Diagnóstico etiológico de *Campylobacter* como agente de diarrea infantil y su implicancia clínica y epidemiológica.

Orientadora: Laura Betancor

Estudiantes: Verónica Adaime, Pedro Catalurda, Deborah Luna, Gonzalo Machado.

Grupo 69

Contenido

RESUMEN 3

FUNDAMENTACIÓN DE LA PROPUESTA 4

INTRODUCCIÓN 5

HISTORIA 6

MICROBIOLOGÍA 6

EPIDEMIOLOGÍA 7

PATOGENIA 8

CLÍNICA 9

DIAGNÓSTICO 9

TRATAMIENTO 11

OBJETIVOS 12

OBJETIVO GENERAL DEL TRABAJO 12

OBJETIVOS ESPECÍFICOS 12

METODOLOGÍA 12

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA 13

EPIDEMIOLOGÍA 14

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS 17

TRATAMIENTO Y RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS 19

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS 20

BIBLIOGRAFÍA 23

RESUMEN

Campylobacter es uno de los principales agentes de diarrea infantil y de enfermedades transmitidas por alimentos en todo el mundo.

Son bacterias que colonizan el tracto gastrointestinal de varias especies animales por lo que éstos representan su principal reservorio y fuente de contagio, considerándose una zoonosis.

Se trata de microorganismos microaerofílicos exigentes nutricionalmente, por lo que su aislamiento requiere utilizar medios selectivos además de generadores de atmósfera microaerofílica lo que encarece el cultivo.

El aislamiento a partir de la materia fecal tiene una sensibilidad baja, por lo cual se intenta desde hace años la implementación de métodos más eficientes.

Si bien las infecciones por *Campylobacter* son en general autolimitadas, existen situaciones en las que la antibioticoterapia está indicada.

Nos planteamos realizar una investigación bibliográfica centrada en analizar la prevalencia de estas infecciones en diferentes regiones del mundo, revisar los métodos diagnósticos disponibles e indagar a que antibióticos presenta resistencia *Campylobacter.*

Para esto, realizamos una búsqueda bibliográfica en dos bases de datos (PubMed y Scielo), obteniendo un total de 156 artículos publicados en los últimos 5 años. De éstos, y luego de la lectura de todos los resúmenes, seleccionamos 31 trabajos sobre los cuales nos basamos para redactar esta monografía.

La incidencia de *Campylobacter* como agente de diarrea infantil ha aumentado en los últimos años y la prevalencia parece ser similar en las distintas regiones.

Sin embargo en muchos países no se realiza búsqueda sistemática de *Campylobacter* por lo que no hay cifras confiables de prevalencia.

Los métodos diagnósticos moleculares, especialmente aquellos basados en PCR tienen varias ventajas comparadas con el cultivo, como la rapidez en el diagnóstico, mayor sensibilidad y especificidad.

Sin embargo, se sigue usando el cultivo como Gold Standard.
En los últimos años se detectó un aumento de la resistencia de *Campylobacter* a distintos antibióticos y especialmente a macrólidos y quinolonas que son los más utilizados en el tratamiento de la campylobacterosis.

FUNDAMENTACIÓN DE LA PROPUESTA

En Sudamérica y en particular en nuestra región la campylobacteriosis es una zoonosis muy extendida pero muy poco estudiada debido a las dificultades inherentes al cultivo que requiere de infraestructuras generalmente no disponibles en los laboratorios de microbiología clínica.

En Argentina, Brasil y Chile se estima que *Campylobacter* es el segundo agente causal de diarrea infantil. En Uruguay no se tienen datos epidemiológicos ya que no se busca de rutina en laboratorios de microbiología clínica. Los únicos datos disponibles en nuestro país fueron obtenidos en el marco de investigaciones realizadas en la Facultad de Medicina que muestran una prevalencia importante de *Campylobacter* en diarreas infantiles.

En países del primer mundo está comprobado que es una de la zoonosis emergentes de mayor expansión y es un agente muy importante de enfermedad transmitida por alimentos.

Por estos motivos, nos interesa realizar una investigación sobre el tema, con el fin de conocer los distintos métodos diagnósticos y saber cuáles son los mejores para su detección. También queremos saber más sobre la epidemiología del patógeno en el mundo. Otro punto que queremos investigar es la resistencia a antibióticos por parte de *Campylobacter*, lo que es una problemática a nivel de salud pública por la frecuencia de estas infecciones y sus complicaciones.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por alimentos se definen como aquellas en las que una o más personas padecen una enfermedad similar que involucra casi siempre el tracto gastrointestinal, después de la ingestión de alimentos o agua en común (1).

