

## ARTÍCULO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

## Perfil de virulencia y resistencia antimicrobiana en cepas de *Campylobacter spp.*, aislados de pacientes con síndrome diarreico agudo en el Laboratorio Central de Salud Pública, periodo 2020 - 2021

### Characterization of virulence factors and antimicrobial resistance in *Campylobacter spp.* strains, isolated from patients with acute diarrheal syndrome at the Central Laboratory of Public Health, period 2020 - 2021

Maria Veronica Orrego Miranda<sup>1</sup> , Natalie Weiler<sup>1</sup> , Mercedes Alvarez<sup>1</sup> , Flavia Ortiz<sup>1</sup> , Jazmin Martinez<sup>1</sup> , Ruth Duarte<sup>2</sup> , Deili Cuevas<sup>3</sup> , Rosa Portillo<sup>4</sup> , Abadina Acosta<sup>5</sup> 

<sup>1</sup> Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Laboratorio Central de Salud Pública. Asunción, Paraguay.

<sup>2</sup> Instituto de Previsión Social. Asunción, Paraguay.

<sup>3</sup> Sanatorio Italiano. Asunción, Paraguay.

<sup>4</sup> Centro Medico La Costa. Asunción, Paraguay.

<sup>5</sup> Hospital Nacional de Itauguá. Itauguá, Paraguay.

**Correspondencia:** Natalie Weiler: natalieweiler@gmail.com

**Editor responsable:** Julieta Méndez

**Cómo referenciar este artículo:** Orrego Miranda MV, Weiler N, Alvarez M, Ortiz F, Martinez J, Duarte R, Cuevas D, Portillo R, Acosta A. Perfil de virulencia y resistencia antimicrobiana en cepas de *Campylobacter spp.*, aislados de pacientes con síndrome diarreico agudo en el Laboratorio Central de Salud Pública, periodo 2020 - 2021. Rev. salud publica Parag. 2023;13(2):22-28.

Recibido el 23 de junio de 2023, aprobado para publicación el 28 de julio de 2023

## RESUMEN

**Introducción:** *Campylobacter spp.*, es un agente común de enterocolitis en humanos. Los factores de virulencia que más se han relacionado con patogenicidad son la motilidad por la presencia de flagelos, la capacidad de adherencia e invasión a la célula eucariote y la producción de citotoxinas. La reposición de líquidos y electrolitos es el tratamiento recomendado, y los antimicrobianos se requieren solo en la enfermedad grave y/o prolongada.

**Objetivo:** Caracterizar los factores de virulencia y la resistencia antimicrobiana en cepas de *Campylobacter spp.*, aislados de pacientes con síndrome diarreico agudo en el Laboratorio Central de Salud Pública, periodo 2020 - 2021.

**Metodología:** El tipo de estudio utilizado fue retrospectivo de corte transversal, tomando como periodo de estudio los años 2020 y 2021, como criterio de inclusión se consideraron todas las cepas aisladas de muestras que se remitieron con la ficha epidemiológica para el estudio de Enfermedades Diarreicas Agudas (EDAS) en el periodo de estudio de 2020-2021.

**Resultados:** Fueron sometidas a estudio unas 168 cepas de *Campylobacter spp.*, donde se observó un predominio de la especie *Campylobacter jejuni* con un porcentaje de 95% (160/168) seguido de *Campylobacter coli* con un 5% (8/168). Se detectaron todos los factores de virulencia investigados siendo el de mayor frecuencia *flaA* (96%) y *ctdC* (94%), seguido de *cadF* (86.9%), *ctdB* (85%), *dnaJ* (79.7%), *racC* (71%) y en menor porcentaje se detectó *pldA* (49%), *ciaB* (21%), *wlaN* (13%) y *virB* (2%). En cuanto a la resistencia antimicrobiana de las cepas de *Campylobacter spp.*, en este estudio se pudo observar un 51% de resistencia a ciprofloxacina, 6% de resistencia a tetraciclina; mientras que para eritromicina se observó una sensibilidad del 100%.

**Conclusión:** La identificación de los factores de virulencia implicados en los procesos infecciosos, así como el conocimiento de la resistencia antimicrobiana del agente etiológico constituyen la clave para mejorar la comprensión de la patogénesis y el desarrollo de terapias para el tratamiento de las infecciones presentadas por este patógeno.

**Palabras claves.** *Campylobacter spp.*, factores de virulencia, resistencia antimicrobiana, síndrome diarreico agudo.

## ABSTRACT

**Introduction:** *Campylobacter spp.* is a common agent of enterocolitis in humans. The virulence factors that have been most closely related to pathogenicity are motility due to the presence of flagella, the ability to adhere to and invade the eukaryotic cell, and the production of cytotoxins. Fluid and electrolyte replacement is the recommended treatment, and antimicrobials are required only in severe and/or prolonged illness.

**Objective:** To characterize the virulence factors and antimicrobial resistance in *Campylobacter spp.* strains isolated from patients with acute diarrheal syndrome in the Central Laboratory of Public Health, period 2020 - 2021.

**Methodology:** The type of study used was retrospective cross-sectional, taking the years between 2020 and 2021 as the study period, as inclusion criteria all strains isolated from samples that were sent with the Epidemiological record for the study of Acute Diarrheal Diseases (EDAS) in the study period of 2020-2021.

