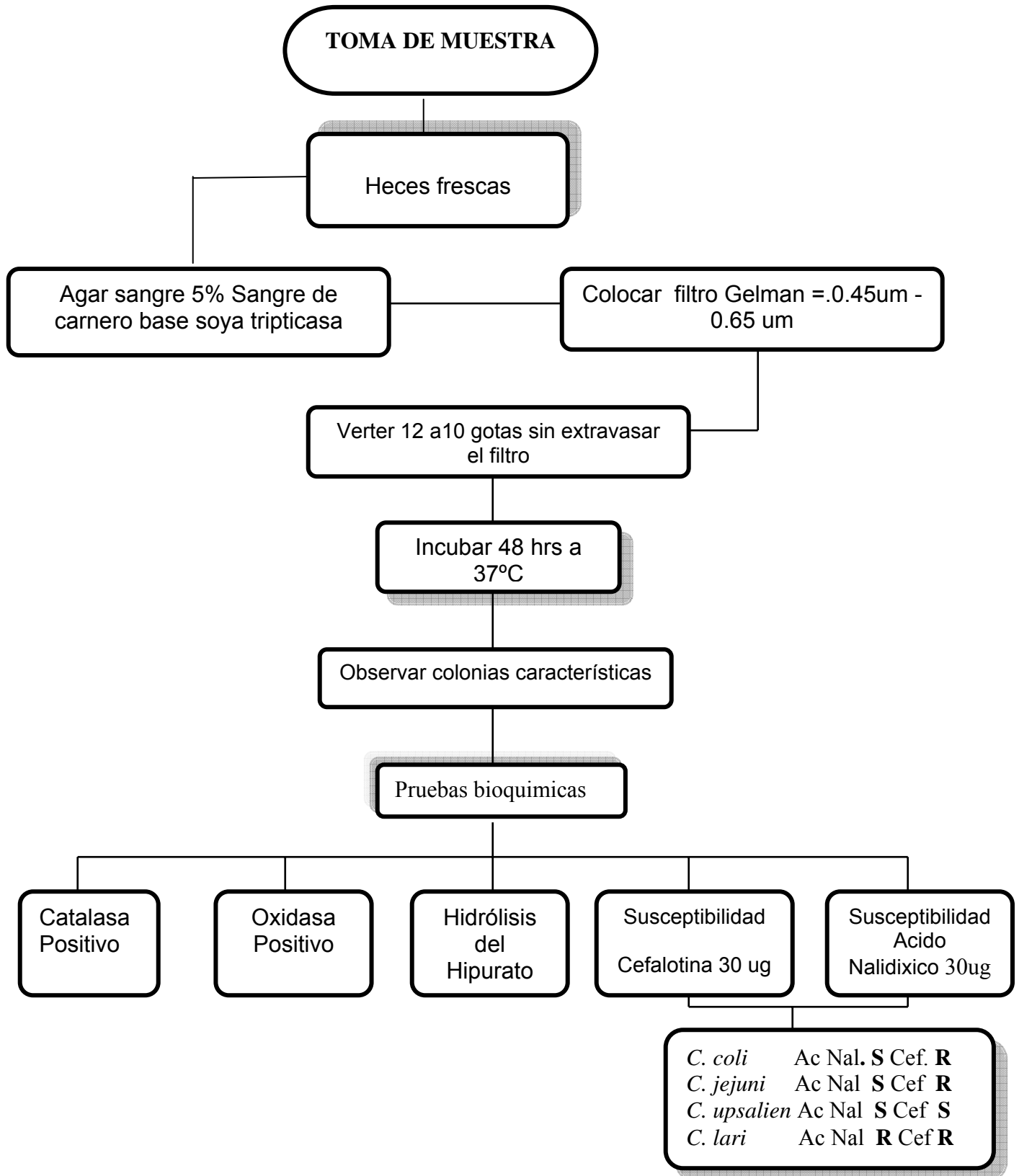
### **3.4.6 La prueba de sensibilidad al ácido nalidíxico**

Es de utilidad para diferenciar las especies resistentes naturales a este antimicrobiano (*C. lari*, *C. fetus* y *C. upsaliensis*), pero con la emergencia y diseminación de la resistencia adquirida a ciprofloxacina, que cruza con las viejas quinolonas, están aumentando las cepas de *C. jejuni* y *C. coli* con resistencia al ác. nalidíxico lo que limita su uso en la tipificación. (Esquema 2)



Esquema 2.

**PROTOCOLO PARA EL AISLAMIENTO DE  
*Campylobacter spp***





#### 4. ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIOTICA.

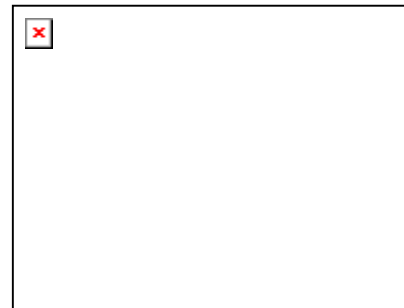
El medio de cultivo de utilizado para las pruebas de sensibilidad por el método de difusión en agar para el género de *Campylobacter* es el agar Müller Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero (MHS). El agregado de sangre sustenta mejor el crecimiento del *Campylobacter spp.* y hace más clara la lectura de los halos de inhibición. (Celeste Lucero,.. )



#### 4.1 PROCEDIMIENTO.

##### 4.1.1 Estandarización del inóculo

A partir de un cultivo fresco (48hs a 37°C) en placa tomar 3 o 4 colonias del microorganismo a estudiar y resuspenderlas en un tubo con solución fisiológica. Ajustar la turbidez de la suspensión por comparación visual, hasta turbidez equivalente al patrón 0,5 de la escala de Mc Farland. Para ello, observar los tubos contra un fondo blanco con una línea negra como contraste. Una turbidez equivalente al 0.5 de Mc. Farland representa aproximadamente  $10^8$  ufc/ml. (Celeste Lucero,..)



##### 4.1.2 Siembra de las placas

Dentro de los 15 minutos después de ajustado el inóculo, se inoculo la superficie seca del MHS. Sumergiendo el hisopo en la solución del inóculo humedeciéndolo completamente. Presionando el hisopo contra las paredes del tubo a fin de escurrir el exceso de inóculo y siembra por hisopado en tres direcciones rotando la placa 60° cada vez para asegurar una





## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

completa distribución del inóculo. Antes de aplicar los discos esperar de 3 a 5 minutos, no más de 15 min. esto para que el exceso de humedad superficial sea absorbido. Es importante que las placas estén bien secas antes de usar. (el agua de condensación sobre la superficie del agar provoca el corrimiento de las colonias de *Campylobacter spp* sobre la superficie del agar y produce halos irregulares difíciles de leer) (Esquema 3)

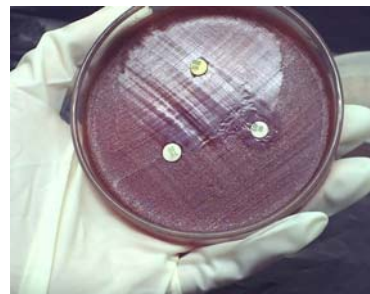
### 4.1.3 Procedimiento para colocar los sensidiscos

a. Se procedió a sacar los contenedores serrados del refrigerador antes de la utilización de los discos para permitirles equilibrar su temperatura a la del laboratorio.

b. Con una pinza estéril se coloca los sensidiscos sobre la superficie del agar inoculado apretando suavemente aplicando cada disco para asegurar su total contacto con la superficie del agar. Los discos se colocaron individualmente y uniformemente de tal manera que no estén cerca uno del otro (tres discos por caja), debido a que los diámetros de los halos esperados con algunos antimicrobianos frente a las cepas de *Campylobacter spp.* miden entre 30 y 50 cm., por ello no deben colocarse más de 3 discos por placa de 90 mm.

c. Dentro de los 15 minutos posteriores de haber aplicado los discos se procede a invertir las placas y colocarlas en la estufa a 37°C por 24 hrs, en ambiente microaerófilico.

d. Cada placa se examino después de 24 horas de incubación se verificó que el crecimiento sea confluyente y se midió en milímetros los diámetros de las zonas de completa inhibición (medida visual) con la regla se mide los diámetros de las zonas de inhibición. El punto final deberá tener en cuenta el área que no muestre crecimiento visible evidente detectado por el ojo, no incluyendo velo de crecimiento o colonias muy pequeñas que son detectadas con mucha dificultad. Los resultados se interpretaron por el diámetro de la zona de inhibición por referencia con tablas. (Ver anexo 10)

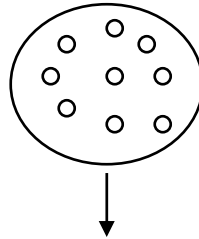




**Esquema 3.**

**Preparación del inóculo para el método de difusión en disco  
*Campylobacter spp.***

Seleccionar de 7 – 9 colonias



Resuspenderlas en 3 – 4 ml de solución fisiológica



Comparar con el patrón de turbidez



Suspensión bacteriana

$10^8$  cél/mL



0.5 Mc. Farland

Inóculo método de difusión en disco  
(Método de Bauer Kirby)



#### **4.1.4 Control de los sensidiscos**

El control de calidad de los sensidiscos se realizó simultáneamente por el método ya descrito y empleando la cepa *E. coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los halos de inhibición se compararon con los halos estándar que debe mostrar la cepa de referencia de acuerdo a tablas (ver anexo)

#### **4.1.5 Conservación**

Para mantener una cepa por un tiempo prolongado (1 año), es necesario cultivo de 48 horas debe ser una gran cantidad de colonias asiladas de *Campylobacter spp.*, colocar en un ependorff que contiene el medio de conservación utilizado caldo BHI con glicerol al 20% conservar a menos 70°C

En estas condiciones el microorganismo se mantiene viable. Para recuperarlo, en una placa de agar sangre 5% sangre de carnero base columbia.