Estas enfermedades, pueden ser muy variadas, comprometiendo desde la esfera gastrointestinal a la neurológica. De todas formas el compromiso gastrointestinal es el más frecuente y la mayoría de estas enfermedades cursan con diarrea y vómitos de variada intensidad.

Cada vez más las Enfermedades Trasmitidas por Alimentos, se presentan como un desafío, sobre todo para países como el nuestro con marcada vocación productora y exportadora de alimentos. Hoy en día se tratan de controlar los alimentos y agua que consumen los animales. Sobre todo porque cada vez más, los patógenos de enfermedad transmitidas por alimentos tienen un reservorio animal, son verdaderas zoonosis y se diseminan rápidamente. Por otra parte se observa un aumento de la resistencia a los antimicrobianos (2).

La enfermedad diarreica aguda es la manifestación clínica más común de la infección del tracto gastrointestinal. Esta entidad se manifiesta por el aumento del número de deposiciones que son acuosas, o con mucus o sangre, vómitos, fiebre o dolor abdominal. La enfermedad diarreica aguda en niños menores de 2 años se define por: tiempo de evolución menor a 7 días al momento de la consulta; dos o más deposiciones liquidas o semilíquidas en 12 horas o una o más deposiciones liquidas o semilíquidas con mucus y sangre en 12 horas. En nuestro país la mortalidad por diarrea aguda ha ido en descenso en las últimas décadas, vinculado a la mejora de las condiciones higiénicas y disponibilidad de agua potable (1).

Salmonella y Campylobacter son los principales agentes de enfermedades transmitidas por alimentos en todo el mundo. En Uruguay *Salmonella* es buscado rutinariamente en los coprocultivos, sin embargo, *Campylobacter* no es buscado. Por esto nos pareció interesante enfocarnos en *Campylobacter.*

Campylobacter pertenece a la familia *Campylobacteraceae*. Las especies más frecuentes son *C. jejuni y C. coli* que se asocian tanto a infecciones humanas como animales. *C. jejuni* es la especie más prevalente como causa de infección humana, y se divide en dos sub especies *C. jejunijejuni y C. jejunidoley.*

La infección por *Campylobacter spp*. es una de las causas más comunes de gastroenteritis bacteriana. Es la enfermedad entérica bacteriana más común en los países desarrollados siendo *C. jejuni* la causa más frecuente de diarrea infecciosa aguda (3).

Campylobacter es una bacteria que se encuentra colonizando el tracto gastrointestinal de una gran cantidad de especies animales, por lo que éstos representan su principal reservorio.

Los animales de producción de alimentos constituyen entonces la principal fuente para la infección humana, siendo la campylobacteriosis considerada una zoonosis. La carne de pollo es la fuente más común de infección por *Campylobacter* (3).

La campylobacteriosis es una de las causas más importantes de mortalidad y morbilidad en niños causada por enfermedad diarreica (4).

HISTORIA

El primer reconocimiento de una infección por *Campylobacter* fue reportada a principio del siglo XX por veterinarios, reconociendo en ese momento a *Vibrio fetus*, ahora conocido como *C. fetus* como causa de aborto en ovejas y ganado. En 1947 *V. fetus* fue reportado como causa de aborto séptico en una mujer, y durante las siguientes 3 décadas se consideró a este organismo como un patógeno oportunista, invasivo que infectaba personas inmuno comprometidas. En 1973 se describió el género *Campylobacter*. El desarrollo de medios selectivos para aislamiento de *Campylobacter* en la materia fecal llevo a que en

1980 se reconociera como causa importante de enfermedad gastrointestinal en humanos. A fines de 1980 se determinó como la especie más común de la diarrea en el mundo (4).

MICROBIOLOGÍA

Son bacterias del grupo de las épsilon-proteobacterias con forma de finos bacilos curvos o espiralados, Gram negativos, exigentes nutricionalmente y microareofílicos. Poseen un flagelo polar o bipolar que les permite un movimiento característico en saca corcho. Todas las especies son capaces de desarrollar a 37°C, pero *C.jejuni* y *C. coli* son termofílicos por lo que crecen bien a una temperatura de 42°C.

Son microorganismos de crecimiento lento, por lo que necesitan de 48 a 72 horas en atmósfera microaerofÍlica y a 42°C. Crecen más lento que la mayoría de las bacterias de la microbiota entérica. Son exigentes nutricionalmente, hay que utilizar medios selectivos muy ricos para su aislamiento primario a partir de las heces, así como también generadores de atmósfera microaerofílica, lo que encarece el cultivo.