**Results:** Some 168 *Campylobacter spp.* strains were studied, where a predominance of the *Campylobacter jejuni* species was observed with a percentage of 95% (160/168) followed by *Campylobacter coli* with 5% (8/168). All the investigated virulence factors were detected, being the most frequent *flaA* (96%) and *ctdC* (94%), followed by *cadF* (86.9%), *ctdB* (85%), *dnaJ* (79.7%), *racC* (71%) and in a lower percentage, *pldA* (49%), *ciaB* (21%), *wlaN* (13%) and *virB* (2%) were detected. Regarding the antimicrobial resistance of *Campylobacter spp.* strains, in this study it was possible to observe 51% resistance to ciprofloxacin, 6% resistance to tetracycline; while for erythromycin a sensitivity of 100% was observed.

**Conclusion:** The identification of the virulence factors involved in the infectious processes as well as the knowledge of the antimicrobial resistance of the etiological agent constitute the key to better understanding of the pathogenesis and the development of therapies for the treatment of the infections presented by this pathogen.

**Keywords:** *Campylobacter spp.*, virulence factors, antimicrobial resistance, acute diarrhea syndrome.

## INTRODUCCION

*Campylobacter* spp., es una de las principales bacterias causantes de gastroenteritis en los países industrializados. En Paraguay, según un estudio realizado en el año 2019 por Huber et al.<sup>(1)</sup>, se lo reporta como el segundo enteropatógeno bacteriano asociado a síndrome diarreico agudo después del grupo de *E.coli* diarreogénicas entre las cuales se destacan *E. coli* entero patogénica, *E. coli* enteroagregativa entre otras, presentando una prevalencia del 13.4%.

La detección de este patógeno en nuestro país, se encuentra muy limitada, debido a la necesidad de equipamiento alternativo e insumos costosos, esto último podría generar un gran sesgo en el momento de conocer la prevalencia e implicancia real de este patógeno en salud pública<sup>(1,2)</sup>.

La infección bacteriana causada por *Campylobacter* spp., se denomina campylobacteriosis y se presenta generalmente en pacientes pediátricos, pero afecta a todo el rango etario<sup>(3)</sup>. Las especies comúnmente involucradas en estas patologías son *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*. Varios estudios han demostrado que *Campylobacter jejuni* es el principal causante de la infección en humanos en un 80% al 95% seguido de *Campylobacter coli*<sup>(4-6)</sup>. Se adquiere normalmente por el consumo de carne de aves de corral mal cocida en su mayor proporción, así como de leche no pasteurizada y agua contaminada<sup>(3-5,7)</sup>.

El síndrome diarreico causado por *Campylobacter* spp., es autolimitado, sin embargo, existen drogas antimicrobianas de elección para el tratamiento como macrólidos y fluoroquinolonas que se utilizan en caso de que el paciente se encuentre con alguna inmunosupresión o la infección se prolongue o complique<sup>(8-11)</sup>. Además se han registrado estudios que hablan de síndromes extraintestinales relacionados con este patógeno como ser el Síndrome de Guillain Barre, artritis reactiva, bacteriemias, entre otros<sup>(12-15)</sup>.

Este patógeno presenta una serie de factores de virulencia responsables del proceso de fisiopatogenia como ser los genes *flaA*, *cadF*, *racR* y *dnaJ* responsables de la expresión de la adherencia y colonización; los genes *virB*, *ciaB* y *pldA* que participan en la invasión, los genes *ctdB*, *ctdC*, citotoxinas de distensión, que evitan en las células eucariotas que entren en mitosis, conduciendo a la muerte celular y *wlaN*, indicado como el gen involucrado en la expresión de mimics de gangliosidos en el síndrome de Guillain Barre<sup>(16-19)</sup>.

Tradicionalmente, el diagnóstico y confirmación de las especies de *Campylobacter* se ha realizado mediante cultivo bacteriológico y pruebas bioquímicas<sup>(20, 21)</sup>; sin embargo, en los últimos años, se han implementado técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección directa del patógeno a partir de muestras diarreicas, así como diferenciación de especies, detección de factores de virulencia<sup>(22,23)</sup> y técnicas de genotipificación<sup>(24-26)</sup>.

Este estudio, tiene como objetivo caracterizar el perfil de virulencia y la resistencia antimicrobiana en cepas de *Campylobacter* spp., aislados de pacientes con síndrome diarreico agudo en el Laboratorio Central de Salud Pública, periodo 2020 - 2021.

## MATERIALES Y METODOS

El tipo de estudio utilizado fue retrospectivo de corte transversal, tomando como periodo de estudio los años 2020 y 2021. El muestreo realizado fue no probabilístico de casos consecutivos, como criterio de inclusión se consideró todas las cepas aisladas de muestras que se remitieron con la ficha epidemiológica para el estudio de Enfermedades Diarreicas Agudas (EDAS) en el periodo de estudio de 2020-2021. Se sometieron a estudio 168 cepas de *Campylobacter* spp.

La recolección de datos fue realizada mediante un cuestionario donde fueron registrados los resultados laboratoriales obtenidos de la caracterización del patógeno como especie de *Campylobacter* spp., los genes que codifican los perfiles de virulencia (*virB*, *ciaB*, *pldA*, *laA*, *cadF*, *racR*, *dnaJ*, *wlaN*, *ctdB*, *ctdC*) y resistencia antimicrobiana del estudio de las cepas aisladas.