## *VIII. RESULTADOS.*

---

---

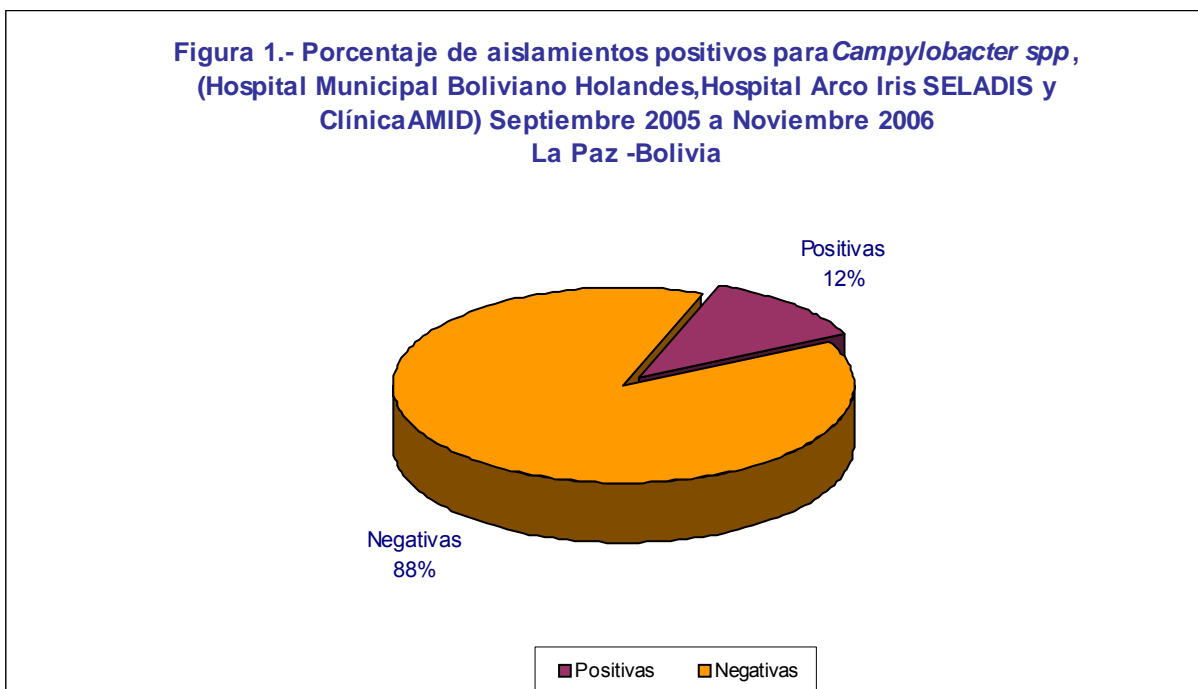


## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

**Tabla 1.-** Total de aislamientos e identificación de *Campylobacter spp.* (Hospital Boliviano Holandés, SELADIS, Clínica AMID y Hospital Arco Iris), Septiembre 2005 a Noviembre 2006 La Paz - Bolivia.

	<b>Numero muestras</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Positivas</b>	44	11,9
<b>Negativas</b>	326	88,1
<b>Total</b>	370	100

**Figura 1.-** Porcentaje de aislamientos positivos para *Campylobacter spp.*, (Hospital Municipal Boliviano Holandes, Hospital Arco Iris SELADIS y Clínica AMID) Septiembre 2005 a Noviembre 2006 La Paz -Bolivia



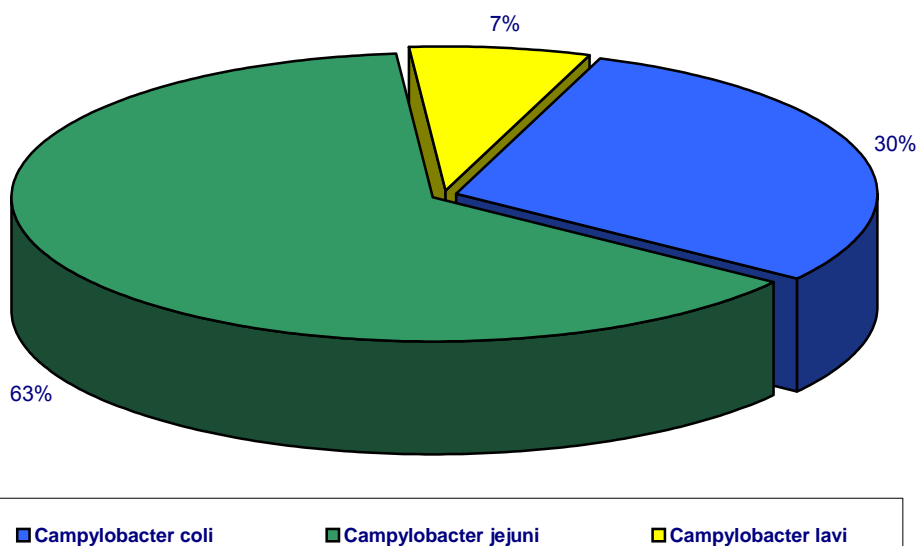
En el período entre Septiembre del 2005 – Noviembre 2006 se tomaron un total de 370 muestras de heces recolectadas de los diferentes hospitales de los cuales 44 fueron confirmadas como *Campylobacter spp.*



**Tabla 2.-** Distribución de cepas aisladas según especie de *Campylobacter*, (Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris, SELADIS, y Clínica AMID), Septiembre 2005 a Noviembre 2006  
La Paz - Bolivia

Cepa	Numero muestras	Porcentaje
<i>Campylobacter jejuni</i>	28	63,6
<i>Campylobacter coli</i>	13	29,6
<i>Campylobacter lari</i>	3	6,8
<b>Total</b>	<b>44</b>	<b>100</b>

**Figura 2.-** Distribución de cepas aisladas según especie de *Campylobacter*, (Hospital Municipal Boliviano Holandes, Hospital Arco Iris, SELADIS y Clínica AMID,) Septiembre 2005 a Noviembre 2006, La Paz - Bolivia

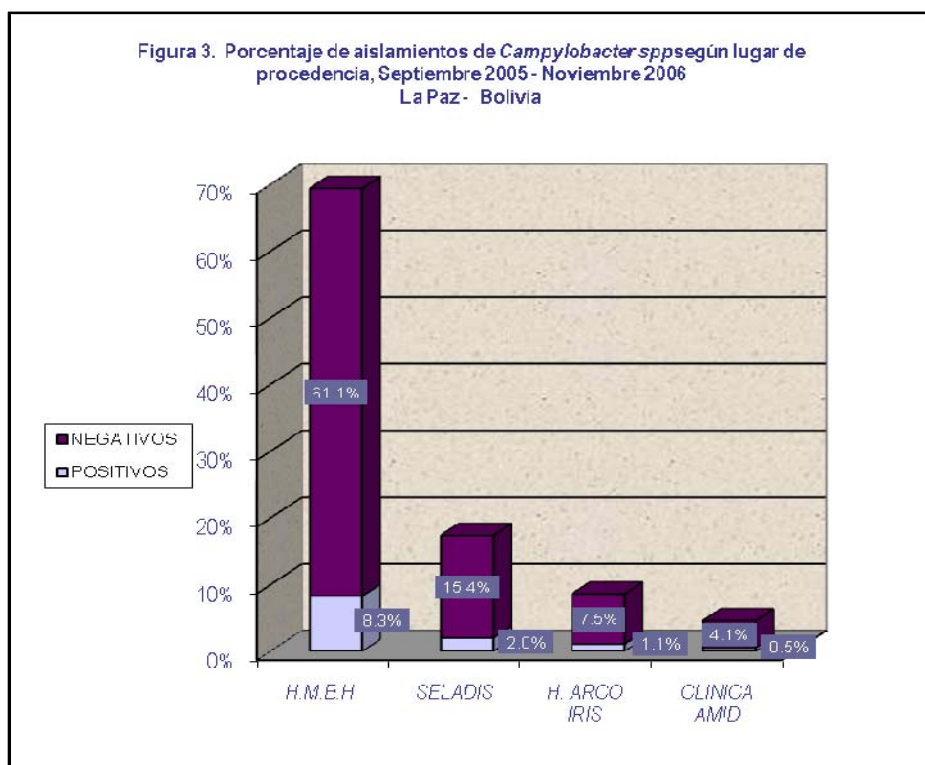


En la Tabla 2 y figura 2 muestran los 44 aislamientos obtenidos, los cuales se distribuyen de la siguiente manera: 28 aislamientos de *C. jejuni* (63%), 13 aislamientos de *C. coli* (30%) y 3 aislamientos de *C. lari* (7%)



**Tabla 3.** Distribución de aislamientos de *Campylobacter spp* según lugar de procedencia  
Septiembre 2005 – Noviembre 2006  
La Paz – Bolivia

<i>Campylobacter spp</i> n= 370			
	Numero muestras Positivas	Numero muestras Negativas	TOTAL
H.M.B.H.	31	226	257
SELADIS	7	57	64
H. ARCO IRIS	4	28	32
CLINICA AMID	2	25	27
TOTAL	44	336	380



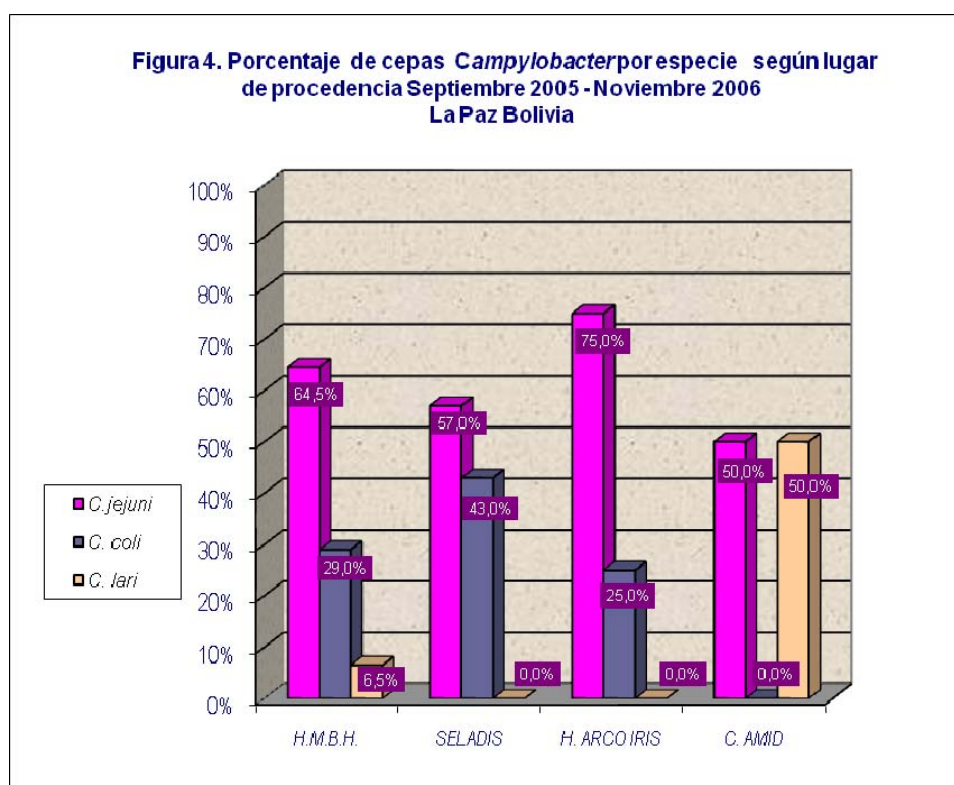
De un total de 370 muestras de heces, el hospital que presentó mas aislamientos de *Campylobacter spp* fue el Hospital Municipal Boliviano Holandés (H.M.B.H.) con un 8.3% y el que menos aislamientos de *Campylobacter spp* fue Clínica AMID con un 0.5%.