Desde el punto de vista bioquímico son positivos a la prueba de la oxidasa, reducen nitratos a nitritos y son negativos a las pruebas de rojo de metilo y voges-proskauer.

Un porcentaje cada vez mayor de aislamientos presentan resistencia a distintos antimicrobianos, siendo particularmente importante la resistencia a macrólidos y quinolonas (5). Estos antibióticos son utilizados frecuentemente en la práctica médica, de allí la importancia de conocer la resistencia.

EPIDEMIOLOGÍA

La incidencia de *Campylobacter* asociada a la enfermedad diarreica producida por alimentos está en aumento, principalmente en los países industrializados, en los recientes años (2; 6; 7).

Chanqueo y colaboradores en el año 2005, reportaron *Campylobacter spp.* como el segundo enteropatógeno en frecuencia obtenido de muestras de coprocultivo de todos los rangos etáreos (6).

Ha sido estimado que solo 1 de cada 38 casos detectados de campylobacteriosis son informados (4). Esto sugiere que la prevalencia de *Campylobacter* es aún mayor que la registrada.

En un estudio realizado en el Departamento de Bacteriología y Virología de la Facultad de Medicina se muestra una prevalencia de 14.3% en niños con diarrea con sangre en Montevideo (8). Un estudio previo, reporto a *Campylobacter* como el agente causal entre el 1 y el 13% de los casos de diarrea en niños uruguayos (2; 9). *C. jejuni* se aisló por primera vez en Uruguay en 1984 durante el estudio etiológico de diarrea aguda en niños hospitalizados detectándose en el 4% de los pacientes (10).

Si bien *Campylobacter* está poco asociado a brotes epidémicos, es la primera causa de gastroenteritis en Europa y Estados Unidos, la segunda causa de diarrea infantil en Argentina y Chile y un importante agente de diarrea en Brasil (6, 11, 12).

En Sudamérica y en particular en nuestra región, la campylobacteriosis es una zoonosis muy extendida pero muy poco estudiada debido a las dificultades inherentes al cultivo (3).

Es una zoonosis endémica, predominando en los meses de verano. En los países en desarrollo predomina en los niños menores de dos años. La infección se debe al consumo o manipulación de pollo en países industrializados. Otras fuentes de infección son leche sin pasteurizar, salchichas, carne roja, agua contaminada, contacto con mascotas, especialmente aves. También se presenta en la diarrea del viajero. La transmisión persona a persona se considera inusual(4).

PATOGENIA

El daño al huésped y las manifestaciones clínicas dependen principalmente de tres factores: el inóculo ingerido, el estado inmunológico de huésped y los factores de patogenicidad de la bacteria.

Los microrganismos ingresan por la vía alimentaria y una pequeña porción resiste el pH estomacal, alcanzando el íleon distal y el ciego. Este patógeno

infecta colonizando el epitelio intestinal donde es internalizado hasta la submucosa utilizando a las células M hasta las placas de Peyer. Una vez en la submucosa inducen un importante influjo de células, citoquinas y otras moléculas pro inflamatorias responsables del inicio de una respuesta que causa el cuadro de gastroenteritis (13).

Campylobacter no interactúa de igual forma con las células del hospedador cuando infecta al hombre o a las aves. Aunque el mecanismo de patogenicidad en ambos se basa en la invasión de la mucosa, se diferencian en que solo en el hombre se replica intracelularmente dentro del enterocito. Esto puede explicar la ausencia de sintomatología en las aves. *Campylobacter* invade las células epiteliales del intestino delgado humano por su zona apical induciendo cambios en el citoesqueleto celular. La supervivencia intracelular está dada por la formación de una vacuola que evita la formación del fagolisosoma e induce la disrupción de uniones intercelulares. Las células M también son capaces de internalizar la bacteria, esto activa el sistema inmune que determina la liberación de citoquinas proinflamatorias, manifestándose clínicamente como diarrea (13). A lo largo del intestino ocurre una invasión de la lámina propia que resulta en una enterocolitis inespecífica, consecuentemente pueden aparecer complicaciones como degeneración y atrofia glandular, pérdida de la producción de mucus, absceso de las criptas y ulceración de la mucosa epitelial. El lipopolisacárido (LPS) de la pared bacteriana, con actividad endotóxica atípica, desempeña un rol central en el daño inflamatorio (14).