Las muestras remitidas fueron sembradas directamente en un agar específico Skirrow modificado preparado a partir de agar brucella (Oxoid Ltd., Ogdensburg, NY), suplemento FBP (sulfato ferroso, metabisulfito de sodio, piruvato de sodio y sangre) y una mezcla antibiótica (vancomicina, trimetoprim, cefalotina y polimixina B), y posteriormente incubadas por 48 horas en un ambiente de microaerofilia (10% O<sub>2</sub>, 5% de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> para balance) a una temperatura de 42°C.

Las colonias sospechosas fueron identificadas de acuerdo a la característica de las colonias, tinción de gram pruebas fenotípicas como oxidasa, indoxil acetato e hidrólisis de hipurato. Las especies de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, fueron confirmadas mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de punto final según el protocolo de Farace et al. y Persson et al<sup>(27,28)</sup> (Tabla 1).

**Detección del perfil de virulencia.** Para la detección de los genes de virulencia se investigaron los genes, *ctdC*, *ctdB*, *cadF*, *virB*, *flaA*, *pldA*, *racR*, *wlaN*, *ciaB* y *dnaJ*, mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de punto final según el protocolo de Talukder et al 2008<sup>(29)</sup>. (Tabla 1).

**Resistencia antimicrobiana.** Se determinó por el método de concentración inhibitoria mínima (CIM) en agar, utilizando tiras de test de CIM marca LIOFILCHEM Diagnostic, de origen italiano para los siguientes antimicrobianos: eritromicina, ciprofloxacina y tetraciclina y agar Mueller-Hinton enriquecido con 5% de sangre ovina. La interpretación de los resultados se realizó según los puntos de cortes de manual del Instituto de Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI) M45-A2<sup>(30)</sup>.

**Análisis estadístico.** El análisis fue realizado utilizando el programa estadístico EpiInfo version 7.7, para analizar tanto los datos sociodemográficos y resultados laboratoriales. Las variables continuas se expresaron como promedios y desviación estandar, y las variables categóricas se consignaron como frecuencias y porcentajes (%).

El trabajo estuvo sujeto a todas las cuestiones éticas de trabajos en poblaciones y sujeto a las normas del Comité de Ética del Laboratorio de Salud Pública del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.

**Tabla 1.** Secuencias de primers utilizados.

| GEN    | PARTIDORES | SECUENCIAS 5 3             | PESO (pb) |
|--------|------------|----------------------------|-----------|
| jun    | jun1       | CATCTCCCTAGTCAAGCCT        | 773       |
|        | jun2       | AAGATATGGCACTAGCAAGAC      |           |
| col    | col1       | AGGCAAGGGAGCCTTTAATC       | 364       |
|        | col2       | TATCCCTATCTACAAATTCGC      |           |
| fla    | fla 664    | AATAAAAATGCTCATAAAAACAGGTG | 855       |
|        | fla 1494   | TACCGAACCAATGTCTGCTCTGATT  |           |
| cdtB   | cdtB-113   | CAGAAAGCAAATGGAGTGTT       | 370       |
|        | cdtB-713   | AGCTAAAAGCGGTGGAGTAT       |           |
| cdtC   | cdtC-192   | CGATGAGTTAAAACAAAAAGATA    | 620       |
|        | cdtC-351   | TTGGCATTATAGAAAATACAGTT    |           |
| racR   | racR-25    | GATGATCCTGACTTTG           | 182       |
|        | racR-593   | TCTCCTATTTTACCC            |           |
| dnaJ   | dnaJ-299   | AAGGCTTTGGCTCATC           | 584       |
|        | dnaJ-1003  | CTTTTTGTTTCATCGTT          |           |
| virB11 | virB-232   | TCTTGTGAGTTGCTTACCCCTTTT   | 720       |
|        | virB-701   | CCTGCGTGTCTGTGTTATTTACCC   |           |
| ciaB   | ciaB-403   | TTTTTATCAGTCCTTA           | 494       |
|        | ciaB-1373  | TTTCGGTATCATTAGC           |           |
| pldA   | pldA-84    | AAGCTTATGCGTTTTT           | 986       |
|        | pldA-981   | TATAAGGCTTTCTCCA           |           |
| wlaN   | wlaN-DL 39 | TTAAGAGCAAGATATGAAGGTG     | 913       |
|        | wlaN-DL 41 | CCATTTGAATTGATATTTTTG      |           |
| cadF   | cadF-F2B   | TTGAAGGTAATTTAGATATG       | 400       |
|        | cadF-R1B   | CTAATACCTAAAGTTGAAAC       |           |

**RESULTADOS**

De las 168 cepas de *Campylobacter* spp., sometidas a estudio, se observó un predominio de cepas de la especie *Campylobacter jejuni* con un porcentaje de 95% (160/168 ) y *Campylobacter coli* con un 5 % ( 8/168 ).

Respecto a los factores de virulencia estudiados se obtuvo un mayor porcentaje de *flaA* (96%) y *ctdC* (94%), seguido de *cadF* (86.9%), *ctdB* (85%), *dnaJ* (79.7%), *racC* (71%) y en menor porcentaje se detectó *pldA* (49%), *ciaB* (21%), *wlaN* (13%) y *virB* (2%) (Tabla 2).