## *Campylobacter* spp. Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

**Tabla 4.** Distribución de cepas aisladas por especie de *Campylobacter* Según lugar de procedencia Septiembre 2005 – Noviembre 2006  
La Paz – Bolivia

	Número Muestras H.M.B.H.	Número muestras SELADIS	Numero de muestras H. Arco Iris	Número de muestras Clínica AMID
<i>Campylobacter jejuni</i>	20	4	3	1
<i>Campylobacter coli</i>	9	3	1	0
<i>Campylobacter lari</i>	2	0	0	1
TOTAL	31	7	4	2



La especie de mayor predominio en todos los hospitales fue *C. jejuni*, donde el Hospital Municipal Boliviano Holandés (H.M.B.H.) tuvo un 64.9%, SELADIS con un 57.0%, Hospital arco iris con un 75.0% y Clínica AMID 50%.

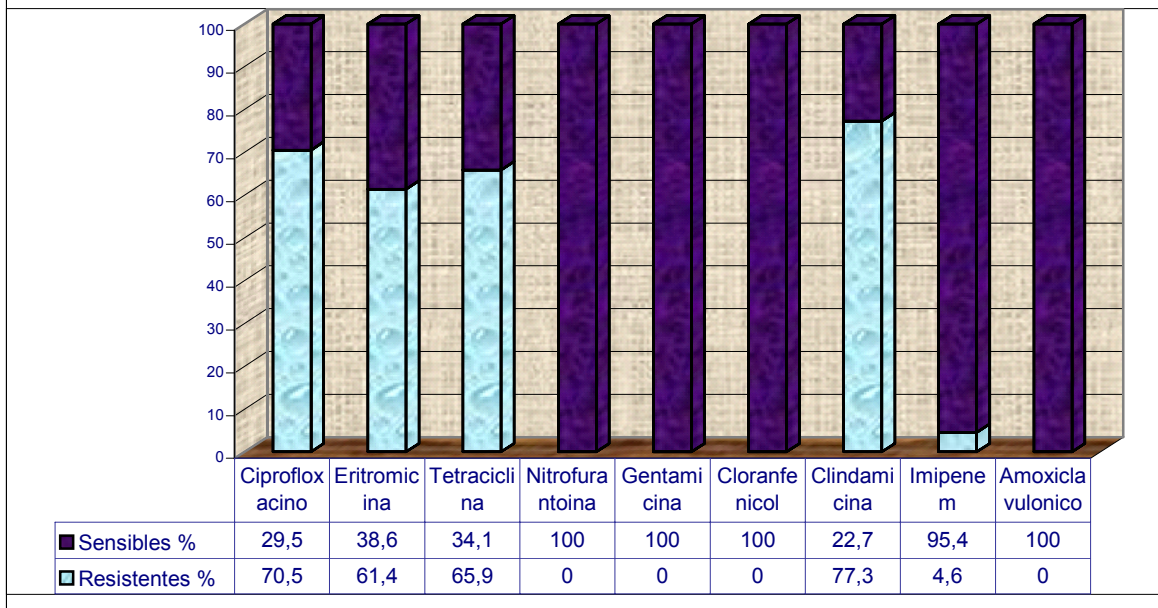


***Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana**

**Tabla 5.-** Perfil de resistencia de *Campylobacter spp.* (Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris, SELADIS y Clínica AMID), Septiembre 2005 a Noviembre 2006 La Paz – Bolivia

Antibióticos	n = 44	
	Cepas resistentes	Cepas sensibles
<b>Ciprofloxacino</b>	31	13
<b>Eritromicina</b>	27	17
<b>Tetraciclina</b>	29	15
<b>Nitrofurantoina</b>	0	44
<b>Gentamicina</b>	0	44
<b>Cloranfenicol</b>	0	44
<b>Clindamicina</b>	34	10
<b>Imipenem</b>	2	42
<b>Amoxiclavulanico</b>	0	44

**Figura 5.-** Porcentaje de resistencia de *Campylobacter spp.* (Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris, SELADIS y Clínica AMID,) Septiembre 2005 a Noviembre 2006, La Paz Bolivia



*Campylobacter spp* mostró mayor resistencia a Clindamicina con un 77.3%, el segundo antibiótico que presentó alta resistencia fue la Ciprofloxacina con un 70.5%, seguido de la Tetraciclina con un 65.9%, la Eritromicina también muestra una alta resistencia con un 61.4%. Los antibióticos Nitrofurantoina Gentamicina Cloranfenicol y Amoxicilina /Clavulanico mostraron 100% de sensibilidad.



**Tabla 6.-** Perfil de resistencia de *Campylobacter jejuni* (Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris, SELADIS y Clínica AMID, Septiembre 2005 a Noviembre 2006, La Paz - Bolivia

n = 28		
Antibióticos	Cepas resistentes	Cepas sensibles
Ciprofloxacino	19	9
Eritromicina	15	13
Tetraciclina	16	12
Nitrofurantoina	0	28
Gentamicina	0	28
Cloranfenicol	0	28
Clindamicina	20	8
Imipenem	0	28
Amoxiclavulanico	0	28

*Campylobacter jejuni* mostró mayor resistencia a Clindamicina con un 71.4%, el segundo antibiótico que presentó alta resistencia fue la Ciprofloxacina con un 67.9%, seguido de la Tetraciclina con un 57.1%, la Eritromicina también muestra una alta resistencia con un 53.6%. Los antibióticos Nitrofurantoina Gentamicina Cloranfenicol, Imipenem y Amoxicilina /Clavulanico mostraron 100% de sensibilidad.



***Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana**

**Tabla 7.-** Perfil de resistencia de *Campylobacter coli* (Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris SELADIS y Clínica AMID, Septiembre 2005 a Noviembre 2006 La Paz - Bolivia

<b>Antibioticos</b>	n = 13	
	<b>Cepas resistentes</b>	<b>Cepas sensibles</b>
<b>Ciprofloxacino</b>	10	3
<b>Eritromicina</b>	11	2
<b>Tetraciclina</b>	11	2
<b>Nitrofurantoina</b>	0	13
<b>Gentamicina</b>	0	13
<b>Cloranfenicol</b>	0	13
<b>Clindamicina</b>	11	2
<b>Imipenem</b>	0	13
<b>Amoxiclavulanico</b>	0	13

*Campylobacter coli* mostró mayor resistencia a Clindamicina, Eritromicina y Tetraciclina con un 84.6%, seguido de la Ciprofloxacina con un 76.9%. Los antibióticos Nitrofurantoina, Gentamicina, Cloranfenicol, Imipenem y Amoxicilina /Clavulanico mostraron 100% de sensibilidad.

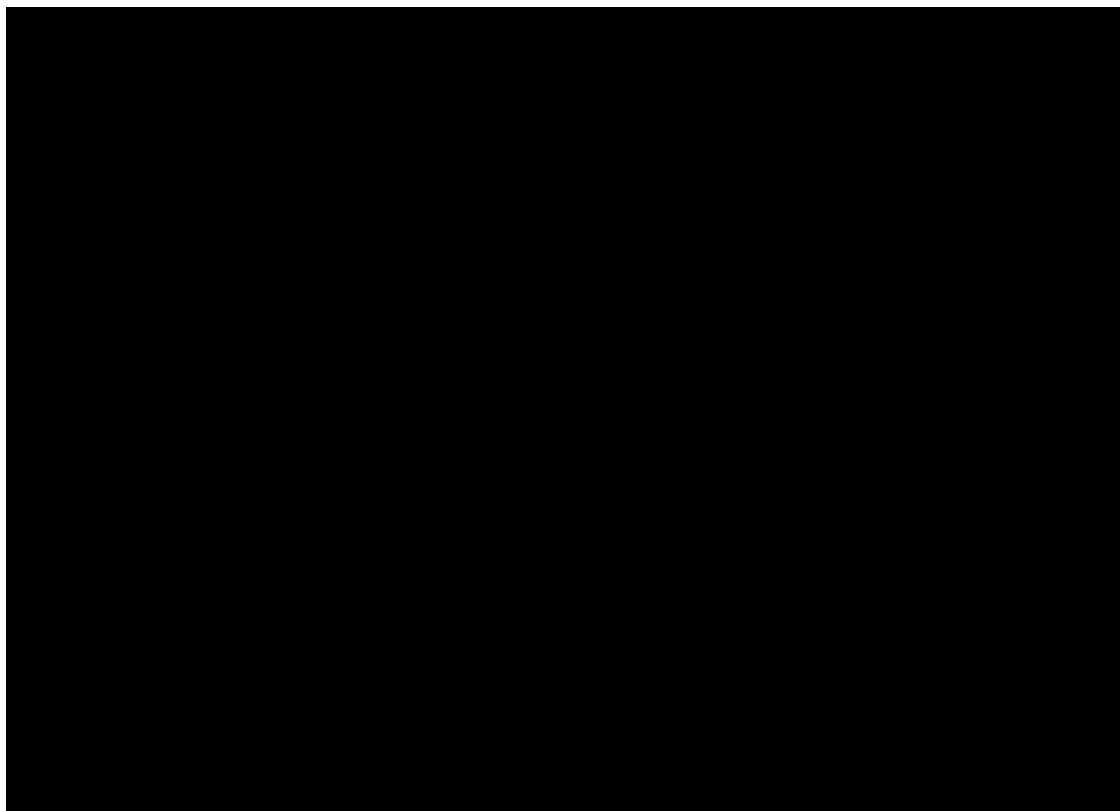




***Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana**

**Tabla 8.-** Perfil de resistencia de *Campylobacter lari* (Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris, SELADIS y Clínica AMID, Septiembre 2005 a Noviembre 2006 La Paz - Bolivia