CLÍNICA

De manera típica la infección por *C. jejuni* está dada por un cuadro gastrointestinal agudo auto limitado que característicamente se presenta con diarrea fiebre y dolor abdominal. Es indistinguible clínicamente de infecciones causadas por otras bacterias, como *Salmonella, Yersinia* y *Shigella*. En la mayoría de los pacientes infantilesla presentación es una diarrea acuosa que puede acompañarse con sangre, en el pico máximo de la enfermedad hay entre 8 y 10 deposiciones por día. La fiebre se encuentra en el 90% de los pacientes, alcanza temperaturas de 42º y puede durar hasta una semana (4).

Las complicaciones locales son resultado de la diseminación directa desde el tracto gastrointestinal y estas incluyen: colecistitis, pancreatitis y hemorragia gastrointestinal masiva (4).

Las manifestaciones extra intestinales son raras e incluyen: meningitis, endocarditis, artritis séptica y sepsis neonatal, la bacteriemia se encuentra en el 1% de los pacientes. La complicación post infecciosa más importante es el Síndrome de Guillain Barré (4).

DIAGNÓSTICO

El exámen microscópico directo de las heces es una herramienta de utilidad en la investigación inicial del paciente con enteritis, tanto para observar bacilos Gram negativos con morfología sugestiva de *Campylobacter* como para determinar la presencia de hematíes y leucocitos que pueden estar presentes en los casos causados por este agente.

Para el aislamiento a partir de materias fecales, los medios de cultivo selectivos más comunes se basan en agar sangre y antibióticos, como el agar Skirrow.

El desarrollo de técnicas de filtración que permiten el pasaje de estas bacterias pero no de las de mayor tamaño como las de la flora entérica, seguidas de una cultivo en medios no selectivos como agar sangre, han representado un avance significativo sobre el uso de medios selectivos. El cultivo requiere de atmósfera microerofílica, temperatura de 42° y un período de incubación de hasta 72 horas (2, 15,16).

Aun disponiendo de toda la infraestructura necesaria, el aislamiento de *Campylobacter* a partir de la materia fecal tiene una sensibilidad baja, por lo cual se intenta desde hace años la implementación de métodos más eficientes. Las especies de *Campylobacter* son difíciles de diferenciar por pruebas bioquímicas y hay escasos métodos estandarizados para su caracterización. Se pueden aplicar métodos de perfiles proteicos y moleculares, aunque aún no se ha establecido una técnica de biología molecular de referencia (17, 18).

Los métodos moleculares basados en la detección de regiones genéticas específicas del patógeno, tienen varias ventajas comparadas con el aislamiento

por cultivo, entre las que se destacan la rapidez en el diagnóstico, y una alta sensibilidad y especificidad. Estos métodos dan la posibilidad de detectar *Campylobacter spp.* directamente de la materia fecal al igual que con el asilamiento pero de una manera más rápida y eficaz. Además al ser aplicados sobre los aislamientos permiten realizar tanto la identificación a nivel de especie, como caracterizar al agente desde el punto de vista genético y su resistencia a antimicrobianos. Numerosos métodos basados en amplificación por PCR utilizan diferentes genes blanco (19, 20).

TRATAMIENTO

El mantenimiento de la hidratación y el balance electrolítico son la piedra angular del tratamiento de la enteritis por *Campylobacter,* al igual que en el resto de las diarreas. La mayoría de los pacientes con campylobacteriosis cursan una enfermedad autolimitada y no requieren tratamiento antimicrobiano. A pesar de esto, existen situaciones específicas donde la antibioticoterapia está indicada, estas incluyen: fiebre alta, disentería (diarrea con sangre, moco o pus), enfermedad prolongada (>1 semana), embarazo, infección por VIH y otros estados inmunodeprimidos (20).

La eritromicinaes considerada como el antibiótico de elección en el tratamiento de la campylobacteriosis por *C. jejuni* en niños (5). Es un antibiótico de bajo costo, seguro, fácil de administrar y bajo espectro. A diferencia de las fluoroquinolonas y las tetraciclinas, la eritromicina puede ser administrada seguramente a embarazadas y niños, y es menos probable que afecte la flora intestinal. También puede utilizarse tratamiento con azitromicina, y en ese caso la dosis recomendada de para niños es de5 a 10 mg por Kg por día dividida en 4 dosis durante 5 días (20).