En cuanto al perfil de virulencia con relacion a las especies de *Campylobacter* estudiadas, se pudo observar que las cepas de *Campylobacter jejuni* poseen mayor diversidad en la distribucion de factores de virulencia con respecto a *Campylobacter coli*. Las cepas de *Campylobacter jejuni* presentaron diferentes perfiles de presentacion de los factores de virulencia estudiados.

El perfil de factores mas observado en las cepas en este estudio fueron las que presentaron el perfil *flaA*, *ctdC*, *cadF*, *ctdB*, *dnaJ*, *racR*. En las cepas de *Campylobacter coli* se pudo detectar solo la presencia de los genes *flaA*, *cadF* y *ctdC*.

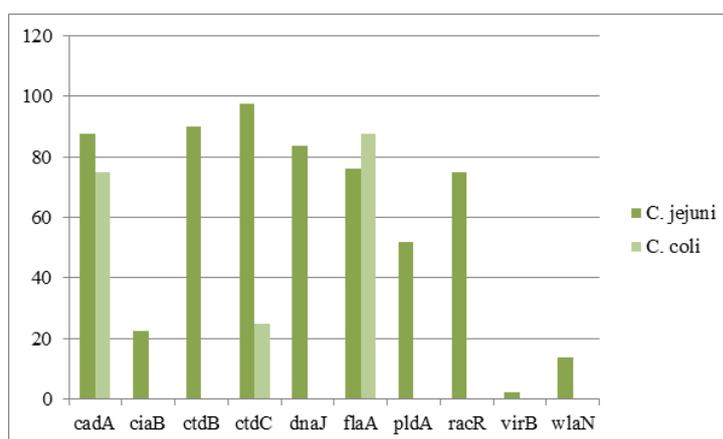
**Tabla 2.** Factores de virulencia en cepas de *Campylobacter* spp. Estudiadas.

| Factores de virulencia | Frecuencia | Porcentaje | IC 95%          |
|------------------------|------------|------------|-----------------|
| cadF                   | 146        | 86.90%     | 80.85% - 91.61% |
| ciaB                   | 36         | 21.43%     | 15.48% - 28.41% |
| ctdB                   | 143        | 85.12%     | 78.82% - 90.13% |
| ctdC                   | 158        | 94.05%     | 89.33% - 97.11% |
| dnaJ                   | 134        | 79.76%     | 72.88% - 85.56% |
| fla                    | 161        | 95.83%     | 90.02% - 97.41% |
| pldA                   | 83         | 49.40%     | 41.62% - 57.21% |
| racC                   | 120        | 71.43%     | 63.96% - 78.12% |
| virB                   | 4          | 2.38%      | 0.65% - 5.98%   |
| wlaN                   | 22         | 13.10%     | 8.39% - 19.15%  |

**Tabla 3.** Resistencia antimicrobiana para *Campylobacter* spp.

| Antimicrobiano | Rango CIM (mg/L) | Puntos de corte CIM (mg/L)* |    |      | Frecuencia (%) |   |           |
|----------------|------------------|-----------------------------|----|------|----------------|---|-----------|
|                |                  | S                           | I  | R    | S              | I | R         |
| Eritromicina   | 0.016 - 256      | ≤ 8                         | 16 | ≥ 32 | 168 (100)      | - | 0 (0)     |
| Tetraciclina   | 0.016 - 256      | ≤ 4                         | 8  | ≥ 16 | 162 (96.43)    | - | 6 (3.57)  |
| Ciprofloxacina | 0.002 - 32       | ≤ 1                         | 2  | ≥ 4  | 82 (48.8)      | - | 86 (51.2) |

\*Valores de punto de corte de CLSI CIM. CLSI, Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio. CIM, concentración inhibitoria mínima; S, sensible; I, intermedio; R, resistente.



**Grafico 1.** Distribución de perfiles de virulencia en porcentajes según especies de *Campylobacter*.

En cuanto a la resistencia antimicrobiana observada en cepas de *Campylobacter* spp., en este estudio se pudo observar una sensibilidad del 100% a la droga antimicrobiana eritromicina, 51 % de resistencia a ciprofloxacina y un 6 % de resistencia a tetraciclina.

**DISCUSION**

Las cepas analizadas en este estudio, fueron revividas en agar sangre directamente de cepas conservadas a -80°C. No se pudo analizar cepas de años anteriores ya que no estaban viables en el momento de recuperación, por lo tanto, se procedió a trabajar con cepas de los últimos años. Sería importante revisar los procedimientos de conservación de cepas para este tipo de bacterias. Por otro lado, todas las detecciones realizadas en este estudio fueron realizadas por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, lo cual genera un proceso tedioso, ya que la mayoría de los genes detectados tenían temperaturas de alineamiento diferente. La implementación de PCR tiempo real para la detección de estos genes u otra técnica molecular como secuenciación de genoma completo presentarían una mayor sensibilidad, especificidad rapidez y una mayor información genética.

Las cepas de *Campylobacter* spp., estudiadas en su mayoría correspondieron a la especie *Campylobacter jejuni* (95%). La frecuencia alta de *Campylobacter jejuni* encontrada respecto a *Campylobacter coli*, concuerda con estudios realizados en el país como el de Huber et al.<sup>(1)</sup>, Orrego et al.<sup>(2)</sup>. Asi mismo, es lo reportado en la mayoría de otros estudios como Nejabat et al.<sup>(31)</sup>,

Notario et al.<sup>(32)</sup>, Gonzalez Hein et al.<sup>(33)</sup>, Ghorbanalizadgan et al.<sup>(34)</sup>, entre otros.