<b>Antibioticos</b>	<b>n = 3</b>	
	<b>Cepas resistentes</b>	<b>Cepas sensibles</b>
<b>Ciprofloxacino</b>	2	1
<b>Eritromicina</b>	1	2
<b>Tetraciclina</b>	2	1
<b>Nitrofurantoina</b>	0	3
<b>Gentamicina</b>	0	3
<b>Cloranfenicol</b>	0	3
<b>Clindamicina</b>	3	0
<b>Imipenem</b>	2	1
<b>Amoxiclavulanico</b>	0	3



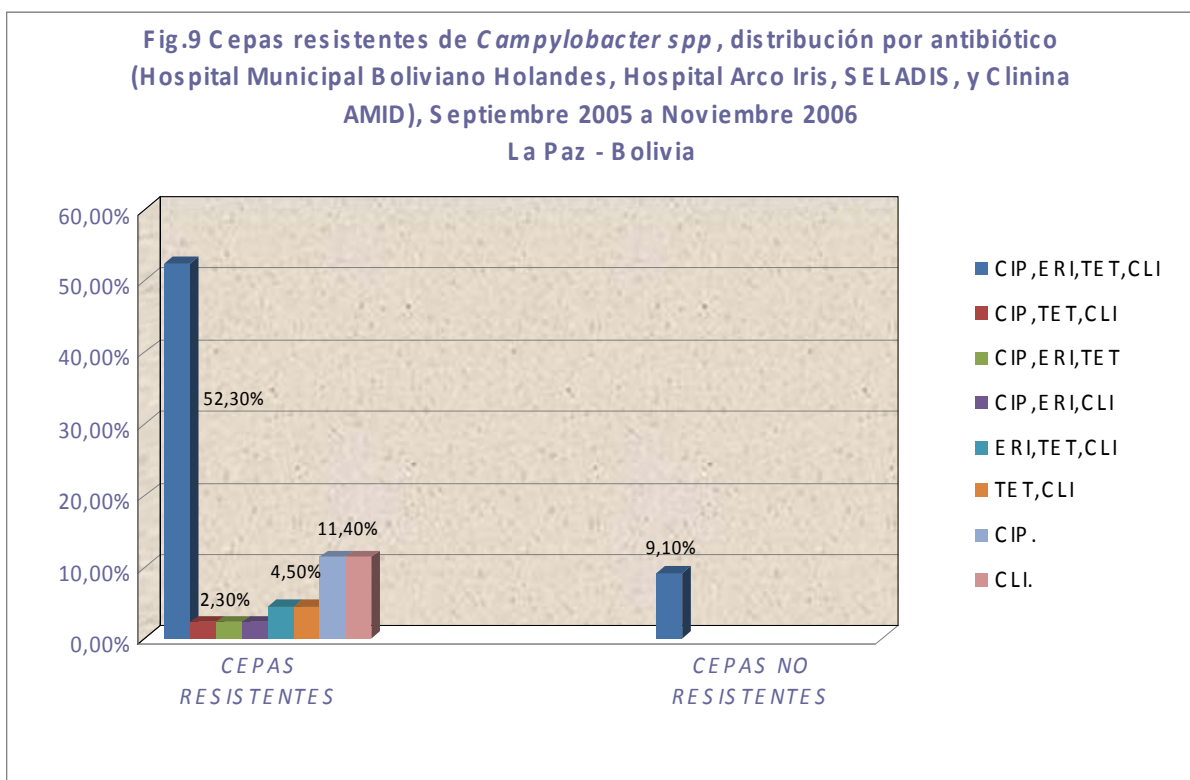
*Campylobacter lari* mostró mayor resistencia a Clindamicina con un 100%, seguidos de Ciprofloxacina, Tetraciclina, e Imipenem con un 66.7%. Los antibióticos Nitrofurantoina, Gentamicina, Cloranfenicol, y Amoxicilina /Clavulanico mostraron 100% de sensibilidad.



***Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana**

**Tabla 9.-** Cepas resistentes de *Campylobacter spp.*, distribución por antibiótico (Hospital Municipal Boliviano Holandés, Hospital Arco Iris, SELADIS; y Clínica AMID) Septiembre 2005 a Noviembre 2006  
La Paz- Bolivia

	CIP,ERI, TET,CLI	CIP,TET, CLI	CIP,ERI, TET	CIP,ERI, CLI	ERI,TET, CLI	TET,CLI	CIP	CLI.	Cepas no Resistentes
<b>Cepas Resistentes</b>	23	1	1	1	2	2	5	5	4



*Campylobacter spp.* mostró mayor resistencia a cuatro antibióticos Ciprofloxacina, Eritromicina Tetraciclina y Clindamicina con un 52.3%, las cepas que mostraron con una sensibilidad a todos los antibióticos usados son 11.3%.



## IX. DISCUSION.



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

De acuerdo a revisión bibliográfica podemos saber que desde el año 1990 existen aislamientos en Bolivia de cepas de *Campylobacter spp* reportándose una frecuencia de 19.57 % (12), la presentación de la infección por *Campylobacter spp.* ha sido relacionada con las condiciones climáticas, sugiriéndose que las infecciones son más comunes durante el cambio de estación o durante meses primaverales.

Durante los 14 meses que duró el estudio fueron atendidas 370 muestras, de los cuales 326 muestras (88.1%) fueron excluidas (por dar negativo a *Campylobacter spp*), tomándose los 44 restantes (11.9%) que dieron positivo para *Campylobacter spp*, cumpliendo los criterios de inclusión y exclusión.

De los 44 muestras positivas estudiadas el 8.3% procedió de Hospital Municipal Boliviano Holandés (H.M.B.H.) (Figura 3), siendo el 2.0% de SELADIS, 1.1% provenía del Hospital Arco Iris y un 0.5% procedente de la Clínica AMID, esta distribución se explica por ser uno de los principales establecimientos de salud de la ciudad de El Alto, y en cuanto a los restantes establecimientos de salud es por que aportan mayor porcentaje de asistencia. Por otro lado la distribución de la procedencia estuvo también determinada por la mayor presencia de casos de diarrea.

La variedad de especies encontradas en este estudio es prácticamente igual a otros estudios que se han realizado con anterioridad. Bolivia Pinto D. 2004 en La ciudad de La Paz encontró también a *C jejuni* en mayor porcentaje que *C. coli*. coincidiendo con los resultados obtenidos que revela que la especie de *Campylobacter jejuni* es la más frecuente (Figura 2). Cabe resaltar *C. jejuni* y *C coli* son las más comunes especies asociadas con enfermedades diarreicas y son clínicamente indistinguibles. Muchos laboratorios no hacen la distinción de estos organismos rutinariamente

Por otra parte el uso indiscriminado de antibióticos en la terapia, como medida preventiva y como promotores de crecimiento ha dado como fruto el incremento de cepas multirresistentes y la aparición de cepas mutantes que cada día son, más difíciles de combatir. Por años, la ampicilina y cloranfenicol fueron los antimicrobianos recomendados para infecciones severas de diarrea, sin embargo los crecientes grados de



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

resistencia de estas bacterias han reducido significativamente la eficacia de los antibióticos y en algunos casos la resistencia a sido causada por la expansión clonal de cepas multiresistentes, teniendo como consecuencia la dificultad de los tratamientos en casos clínicos

Desde la aparición de microorganismos resistentes a antibióticos, se han promovido programas y acciones encaminadas a mejorar el uso y la prescripción de antimicrobianos con el fin de frenar el aumento de la prevalencia de resistencia bacteriana. Existe una relación directa entre el aumento de resistencias y el consumo de antibióticos ya que su uso excesivo e inadecuado favorece la selección y difusión de cepas resistentes que se traduce en un aumento de fracasos terapéuticos. El éxito terapéutico de un antibiótico depende de las propiedades del fármaco, del paciente y de las características y sensibilidad del microorganismo causal. El cumplimiento completo del tratamiento antibiótico y de medidas higiénicas como la ingesta abundante de líquidos.

La resistencia antibiótica de cepas de *Campylobacter spp.* es un problema emergente. En Bolivia hasta ahora no habían sido descritas estudios de susceptibilidad antimicrobiana para *Campylobacter spp.*

De acuerdo a los resultados presentados se puede ver una alta resistencia de *Campylobacter spp.* a cuatro de los antibióticos más utilizados para el tratamiento de infecciones diarreicas: Ciprofloxacina con un 70.5% , Clindamicina con un 77.3%, eritromicina, con un 61.4% también a Tetraciclina, con 65.9%, coincidiendo con estudios realizados en Suiza que se encontró 34 cepas fueron resistentes a estreptomina, 6 ampicilina, y 1 a ciprofloxacina, Por otra parte un estudio publicado y relacionado con esto fue el de Fernández y colaboradores realizado en la ciudad de Valdivia en el año 2000 en el cual se informa que el 100 % de las cepas procesadas fue susceptible a ciprofloxacina, contraponiéndose con lo presentado en los resultados siendo posible de explicar con la procedencia de las cepas y el año de estudio, es mas la cepas usadas en ese estudio que fueron dos, no presentaron resistencia a las drogas ensayadas. Otro estudio realizado en Paraguay revela que la eritromicina no es de utilidad para el tratamiento de *Shigella* y *Salmonella* no así para *Campylobacter spp.* En este sentido



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

Eritromicina sigue siendo recomendado como una de las opciones terapéuticas de la diarrea por *Campylobacter spp*

Por otro lado según resultados en la tabla 5 muestra la mayor sensibilidad que *Campylobacter spp.* presentó fue para Nitrofurantoina, Gentamicina y Cloranfenicol con un 100% y un 95% a Imipenem por lo que consideramos que estos antibióticos son los ideales para el tratamiento clínico de infecciones causadas por *Campylobacter spp.* Según Allen Poppe (2002) en humanos adultos la fluoroquinolonas y el trimetoprim - sulfametoxazol son los antibióticos de elección para el tratamiento de infecciones diarreas, debido a su actividad bactericida y amplio espectro, si embargo en niños, el uso de fluoroquinolonas esta contraindicado, por esta razón y por sus propiedades farmacodinámicas y la baja incidencia de resistencia, las cefalosporinas de amplio espectro son usadas comúnmente en niños para su tratamiento. Sin embargo, en años recientes se ha reportado un incremento de la incidencia de infecciones diarreas.

Otro fenómeno similar esta ocurriendo con la fluoroquinolonas, ya que encontramos un cambio en el patrón de susceptibilidad a este grupo de antibióticos, al igual que en muchos países que indican que las bacterias zoonoticas incluyendo *Campylobacter* muestra una disminución en la susceptibilidad a fluoroquinolonas (Ciprofloxacina). La hipótesis es que la introducción de fluoroquinolonas en la terapia veterinaria pudo contribuir al surgimiento de resistencia a los antibióticos en bacterias patógenas responsables de infecciones humanas tales como *E. coli*, *Campylobacter spp* y *Salmonella* lo cual en una gran preocupación mundial (Fernández y col.). Las fluoroquinolonas han sido usadas satisfactoriamente para el tratamiento contra infecciones causadas por *Campylobacter spp.* sin embargo, se han originado fallas en la terapia con ciprofloxacina reportando ya en varios países.

En este estudio el antibiotico que presento 100 % de sensibilidad fue cloranfenicol que a pesar de estar prohibido, presentó patrones altos de sensibilidad. En Europa fue prohibido su uso

Dentro del patrón de resistencia de *Campylobacter spp.* destaca la especie de *C. jejuni* ya que podemos observar (figura 6), es el que mayor porcentaje de resistencia muestra



### *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

con un 67.9 % a ciprofloxacina, 53.6% a eritromicina, 57.1% a tetraciclina y 71.4% a clindamicina, al igual que un estudio realizado en Inglaterra y Gales reportando *C. Jejuni* mostraron resistencia a tres antibióticos; se probó Ampicilina, Cloranfenicol, Tetraciclina, Kanamicina y Ciprofloxacino. Se confirmó la resistencia a ampicilina, por presencia de betalactamasas en el 78% de las cepas. Por otro lado, También se determinó la resistencia a Tetraciclina en 76% de las cepas. (Randall AM, 2003). En el año 2001 en Pamplona, los enteropatógenos más frecuentes: *Salmonella* Enteritidis (28,9%) y *Campylobacter jejuni* (27,7%) seguidos de Rotavirus (16,3%), en este estudio la elección de antimicrobianos en el tratamiento de gastroenteritis infecciosa no fue sencilla, porque el tratamiento de elección frente a *Campylobacter*, la eritromicina, no es eficaz para el resto de enteropatógenos, y las fluoroquinolonas, que podrían estar indicadas en la mayoría de las bacterias aisladas, presentan resistencias superiores al 80% en *Campylobacter* aislados. Además las fluoroquinolonas están contraindicadas en niños, que son precisamente los que presentan mayores tasas de incidencia de síndrome diarreico infeccioso. Para el tratamiento del resto de enteropatógenos.

La bibliografía refiere que se han descrito genes de multiresistencia tales como AcrAB y Cme ABC que determinan la multiresistencia, este último gen determina la resistencia a ampicilina ciprofloxacina, Tetraciclina y eritromicina además de desinfectantes. En el caso de las cepas estudiadas si bien el hecho de que presentan resistencia a ciprofloxacina, Tetraciclina, eritromicina estaría enmarcando dentro de la multiresistencia, en nuestro caso por la presencia de estos genes; la susceptibilidad a Amoxicilina/Clavulanico descarta el hecho de que estemos ante cepas multiresistentes con gen de multiresistencia por eflujo.



## X. CONCLUSIONES.





## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

- El porcentaje de aislamientos obtenidos de *Campylobacter spp.* fue de 12%
- Se identificó 3 especies de *Campylobacter* de las cuales la mas predominante fue *C. jejuni* con un 63% y la menos frecuente fue *C. lari* con un 7%.
- El hospital que presentó más aislamientos de *Campylobacter spp.* fué el Hospital Municipal Boliviano Holandés con un 70 %, donde la especie con mayor predominio fue *C. jejuni* con un 64% y la menos frecuente es *C. lari* con un 6.0 %.
- La Clínica AMID fue la que tuvo menor cantidad de aislamientos de *Campylobacter spp.* con un 4.5% donde se encontró una cepa de *C. jejuni* y una cepa de *C. lari*.
- *Campylobacter spp.* Mostro mayor resistencia a Clindamicina en primer lugar con un 77.2% seguida de la Ciprofloxacina con 70.4%
- *Campylobacter spp.* no mostró resistencia a cuatro antibióticos que son: Nitrofurantoina, Gentamicina, Cloranfenicol y Amoxicilina /Clavulanico.
- *Campylobacter jejuni* muestra una alta resistencia a Clindamicina con un 71.4% seguido de Ciprofloxacina con 67.9%
- *Campylobacter lari*, muestra alta resistencia a Clindamicina con un 100% seguidos Ciprofloxacina, Tetraciclina y Imipenem con un 66.7%



## XI RECOMENDACIONES.



## *Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana*

Considerando lo anteriormente planteado nos permitimos recomendar:

- En Primer lugar hacer cultivo de *Campylobacter spp.* en forma rutinaria, en muestras de coprocultivo.
- E segundo lugar realizar el correspondiente estudio de susceptibilidad antibiótica mediante difusión en disco, método que bien ejecutado y efectuando controles de calidad pertinentes resulta apropiado, permitiendo de esta forma una vigilancia epidemiológica adecuada frente a la aparición de aislamientos resistentes a estos u otros antibacterianos.



## XII. BIBLIOGRAFIA.



1. American Society for Microbiology, Suceptibilities of Beta-Lactamase-Positive and Negative Strains of *Campylobacter coli* to beta-Lactam Agents, and Chemoterapy, May 1993, p 1174-1176.
2. Antimicrobianos. Diciembre. 2004. <http://www.microbiologia.com.ar/antimicrobianos/proteinas.php>
3. Basualdo J, Microbiología Biomédica, Buenos Aires - Argentina. Ed. Atlante 1998 , pp.340 – 343.
4. Butzler J-P.; Skirrow M.B. 1979. *Campylobacter* enteritis. Clin. Gastroenterol. 8:737-765.
5. *Campylobacter* 2nd Edition 2000– Nachamkin I.; Blazer J. M.
6. Celeste Lucero, Marcelo Galas, Manual de procedimientos para el diagnostico de la resistencia *Campylobacter*, INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS “Dr. Carlos G. Malbrán” Departamento Bacteriología - Servicio Antimicrobianaos, Buenos Aires, Argentina 2001, pp.19 – 20.
7. Clinical of Microbiology, Monoclonal Antibodies Specific for Hipurat Hidrofase of *Campylobacter jejuni* Vol 40 No3 March 2002.
8. Damiáni E, Jáuregui L, Panoso A, manual de Procedimientos para la detección de Infecciones Intrahospitalarias , Bolivia, EDOBOL, 2003 pp. 45 – 46



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

9. Mandell G.; Douglas R.; Bennett, J. Enfermedades Infecciosas Principios y Prácticas. 3era Edición - 1991.
10. Engberg J; Aarestrup F; Taylor D; Genger-Smidt P; Nachamkin I. 2001. Quinolone and Macrolide Resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: Resistance Mechanisms and Trends in Human Isolates. *Em. Inf. Dis.* 7; 1:24-34.
11. Escherich T. 1886. Articles adding to the knowledge of intestinal bacteria III. On the existence of vibrios in the intestines and feces of babies. *Münch. Med. Wochenschr.* 33:815-7.
12. Espada A. Grado de Frecuencia de *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* y *Campylobacter*, en niños con cuadros diarreicos, Tesis de Grado. Bioquímica y Farmacia. 1990, pp112 – 113.
13. Estudio de la resistencia a los Antibacterianos. [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/Tesis/Salud/Avellaneda\\_M\\_J/generalidades.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/Tesis/Salud/Avellaneda_M_J/generalidades.htm)
14. Fernández H., Situación de la Resistencia Antimicrobiana de *Campylobacter sp.* en América del Sur.
15. Fernández H, Farace M, Manual de procedimientos, Diagnostico de *Campylobacter* en Muestras Clínicas y de aislamientos, 2003, pp. 3 – 20.
16. Fernández, H.; Fagundes Neto, U.; Ogatha, S. Acute diarrhea associated to *Campylobacter jejuni* subsp. *doylei* in São Paulo, Brasil. *ed. Infect. Dis. J.* 16:1098-1099, 1997.
17. Franco DA, Williams CE: *Campylobacter jejuni*. In: Hui YH, Pierson MD, Gorham JR, eds: Foodborne disease handbook. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker, 1999.



## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

18. García J.A. Campos, T. Alarcón, D. Domingo, M. Menéndez, Rivas y M. López Brace, Sencilbilidad de *Campylobacter jejuni* a ocho Antibióticos en Cepas Aisladas de Muestras clínicas de niños Vol16 No 2 Junio 2003.
19. Generalidades: La resistencia bacteriana. 2003.  
[http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Tesis/Salud/Avellaneda\\_M\\_J/Generalidades.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Tesis/Salud/Avellaneda_M_J/Generalidades.pdf)
20. Gómez Garcés J.; Cogollos R.; Alos J. 1995. Susceptibilities of fluorquinolones resistant strains of *C. jejuni* to 11 oral antimicrobial agents. A. A. Chem. 39:2 542-544.
21. Gootz T.; Martin B. 1991. Characterization of high level quinolone resistance in *C. jejuni*. A. A. Chem. 35:5 840-845.
22. Hoge C.W.; Gambel J.M.; Srijan A. et al. 1998. Trends in antibiotic resistance among diarrheal pathogens isolated in Thailand over 15 years. Clin. Inf. Dis. 12:270-3.
23. Iáñez Pareja E, Resistencia Bacteriana a los Antibióticos. Curso de Microbiología General. Universidad de Granada. España, Agosto de 1998).  
[http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/21\\_Micro.html#](http://www.ugr.es/~eianez/Microbiologia/21_Micro.html#)
24. Jawets, Ernerst, Microbiología Medica, Manual moderno, Ed 17, 2002.
25. Jones F.S.; Orcutt M.; Little R. Associated with intestinal disorders of cows and calves.
26. Koneman Elmer W. (et al) Diagnostico Microbiológico, Texto y Atlas a color Panamericana 5ed 1992.
27. Koneman Elmer W. y otros, Diagnostico microbiológico, 4ed. Philadelphia Lippincot 1995, pp 243 – 255.



***Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana***

---

28. Koneman Elmer W. y otros, Diagnostico microbiológico.Panamericana, 5ed, 2001
29. La Quinolonas: Mecanismo de Acción. Diciembre, 1999.  
[http://www.infomed.sld.cu/revistas/sint/vol1\\_4\\_95/sint4495.htm](http://www.infomed.sld.cu/revistas/sint/vol1_4_95/sint4495.htm)
30. Lachance N.; Gaudreau Ch.; Lamothe F.; Lariviere L. 1991. Role of beta lactamase of *C. jejuni* in resistance to beta lactam agents. A. A. Chem.35:5 813-818
31. Leanne E. Unicomb, Jhon Fergusoan, Low-Level Fluoroquinolone Resistance among *Campylobacter jejuni* Isolates in Australia, Clinical Infectious Diseases, 2006,42:1368-74.
32. Lovine,Nicole M., Blaser Martin J., Antibiotics in Animal Feed and Spred of Resistand *Campylobacter* from Poultry to Humans, Emerging Infectious Deseases- vol 10, No 6 June 2004. [www.cdc.gov/cid](http://www.cdc.gov/cid)-
33. Mac Fadin Jean F. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. 3ed. México, Panamericana 1995.
34. Murray, Bullows, Pfaller, Tenover; Yolken, Manual of Clinical Microbiology, 7ma Edition, 1999
35. Mandell G.; Douglas R.; Bennett, J. Enfermedades Infecciosas Principios y Prácticas. 3era Edición, 1991.
36. Mc Fadyean J.; Stockman S. 1913 Report of the Departmental Committee appointed by the Board of Agriculture and Fishries to inquire into epizoonotic Abortion. III Abortion in sheep HMSO, London, UK.
37. Medicina, Las Campylobacterias, Buenos Aires Vol. 56 No 5 1996





## *Campylobacter spp.* Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana

38. Merck E. Dramistadt, Manual de Microbiología y Preparación de Medios de Cultivo 3ed, 1999.
39. Michael T, Madigan, John M. Martinko, Jac Parker, Biología de los microorganismos, Prentce Hall, 8ed p 986.
40. Mutaciones cromosómicas, alteración de precursores de pared celular: resistencia a Glicopeptidos. Diciembre 2003.  
[http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/52410/leccionesresistenciabacteriana\\_mecanismos\\_resistencia](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/odontologia/52410/leccionesresistenciabacteriana_mecanismos_resistencia)
41. National Center for Biotechnology Information. Taxonomy browser: Campylobacter group. base de datos en línea  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=&DB=taxonomy>
42. Palomino J. Aminoglucósidos. Servicio de Enfermedades Infecciosas. Enero 2003. <http://db2.doyma.es/pdf/28/28v21n02a13042869pdf001>.
43. Pinto D, Determinación de frecuencia de Campylobacter por método del filtro en niños menores a cinco años con gastroenteritis atendidos en el Hospital del niño "Ovidio Aliaga" y Municipal Boliviano Holandés de La Paz y el Alto, Tesis de Grado, 2004 pp. 55 – 70.
44. Prescott L, Microbiologia, España: Mc Graw – Hill 1999 pp 823 – 824.
45. Quinolonas y Terapia Antimicrobiana. Mayo, 2003.  
[http://www.infomed.sld.cu/revistas/act/vol8\\_1\\_98/act08198.htm](http://www.infomed.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act08198.htm)
46. Randall, A.M: Ridley, Prevalence of multiple antibiotic resistance in 433 *Campylobacter spp.* isolated from humans and animals, et al. En journal of Antimicrobial Chemotherapy 2003.
47. Rodríguez K. Estudio Epidemiológico en Niños Animales Domésticos en la ciudad de La Paz, Tesina de grado. Bioquímica y Farmacia, 1998, pp. 55- 57



48. Sazetenea R. Shigella, Campylobacter como Agentes Etiológicos de diarrea aguda de niños menores de cinco años en dos distritos de salud de La Paz. Tesis de Grado, 2003 pp. 53 – 54.
49. Smith T.; Taylor M. 1919. Some morphological and biological characters of the spirilla (*Vibrio fetus*, n. sp.) associated with the disease of the fetal membranes in cattle. J. Exp. Med. 30:299-31.
50. Stanier, Microbiología 4ed, Barcelona: Reveter 1985, pp. 34 – 585.
51. Taylor D. E.; Chau A.1996.Tetracycline resistance mediated by ribosomal protection. A. A. Chem. 40:1-5.
52. Taylor D.; Courvalin P. 1988. Mechanisms of Antibiotic Resistance in Campylobacter Species. A. A. Chemoth.32: 8 1107-1112
53. Trigo C. Damiani E. Albarrain M. García G, Manual de Laboratorio de Bacteriología Clínica para laboratorios de Niveles II y III, Bolivia EDOBOL.2002 pp. 14 – 29.
54. Trigo Christian, Torrico Elizabeth, Riera Esteban, Aguilar Sandra, Manual de Procedimientos Bacteriológicos en Sensibilidad y Resistencia Antimicrobiana OPS/OMS, 2003.
55. Townes, J M, Quick R, Gonzáles O Y, Linares M, Damián E. Etiología de la disentería en niños Bolivianos: Implicaciones para la terapia empírica. Rev. de la sociedad de pediatría de Bol, Vol. 39 (1) 2002, pp 7 - 10
56. Tuotromedico: antibióticos. Octubre 2003.  
<http://www.tuotromedico.com/temas/antibioticos.htm>



***Campylobacter spp .Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana***

---

57. V. Fredianin-Wolf, R. Stephan, Resistance patterns of *Campylobacter spp.* strains isolated from poultry carcasses in a big Swiss poultry slaughterhouse, En International Journal of Food Microbiology. 2003.
58. Vincent R.; Dumas J.; Pcard N. 1947. (Serious septicemia during pregnancy due to a vibrio, followed by abortion.) Bull. Acad. Nat. Med. 131:90-2.
59. Yiu-Wai Chu, Man-Yu Chu, Kit-Yee Luey, Yin- WANGan, Ka-Lok Tsang, and Kai-Man Kam, Genetic Relatedness and Quinolone Resistance of *Campylobacter jejuni* Strains Isolated in 2002 in Hong Kong, Journal of Clinical Microbiology, July 2004 , pp. 3321 – 3323, Vol 42. No 7. American Society for Microbiology.
60. Yan W.; Taylor D. 1991. Characterization of Erythromycin resistance in *C. jejuni* and *C. coli*. A. A. Chem. 35:10 1989-1996
61. Zirnstein G.; Swaminathan Y.; Angulo F. 1999. Ciprofloxacin resistance in *C. jejuni* isolates: detection of *gyr A* resistance mutations by mismatch amplification assay PCR and DNA sequence analysis. A. A Chem. 37:10 3276-3280



ANEXOS.



**INDICE DE ANEXOS**

<b>ANEXO 1.</b> Agar Base Columbia Con Sangre De Cordero.....	76
<b>ANEXO 2.</b> Método de filtración.....	77
<b>ANEXO 3.</b> Observación Macroscópica de <i>Capmylobacter spp</i> .....	78
<b>ANEXO 4.</b> Tinción de Gram.....	79
<b>ANEXO 5.</b> Observación microscópica de <i>Campylobacter spp</i> .....	80
<b>ANEXO 6.</b> Prueba de la Catalasa.....	81
<b>ANEXO 7.</b> Prueba de la Oxidasa.....	82
<b>ANEXO 8.</b> Prueba de Hidrolisis del Hipurato.....	83
<b>ANEXO 9.</b> Puntos de corte para <i>Campylobacter spp</i> .....	84
<b>ANEXO 10.</b> Prueba de difusión con discos.....	85
<b>ANEXO 11.</b> Hoja de Registro de Perfil de resistencia de <i>Campylobacter spp</i> .....	86
<b>ANEXO 12.</b> Hoja de registro de aislamiento de <i>Campylobacter</i> .....	87
<b>ANEXO 13.</b> Tablas de control de calidad de los sensidiscos.....	88



**ANEXO 1.**

**AGAR BASE COLUMBIA CON SANGRE DE CORDERO**

Medio de propósito ideal para el aislamiento de una gran variedad de microorganismos, incluyendo los exigentes, al añadir sangre se puede observar la reacción de hemolisis.

<b>FORMULA</b>	<b>g/l</b>
Peptona esp.	23.0
Extracto nutrido	1.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	10.0
pH 7.5 + 0.2	

**Preparación:**

Suspender 39 g de Agar base columbia en 1 litro de agua destilada hervir tres veces hasta disolución completa. Esterilizar con Autoclave a 121 °C durante 15 minutos, enfriar hasta 50 °C y añadir 5% de sangre de carnero y mezclar

**Almacenamiento del medio:**

El medio deshidratado puede almacenarse 10 -30°C hasta la fecha de vencimiento.