Se pudo observar, una diversidad de genes de virulencia en cepas de las especies de *Campylobacter* estudiadas, mayor presentación de dichos genes en las cepas de *Campylobacter jejuni*, con diferentes perfiles de genes de virulencia entre cepas, no así, en las cepas de *Campylobacter coli*, donde, se pudo detectar la presencia solamente de 3 genes de virulencia, como, el gen *flaA* y los genes *cadF* y *ctdC*.

La frecuencia de los factores de virulencia estudiados, destacaron, una mayor proporción detectada de genes de la toxina de distensión citolítica (CDT) entre estos, los genes *cdtB* y *cdtC*, los cuales están involucrados en la unión con la célula huesped e ingresó al interior de la misma hasta el compartimiento del nucleo activando una actividad DNASA llevando a la apoptosis de la célula. El rol crucial de estas toxinas dentro de la patología intestinal dando lugar a una infección gastrointestinal prolongada y con grave inflamación de la mucosa <sup>(35)</sup>. La alta frecuencia de estos factores de virulencia también se destaca en el estudio de González Hein et al. <sup>(33)</sup>, Bang et al. <sup>(36)</sup>; Data et al. <sup>(37)</sup>; Rozne et al. <sup>(38)</sup>; Den et al. <sup>(39)</sup>, no así en el estudio realizado por Rizal et al. <sup>(40)</sup>, donde reportó un 28% de *cdtB*.

Se detectó entre un 80% y 70% de los genes *dnaJ* y *racR* , siendo estos, genes de proteínas que juegan un papel importante en la termoregulación y termotolerancia. Estos genes no fueron detectados en cepas de *Campylobacter coli*. Lo mismo fue reflejad

por otros estudios como el de Tarkut et al.<sup>(41)</sup>, Bardon et al.<sup>(48)</sup>.

El gen *flaA* que codifica la proteína flagelina, factor de virulencia importante dentro del estudio de este patógeno y el gen *cadF*, ambos involucrados en la adhesión celular. Se pudieron detectar estos genes en ambas especies de *Campylobacter* estudiadas, en mayor proporción el gen *flaA* seguido de el gen *cadF*. El gen *ciaB* involucrado en la translocación celular se detectó en menor proporción que los genes citados anteriormente. Ghorbanalizadgan et al.<sup>(34)</sup>, en su estudio realizado detectó el 100% de los genes *flaA*, *cadF* y *ciaB*.

En menor frecuencia fueron detectados los genes involucrados en la invasión celular como *pldA*, responsable de la síntesis de la fosfolipasa de membrana importante en la colonización y *virB*, codifica al plasmido pVIR que ayuda en la penetración e invasión. La baja proporción de detección del gen *virB*, también fue reportado por González Hein et al.<sup>(33)</sup>.

En este estudio, fue detectado un 13% del gen *wlaN* involucrado con otros genes en la producción de B-1,3 galactosyltransferasa, responsable de la biosíntesis de GM<sub>1</sub>, asociados con el riesgo de desarrollar Síndrome de Guillain Barre (GBS). Se observó reporte similar en el estudio de Kordinas et al.<sup>(42)</sup>, otros estudios presentaron frecuencias más altas de detección del gen como el de Casabonne et al.<sup>(43)</sup> y Datta et al.<sup>(37)</sup> con un 20 a 25 %. En cambio, un estudio realizado por Nejabat et al.<sup>(31)</sup>, reportó una frecuencia de 4,6% en un estudio realizado.

Es importante destacar la detección de este gen, ya que, el gen *wlaN* solo fue detectado en cepas de *Campylobacter jejuni*. Teniendo en cuenta que es la especie aislada con mayor frecuencia en el país y la relevancia de la presencia del gen como factor de riesgo para el desarrollo de ciertas patologías, podría resultar interesante a nivel epidemiológico y clínico.

La resistencia antimicrobiana observada en este estudio, destacó, una resistencia del 51% a ciprofloxacina, 6% a tetraciclina y no presentó resistencia a eritromicina. En nuestro país, según estudios realizados años anteriores, la resistencia a quinolonas se mantiene. Como lo reportado por Orrego et al.<sup>(2)</sup>, en el año 2014, con un 49% de resistencias a quinolonas y Huber et al.<sup>(1)</sup>, en el 2019, reportó un 48% de resistencia a ciprofloxacina. Estudios como el de García et al.<sup>(44)</sup> y otros destacan que la resistencia a ciprofloxacina está presente en cepas aisladas principalmente de pacientes pediátricos en los cuales no se utilizan quinolonas como tratamiento empírico de diarrea, por tanto se podría suponer que la infección ha sido provocada por bacterias previamente resistentes asociado el aumento de la resistencia a las quinolonas con la introducción de estos fármacos en la industria avícola, principalmente enrofloxacina, cuyo metabolito activo es ciprofloxacina<sup>(45-47)</sup>. Sería importante el reporte y la vigilancia a nivel de la industria avícola en nuestro país. También se reportaron resistencia a tetraciclina en un 28%. Hasta el momento no se han reportado en el país datos importantes de resistencia a eritromicina que es la droga de elección al tratamiento. Resistencias similares a ciprofloxacina presentan estudios como el de Notario et al.<sup>(32)</sup>, Bardon et al.<sup>(48)</sup>.

## CONCLUSIÓN

La identificación de los factores de virulencia nos permite reconocer la importancia de los mismos para la mejor comprensión de la patogénesis en ciertos procesos infecciosos extraintestinales que se presentan o se podrían presentar después de un cuadro diarreico agudo por este patógeno.

El conocimiento de la resistencia antimicrobiana es la clave para el desarrollo de terapias para el tratamiento de las infecciones, así como mejorar nuestra comprensión de la patogénesis. Dado el patrón de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter* spp., que ha presentado en este estudio, es importante realizar la vigilancia de su susceptibilidad in vitro, especialmente para aquellos antimicrobianos utilizados de manera empírica en el tratamiento de la enterocolitis bacteriana y en aquellas cepas aisladas de pacientes con enfermedades invasoras o inmunocomprometidos.

**Contribución de autores:** Maria Orrego colaboro en la concepción del estudio original, elaboración de los instrumentos, coordinación del trabajo de campo, administración de recursos y redacción del artículo científico. Natalie Weiler colaboro en la gestión y redacción del artículo científico, en la concepción del estudio original, revisión de los instrumentos. Flavia Ortiz colaboro en el apoyo en el trabajo de campo, recolección de datos cualitativos. Mercedes Alvarez colaboro en el apoyo en el trabajo de campo, recolección de datos cualitativos. Jazmin Martinez colaboro en el apoyo en el trabajo de campo, recolección de datos cualitativos. Abadina Acosta colaboro en el apoyo en el trabajo de campo, recolección de datos cualitativos, revisión del manuscrito. Deili Cuevas colaboro en el apoyo en el trabajo de campo, recolección de datos cualitativos, revisión del manuscrito. Ruth Duarte colaboro en el apoyo en el trabajo de campo, recolección de datos cualitativos, revisión del manuscrito. Rosa Portillo colaboro en el apoyo en el trabajo de campo, recolección de datos cualitativos, revisión del manuscrito.

**Conflictos de interés:** Los autores declaran no tener conflictos de intereses con los datos presentados en el presente trabajo

**Financiación:** Laboratorio Central de Salud Pública del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Asunción. Paraguay.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Huber C, Orrego MV, Ortiz F, Álvarez M, Weiler N. Prevalencia de patógenos causantes de enfermedad diarreica aguda en el área Metropolitana de Asunción y Central. Rev salud publica Parag. 2019;9(2):41-5. Doi: 10.18004/rspp.2019.diciembre.41-45.
2. Orrego M, Weiler N, Portillo R, Lird G, Acosta L, Ortiz F, et al. Síndrome diarreico agudo causado por *Campylobacter* spp. en pacientes menores de 11 años y su resistencia antimicrobiana a las drogas de elección para tratamiento 2010-2012, Paraguay. Pediatría (Asunción). 2014;41(2):127-30. Disponible: <http://scielo.iics.una.py/pdf/ped/v41n2/v41n2a05.pdf>.
3. Gutiérrez S, Orellana D, Martínez C, García Mena V, Gutiérrez S, Orellana D, et al. Caracterización de cepas