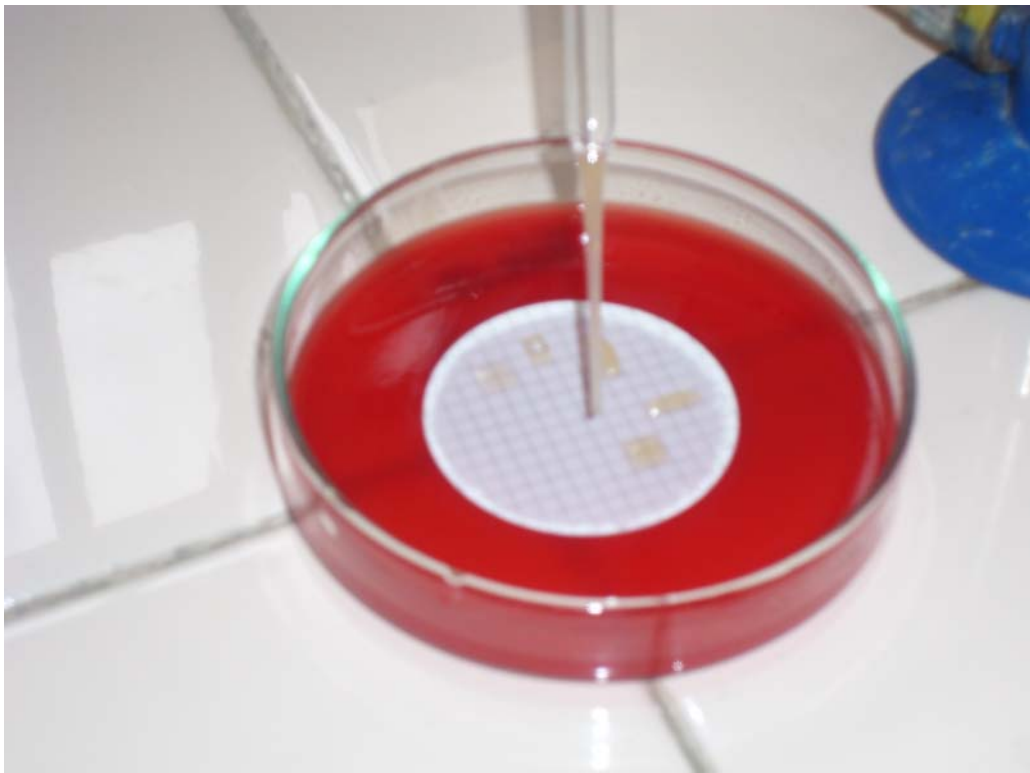
El medio preparado debe almacenarse 2 – 8°C durante tres semanas



**ANEXO 2.**

**MÉTODO DE FILTRACIÓN PARA *CAMPYLOBACTER SPP***

Método de filtración para la detección de *Campylobacter* en heces Se realiza una suspensión de materia fecal en solución fisiológica y con una pipeta Pasteur, se deposita aproximadamente 100  $\mu$ l (10 – 15 gotas) sobre la membrana,





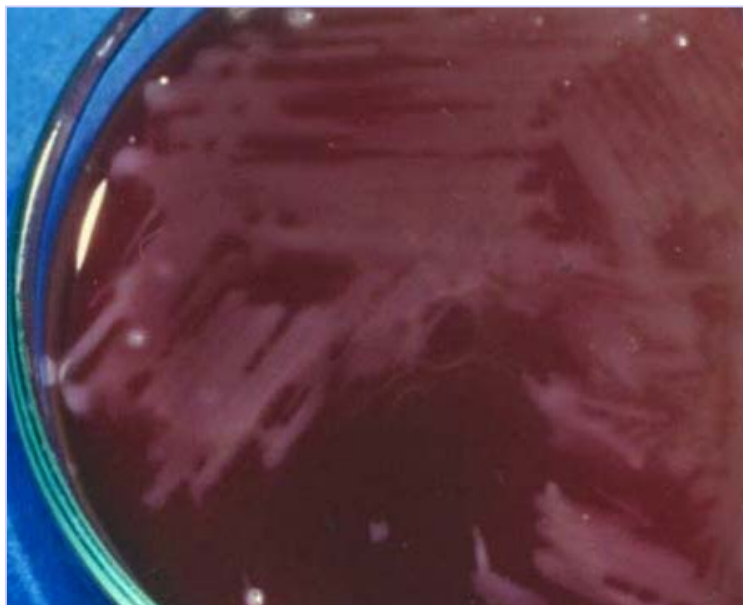
**ANEXO 3.**

**OBSERVACIÓN MACROSCOPICA DE CAPMLYLOBACTER SPP**

**Cultivo con filtro *Campylobacter spp*:** Las colonias se pueden observar a mayor aumento



**Resiembra para obtener inculo suficiente para la prueba de sensibilidad con los sensidiscos**







## ANEXO 4

### TINCIÓN DE GRAM

La tinción de Gram o coloración Gram es un tipo de tinción diferencial empleado en microbiología para la visualización de bacterias, sobre todo en muestras clínicas. Se utiliza tanto para poder referirse a la morfología celular bacteriana como para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana, considerándose Bacteria Gram positiva a las bacterias que se visualizan de color violeta y Bacteria Gram negativa a las que se visualizan de color rosa.

#### **Técnica:**

Suspender la colonia en una gota de solución fisiológica en un portaobjetos.

- Dejar secar al medio ambiente
- Fijar la llama del mechero ( 3 veces x llama soportando la temperatura en el dorso de la palma de la mano)
- Cubrir el portaobjetos con violeta de genciana durante 2 minutos
- Lavar con agua corriente
- Cubrir con lugol 1 minuto
- Lavar con agua corriente
- Cubrir con alcohol acetona 1 minuto
- Lavar con agua corriente
- Cubrir con fuccina básica 2 minutos (como colorante de contraste)

#### **Lectura:**

Se realiza en microscopio con el objetivo de inmersión.

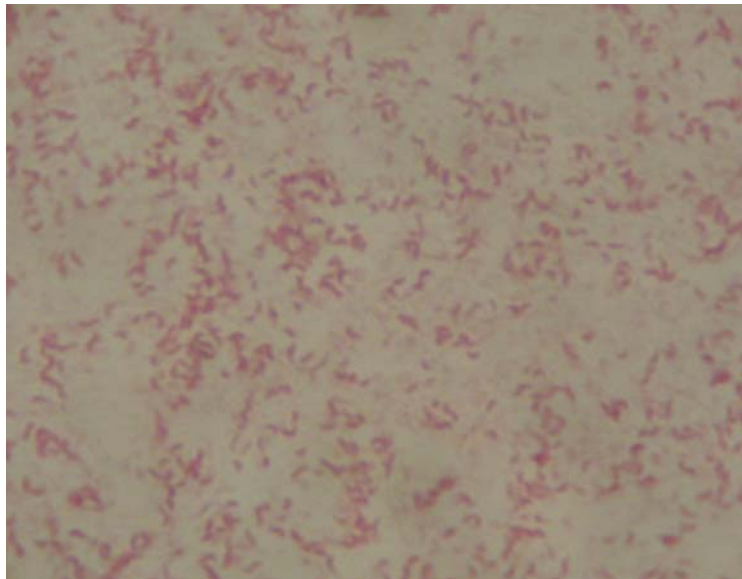
#### **Interpretación:**

- La observación de color violeta indica la presencia de bacterias gram positivas.
- La observación de color rosado indica presencia de bacterias gram negativas

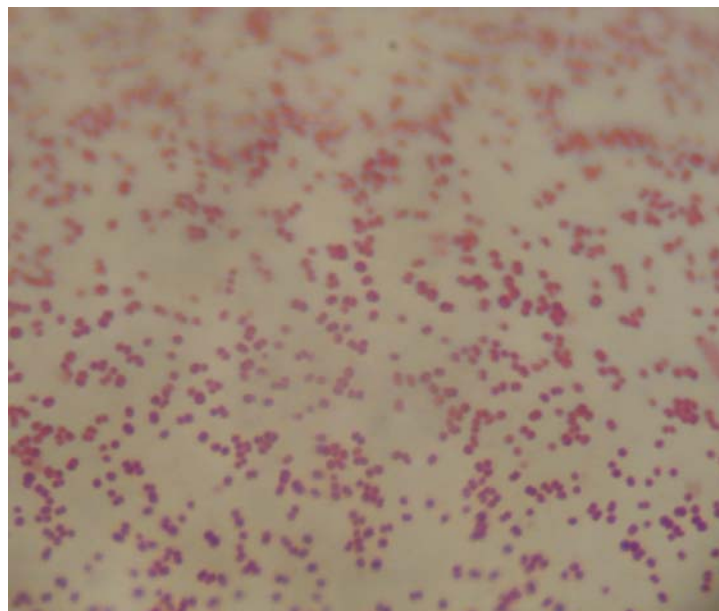


**ANEXO 5.**

**OBSERVACIÓN MICROSCOPICA DE *Campylobacter spp.***



Con una prolongada exposición al aire adoptan una forma cocoide.





**ANEXO 6.**

INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD  
LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA CLINICA

<b>NOMBRE: Prueba de la Catalasa</b>	<b>Numero: Hoja # 1 de 2</b>
<b>Elaborado:</b>	<b>Fecha de Elaboración</b>
<b>Firma:</b>	
<b>Revisado:</b>	<b>Fecha de elaboración y aprobación:</b>
<b>Firma:</b>	

**FUNDAMENTO:**

Comprueba la presencia de la enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo, la excepción principal es el *Streptococcus*.

La enzima catalasa convierte el peroxido de hidrogeno en oxígeno y agua. La liberación de oxígeno se observa por la formación de burbujas.

**MATERIAL:**

Portaobjetos.

Peroxido de hidrogeno al 30%

Control Positivo: Staphylococcus aureus ATCC 25923

Control Negativo: Streptococcus pyogenes ATCC 19615

**PROCEDIMIENTO:**

- Con una aguja bacteriologica recoger una colonia pura de 18 a 24 horas de incubacion (de la parte central de la colonia evitando arrastrar el medio).
- Colocar la colonia en el portaobjetos
- Agregar una gota de peroxido de hidrogeno al 30% sobre la colonia.

Paralelamente realizar el mismo procedimiento con los controles

**LECTURA:**

Inmediatamente, observar la formación de burbujas.

**INTERPRETACIÓN:**

La formación de burbujas por liberación de oxígeno indica una reacción positiva.

El desarrollo de un color morado a púrpura indica una reacción positiva.

La ausencia de burbujas indica una reacción negativa.

**BIBLIOGRAFÍA:** Koneman Elmer W. y otros, Diagnostico microbiológico. Panamericana, 5ed, 2001



**ANEXO 7.**

INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD  
LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA CLÍNICA

<b>NOMBRE: Prueba de la Oxidasa</b>	<b>Numero: Hoja # 1 de 2</b>
<b>Elaborado:</b>	<b>Fecha de Elaboración</b>
<b>Firma:</b>	
<b>Revisado:</b>	<b>Fecha de elaboración y aprobación:</b>
<b>Firma:</b>	

**FUNDAMENTO:**

Los citocromos son proteínas que forman parte de algunas cadenas transportadoras de electrones, propias del metabolismo respirados. Determinar la presencia o ausencia d estas proteínas proporcionara información útil para la clasificaron de grupos bacterianos. La prueba del citocromo oxidasa detecta la presencia de citocromo c en la bacteria.

Se basa en la capacidad del colorante dihidrocloruro de tetrametil p- fenilendiamina al 1 % de oxidarse al ceder electrones al citocromo c. En su estado reducido es incoloro pero en presencia de la citocromo oxidasa del microorganismo y el oxigeno atmosferico se oxida formando el azul de indofenol.