- de *Campylobacter jejuni* obtenidas desde carne de pollo y heces de aves de corral de la zona central de Chile. *Revista médica de Chile*. 2017;145(12):1551-8. Doi: 10.4067/s0034-98872017001201551.
4. Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2015;28(3):687-720. Doi: 10.1128/CMR.00006-15.
  5. Nielsen H, Hansen KK, Gradel KO, Kristensen B, Ejlertsen T, Østergaard C, et al. Bacteraemia as a result of *Campylobacter* species: a population-based study of epidemiology and clinical risk factors. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(1):57-61. Doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.02900.x.
  6. Berradre-Sáenz B, Yáñez-Ortega JL, García-Sánchez L, Melero-Gil B, Rovira-Carballido J, Carramiñana-Martínez I, et al. Epidemiología de la campilobacteriosis en Castilla y León durante el período 2008-2015. *Revista Española de Salud Pública* [Internet]. 2017 [citado 6 de junio de 2023];91. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/170/17049838025/html/>.
  7. Swartz MN. Human diseases caused by foodborne pathogens of animal origin. *Clin Infect Dis*. 2002;34 Suppl 3:S111-122. Doi: 10.1086/340248
  8. Fitch BR, Sachen KL, Wilder SR, Burg MA, Lacher DW, Khalife WT, et al. Genetic diversity of *Campylobacter* sp. isolates from retail chicken products and humans with gastroenteritis in Central Michigan. *J Clin Microbiol*. 2005;43(8):4221-4. Doi: 10.1128/JCM.43.8.4221-4224.2005
  9. Miller W, Mandrell R. *Campylobacter* in the food and water supply: Prevalence, outbreaks, isolation, and detection. In: Ketley J, Konkel M, editors. *Campylobacter jejuni*: New perspectives in molecular and cellular biology. Norfolk, UK. Horizon Scientific Press, 101-63.
  10. Wiczorek K, Szewczyk R, Osek J. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from retail raw meat in Poland. *Veterinarni Medicina* 2012; 57, 293–9.
  11. Engberg J, Aarestrup FM, Taylor DE, Gerner-Smidt P, Nachamkin I. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg Infect Dis*. 2001;7(1):24-34. Doi: 10.3201/eid0701.010104.
  12. van den Berg B, Walgaard C, Drenthen J, Fokke C, Jacobs BC, van Doorn PA. Guillain-Barré syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Nat Rev Neurol*. 2014;10(8):469-82. Doi: 10.1038/nrneurol.2014.121.
  13. Quetz J da S, Lima IFN, Havt A, Prata MMG, Cavalcante PA, Medeiros PHQS, et al. *Campylobacter jejuni* infection and virulence-associated genes in children with moderate to severe diarrhoea admitted to emergency rooms in northeastern Brazil. *J Med Microbiol*. 2012;61(Pt 4):507-13. Doi: 10.1099/jmm.0.040600-0.
  14. Schiaffin F, Kosek MN. Intestinal and extra-intestinal manifestations of *Campylobacter* in the immunocompromised host. *Curr Treat Options Infect Dis*. 2020;12(4):361-74. Doi: 10.1007/s40506-020-00243-4.
  15. Wheeler NE, Blackmore T, Reynolds AD, Midwinter AC, Marshall J, French NP, et al. Genomic correlates of extraintestinal infection are linked with changes in cell morphology in *Campylobacter jejuni*. *Microb Genom*. 2019;5(2):e000251. Doi: 10.1099/mgen.0.000251.
  16. Yamasaki S, Asakura M, Tsukamoto T, Faruque SM, Deb R, Ramamurthy T. Cytolethal distending toxin (cdt): genetic diversity, structure and role in diarrheal disease. *Toxin Reviews*. 2006;25(1):61-88. Doi: 10.1080/15569540500320938.
  17. Reddy S, Zishiri OT. Genetic characterisation of virulence genes associated with adherence, invasion and cytotoxicity in *Campylobacter* spp. isolated from commercial chickens and human clinical cases. *Onderstepoort J Vet Res*. 2018;85(1):e1-9. Doi: 10.4102/ojvr.v85i1.1507.
  18. Broaders E, Gahan CGM, Marchesi JR. Mobile genetic elements of the human gastrointestinal tract: potential for spread of antibiotic resistance genes. *Gut Microbes*. 2013;4(4):271-80. Doi: 10.4161/gmic.24627
  19. Cho HH, Kim SH, Min W, Ku BK, Kim YH. Prevalence of virulence and cytolethal distending toxin (CDT) genes in thermophilic *Campylobacter* spp. from dogs and humans in Gyeongnam and Busan, Korea. *Korean Journal of Veterinary Research*. 2014;54(1):39-48. Doi: 10.14405/kjvr.2014.54.1.39.
  20. Tadesse DA, Bahnson PB, Funk JA, Thakur S, Morrow WEM, Wittum T, et al. Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Campylobacter* spp. isolated from conventional and antimicrobial-free swine production systems from different U.S. regions. *Foodborne Pathog Dis*. 2011;8(3):367-74. Doi: 10.1089/fpd.2010.0665.
  21. Zaidi MB, McDermott PF, Campos FD, Chim R, Leon M, Vazquez G, et al. Antimicrobial-resistant *Campylobacter* in the food chain in Mexico. *Foodborne Pathog Dis*. 2012;9(9):841-7. Doi: 10.1089/fpd.2012.1127.
  22. Osaili TM, Alaboudi AR, Al-Akhras RR. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. in live and dressed chicken in Jordan. *Foodborne Pathog Dis*. 2012;9(1):54-8. Doi: 10.1089/fpd.2011.0953.
  23. Taboada EN, Clark CG, Sproston EL, Carrillo CD. Current methods for molecular typing of *Campylobacter* species. *J Microbiol Methods*. 2013;95(1):24-31. Doi: 10.1016/j.mimet.2013.07.007
  24. Abley MJ, Wittum TE, Funk JA, Gebreyes WA. Antimicrobial susceptibility, pulsed-field gel electrophoresis, and multi-locus sequence typing of *Campylobacter coli* in swine before, during, and after the slaughter process. *Foodborne Pathog Dis*. 2012;9(6):506-12. Doi: 10.1089/fpd.2011.1053
  25. Ahmed MU, Dunn L, Ivanova EP. Evaluation of current molecular approaches for genotyping of *Campylobacter jejuni* strains. *Foodborne Pathog Dis*. 2012;9(5):375-85. Doi: 10.1089/fpd.2011.0988
  26. Buchanan CJ, Webb AL, Mutschall SK, Kruczkiewicz P, Barker DOR, Hetman BM, et al. A Genome-Wide Association Study to identify diagnostic markers for human pathogenic *Campylobacter jejuni* strains. *Front Microbiol*. 2017;8:1224. Doi: 10.3389/fmicb.2017.01224
  27. Farace M, Viñas M. Manual de procedimientos para el aislamiento y caracterización de *Campylobacter* spp. Departamento de Bacteriología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" Centro Regional de Referencia WHO-Global Salm Surv para América del Sur, Buenos Aires: 2007.

28. Persson S, Olsen KE. Multiplex PCR for identification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* from pure cultures and directly on stool samples. *J Med Microbiol*. 2005;54(Pt 11):1043-7. Doi: 10.1099/jmm.0.46203-0.
29. Talukder KA, Aslam M, Islam Z, Azmi IJ, Dutta DK, Hossain S, et al. Prevalence of virulence genes and cytolethal distending toxin production in *Campylobacter jejuni* isolates from diarrheal patients in Bangladesh. *J Clin Microbiol*. 2008;46(4):1485-8. Doi: 10.1128/JCM.01912-07.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). In: Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacterial; Approved Guideline-Second Edition CLSI, Wayne, PA, Document M45-A2. 2010.
31. Nejabat M, Bazargani A, Nazari N. The frequency of virulence genes: flaa, hipo and wlan among *Campylobacter jejuni* isolates obtained from clinical specimens in shiraz teaching hospitals. *Revista Publicando*. 2018;5(Extra 17 (Special Issue-Medical Sciences&Education)):140-8. .
32. Notario R, Borda N, Gambandé T, Bermejo J, Ponessa A, Toledo V. Cepas de *Campylobacter jejuni* resistentes a quinolonas aisladas de humanos, gallinas y pollos. *Medicina (Buenos Aires)*. agosto de 2011;71(4):331-5.
33. González Hein G, Huaracán B, García P, Figueroa G. Prevalence of virulence genes in strains of *Campylobacter jejuni* isolated from human, bovine and broiler. *Braz J Microbiol* 2013;44(4): 1223–9.
34. Ghorbanalizadgan M, Bakhshi B, Anoshi A, Lili K, Najjar-Peerayeh K, Nikmanesh B. A Molecular Survey of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter Coli* Virulence and Diversity. *Iran Biomed J*. 2014 Jul; 18(3): 158–164. Doi: 10.6091/ibj.1359.2014
35. Ge Z, Schauer DB, Fox JG. In vivo virulence properties of bacterial cytolethal-distending toxin. *Cell Microbiol* 2008;10:1599-607. Doi: 10.1111/j.1462-5822.2008.01173.x.
36. Bang DD, Nielsen EM, Scheutz F, Pedersen K, Handberg K, Madsen K. PCR detection of seven virulence and toxin genes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from Danish pigs and cattle and cytolethal distending toxin production of the isolates. *J Appl Microbiol* 2003;94:1003-1014. Doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.01926.x.
37. Datta S, Niwa H, Itoh K. Prevalence of 11 pathogenic genes of *Campylobacter jejuni* by PCR in strains isolated from humans, poultry meat and broiler and bovine faeces. *J Med Microbiol* 2003; 52:345-348. Doi: 10.1099/jmm.0.05056-0
38. Rozynek E, Dzierzanowska-Fangrat K, Jozwiak P, Popowski J, Korsak D, Dzierzanowska D. Prevalence of potential virulence markers in Polish *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. *J Med Microbiol* 2005;54:615-619. Doi: 10.1099/jmm.0.45988-0.
39. Van Deun K, Haesebrouck F, Heyndrickx M, Favoreel H, Dewulf J, Ceelen L, et al. Virulence properties of *Campylobacter jejuni* isolates of poultry and human origin. *J Med Microbiol*. octubre de 2007;56(Pt 10):1284-9. Doi: 10.1099/jmm.0.47342-0.
40. Rizal A, Kumar A, Vidyarthi A. Prevalence of pathogenic genes in *Campylobacter jejuni* isolated from poultry and human. *Internet Journal of Food Safety* 2010;12:29-34.
41. Thakur S, Zhao S, McDermott PF, Harbottle H, Abbott J, Inglesa L, et al. Antimicrobial resistance, virulence, and genotypic profile comparison of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from humans and retail meats. *Foodborne Pathog Dis* 2010;7(7): 835-844. Doi: 10.1089/fpd.2009.0487.
42. Kordinas V, Nicolaou C, Ioannidis A, Papavasileiou E, John Legakis N, Chatzipanagiotou S. Prevalence of four virulence genes in *Campylobacter jejuni* determined by PCR and sequence analysis. *Mol Diagn*. 2005;9(4):211-5. doi: 10.1007/BF03260094.
43. Casabonne C, Gonzalez A, Aquili V, Subils T, Balague C. Prevalence of Seven Virulence genes of *Campylobacter jejuni* isolated from patients with diarrhea in Rosario, Argentina. *International Journal of Infection* 2016: 3(4): e37727. Doi: 10.17795/iji-37727
44. García P, Valenzuela N, Rodríguez MV, León E, Fernández H. Susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* aislado de coprocultivos en Santiago de Chile. *Revista chilena de infectología*. diciembre de 2009;26(6):511-4. Doi: 10.4067/S0716-10182009000700004
45. Molina J, Casin I, Hausfater P, Giretti E, Welker Y, Decazes J, et al. *Campylobacter* infections in HIV-infected patients: clinical and bacteriological features. *AIDS* 1995; 9: 881-5. Doi: 10.1097/00002030-199508000-00008
46. Threlfall E. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* and animal drug use. *Int J Infect Dis* 2004; 8: 190-2. doi:10.1016/j.ijid.2004.02.002
47. Wardak S, Szych J, Zasada A, Gierczynski R. Antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* clinical isolates from Poland. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 1123-25. doi: 10.1128/AAC.01187-06
48. Bardon J, Kolar M, Cekanova L, Hejnar P, Koukalova D. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and its resistance to antibiotics in poultry in the Czech Republic. *Zoonosis Public Health* 2009; 56: 111-6. Doi: 10.1111/j.1863-2378.2008.01176.x.