**MATERIAL:**

Discos de oxidasa (Disco)

Agua destilada estéril

Dihidrocloruro de tetrametil p- fenilendiamina al 1 %

Control positivo: P. aeruginosa ATCC 27853

Control Negativo: E. coli ATCC 25922

**PROCEDIMIENTO:**

- Realizar la prueba a partir de un cultivo de 18 a 24 horas de un medio que no contenga azucars.
- Humedecer el disco con agua destilada estéril sobre un porta objetos
- Colocar la colonia sobre el disco con aplicador de madera o asa de platino
- con una pipeta Pasteur colocar una gota de reactivo sobre la colonia

**LECTURA:** Observar el cambio de color morado a los pocos segundos.

**INTERPRETACIÓN:**

- El desarrollo de un color morado a púrpura indica una reacción positiva.
- La ausencia de color indica una reacción negativa.

**BIBLIOGRAFÍA:** Koneman Elmer W. y otros, Diagnostico microbiológico.Panamericana, 5ed, 2001



**ANEXO 8.**

INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD  
LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA CLÍNICA

<b>Nombre:</b> Prueba de Hidrolisis del Hipurato	<b>Numero:</b> Hoja # 1 de 2
<b>Elaborado:</b>	<b>Fecha de Elaboración</b>
<b>Firma:</b>	
<b>Revisado:</b>	<b>Fecha de elaboración y aprobación:</b>
<b>Firma:</b>	

**FUNDAMENTO:**

La producción de hipurasa resulta en la hidrólisis del hipurato de sodio con la formación de benzoato de sodio y glicina. La ninhidrina es un fuerte oxidante que deamina, el grupos - amino de la glicina con liberación de NH<sub>3</sub> y CO<sub>2</sub>. El amoníaco liberado reacciona con la ninhidrina residual y produce un color púrpura.

**MATERIAL:**

- Tubos de ensayo
- Baño María
- Solución Ninhidrina 3.5 % en acetona – butanol ( 1 : 1)
- Agua destilada
- Solución Hipurato de sodio 5 %

**PROCEDIMIENTO:**

- Realiza suspensión de colonias de un subcultivo en agar sangre en 1 mL de agua destilada, adicionando posteriormente 0.5 mL de una solución de hipurato de sodio al 5%.
- Incubar a baño maria a 37 C durante 2 Horas
- Agregar una solución de ninhidrina al 3.5 % e acetona – butanol ( 1 : 1)
- Dejar en reposo a temperatura ambiente por 2 horas.

**LECTURA:**

Observar el cambio de color.

**INTERPRETACIÓN:**

- La aparición de color azul – púrpura indica una reacción positiva
- Si el reactivo permanece amarillo indica una reacción negativa.

**BIBLIOGRAFÍA:** Instituto Nacional de Salud, Taller sobre la identificación Bioquímica



**ANEXO 9.**

Puntos de corte recomendados con el método de difusión por discos para los antibióticos seleccionados (diámetros de las zonas de inhibición en mm).

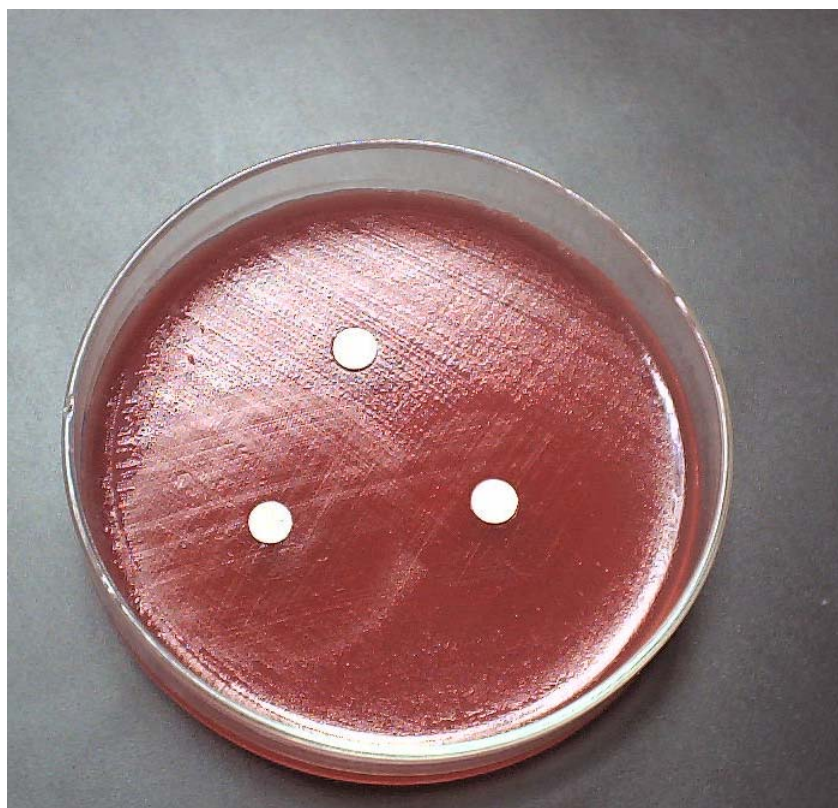
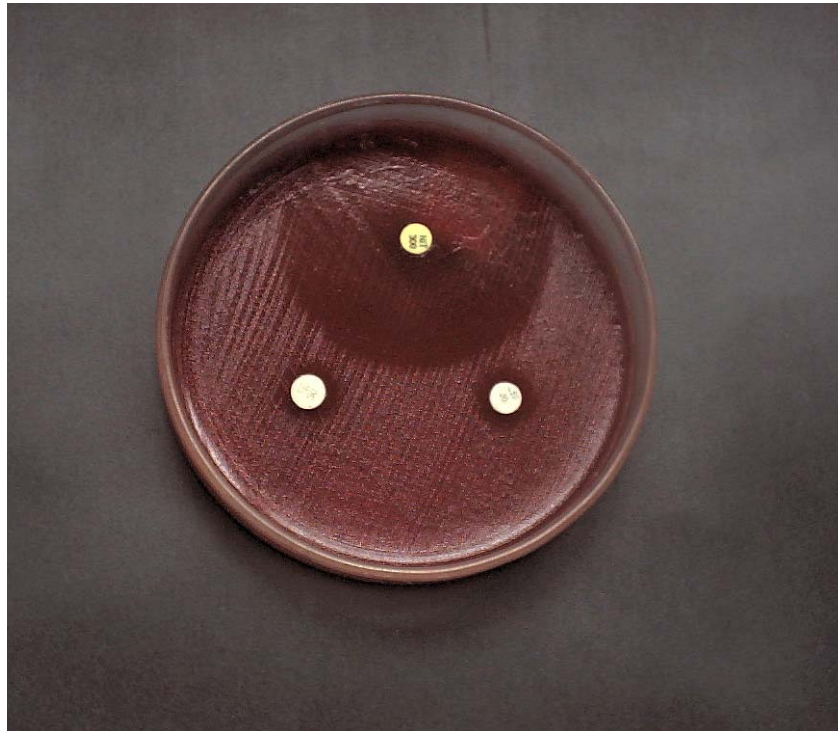
<b>ANTIBIOTICOS</b>	<b>RESISTENTE</b>	<b>I NTERMEDIO</b>	<b>SENSIBLE</b>
<b>Ciprofloxacina (CIP)</b>	$\leq 15$	16-20	$\geq 21$
<b>Eritromicina (ERI)</b>	$\leq 13$	14-22	$\geq 23$
<b>Tetraciclina (TET)</b>	$\leq 14$	15-18	$\geq 19$
<b>Nitrofurantoina (NIT)</b>	$\leq 14$	15-16	$\geq 17$
<b>Cloranfenicol (CMP)</b>	$\leq 12$	13 - 17	$\geq 18$
<b>Gentamicina (GEN)</b>	$\leq 12$	13-14	$\geq 15$
<b>Clindamicina (CLI)</b>	$\leq 13$	14-17	$\geq 18$
<b>Imipenem (IMP)</b>	$\leq 13$	14-15	$\geq 16$
<b>Amoxicilina/clavulánico (AMC)</b>	$\leq 13$	14-17	$\geq 18$

Extraído de las Tablas 2A y 2C del documento M100-S13 – Enero 2003 de la NCCLS



**Anexo 10**

Prueba de difusión con discos. Halos de inhibición de la Nitrofurantoina, tetraciclina y ciprofloxacina







**ANEXO 11.**

LABORATORIO DE INVESTIGACION LA

ESTUDIO DE PERFIL DE RESISTENCIA DE  
*Campylobacter spp*

Fecha .....

Origen.....

Código .....

Especie Identificada.....

ANTIMICROBIANO	Resistente	Intermedio	Sensible	Lectura	interpretación
Ciprofoxacina	< 15	16 - 20	> 21		
Eritromicina	< 13	14 - 22	> 23		
Tetraciclina	< 14	15 - 18	> 19		
Nitrofurantoina	< 14	15 - 16	> 17		
Gentamicina	< 12	13 - 14	> 15		
Cloranfenicol	< 12	13 - 17	> 18		
Clindamicina	< 13	14 - 17	> 18		
Imipenem	< 13	14 - 15	> 16		
Amoxi / Clavulan	< 13	14 - 17	> 18		
Ac. Nalidixico *					
Cefalotina *					

( \* ) Identificación de especie.

Extraído de las tablas 2ª y 2C del documento M – S13 Enero 2003 de la NCCLS

Responsable de procesamiento: Orietta Laura Olaquibel





**ANEXO 12.**

LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA  
EN BACTERIOLOGIA CLINICA

**Hoja de registro de resultados de *Campylobacter spp* del laboratorio de investigación LA del INLASA**

Muestra.....	.....
Origen .....	.....
Fecha .....	.....
Paciente.....	.....

**SIEMBRA EN MEDIO DE CULTIVO**

Método del Filtro

Agar sangre base columbia .....	.....
---------------------------------	-------

**IDENTIFICACION INICIAL**

Tinción Gram				
Oxidasa	Positivo		Negativo	
Catalasa	Positivo		Negativo	

**IDENTIFICACION FINAL**

Hidrólisis del Hipurato	Positivo		Negativo	
Susceptibilidad Cefalotina	<b>R</b>		<b>S</b>	
Susceptibilidad Ac. Nalidixico	<b>R</b>		<b>S</b>	

**Especie Identificada**

.....

**Observaciones**

.....  
.....  
.....