Campylobacter también es susceptible a aminoglucósidos, clindamicina, nitrofurantoína e imipenem. Existen altos niveles de resistencia para tetraciclina, amoxicilina, ampicilina, metronidazol, y cefalosporinas, por eso no están indicados. Todas las especies de *Campylobacter* son naturalmente resistentes a vancomicina,rifampicina y trimetroprim (4), por lo tanto son los

que se usan para hacer los medios selectivos para el aislamiento (Dra. Laura Betancor, comunicación personal).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL DEL TRABAJO

Aportar conocimiento sobre diagnóstico etiológico de *Campylobacter* como agente de diarrea infantil, su implicancia clínica, epidemiológica y terapéutica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Comparar la prevalencia de campylobacteriosis como causa de diarrea infantil en nuestra región frente a EEUU y Europa.

Revisar los métodos disponibles a nivel internacional aplicables al diagnóstico de campylobacteriosis como causa de diarrea.

Comparar el valor de los métodos moleculares contra el cultivo convencional.

Indagara que antibióticos presenta resistencia *Campylobacter* y que porcentaje de cepas resistentes se aíslan en nuestra región.

METODOLOGÍA

Para investigar sobre el tema, realizamos una búsqueda bibliográfica exhaustiva en dos bases de datos diferentes, una fue hecha en PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed), y la otra en Scielo (www.scielo.org).

En PubMed utilizamos las siguientespalabras clave: “(Campylobacter) AND (diarrhoea OR diarrea OR stool OR gastroenteritis) AND (children OR child OR childhood OR pediatric)”. Los filtros que agregamos fueron: artículos desde 2009 a la fecha, en inglés o español, investigaciones realizadas en humanos, y que fueran llevadas a cabo con niños.

Para la búsqueda en Scielo utilizamos una palabra clave: “Campylobacter”. Los filtros también incluyeron los artículos publicados desde 2009 a la fecha,

considerando solo artículos publicados en español, de nuestra región, en el área de las ciencias de la salud y ciencias biológicas.

Para poder definir que artículos incluiríamos en nuestra revisión, leímos todos los resúmenes de los 156 artículos que resultaron de la búsqueda. De esa forma, obtuvimos un total de 31 artículos que fueron leídos, discutidos y analizados para obtener los resultados presentados en este trabajo.

Para obtener el texto completo de los artículos seleccionados, buscamos en la base de datos del Portal Timbó. Los que no estaban disponibles, los conseguimos vía mail contactándonos con los correspondientes autores.

Para poder cumplir el primer objetivo específico (es decir, comparar la prevalencia de campylobacteriosis como causa de diarrea infantil en nuestra región frente a EEUU y Europa), se tomaron en cuenta los artículos de origen europeo, estadounidense y sudamericano; ya que son las regiones en las que nos interesa investigar este aspecto.

Para evaluar los métodos diagnósticos, correspondiente al segundo objetivo específico, se tomaron en cuenta todos los artículos referentes a los mismos, sin exclusión geográfica.

Para indagar la resistencia de *Campylobacter* a antimicrobianos seleccionamos todos los artículos que hablaran sobre resistencia y cumplieran con los criterios de inclusión sin importar el país de proveniencia.

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

La búsqueda bibliográfica (que se detalló en la sección Métodos) nos arrojó un total de 156 artículos, de los cuales seleccionamos 31 artículos respetando los criterios de inclusión. El análisis de estos artículos permitió analizar los distintos temas planteados.

EPIDEMIOLOGÍA

En 9 de los artículos seleccionados encontramos información sobre epidemiología en las regiones a estudiar, es decir Uruguay, el resto de Sudamérica, EEUU y Europa.

La mayoría de los autores expresan que la incidencia de *Campylobacter* como agente de diarrea infantil ha aumentado con respecto a años anteriores (4, 7, 21, 22, 23, 24, 25). Hay países (por ejemplo Alemania), que llevan un registro de los casos de campylobacteriosis porque se busca el germen rutinariamente en laboratorios de microbiología clínica (25).Sin embargo en algunos países esto no se realiza y no hay cifras confiables al respecto de la epidemiología, más allá de algún estudio en particular, como sucede en nuestro país (Comunicación personal Dra. Inés Mota). Por lo tanto en muchas regiones se desconoce la incidencia real.

La mayoría de los autores también comparten que no se sabe si este aumento en la incidencia es real o si se debe a una mejora en los métodos diagnósticos, ya que en los últimos años hay una tendencia marcada a aplicar métodos moleculares para diagnosticar *Campylobacter* (7, 21, 22, 23, 24,25).

Una revisión sistemática sobre *Campylobacter* en América del Sur realizada por el Dr. Heriberto Fernández en el año 2011, analizó artículos provenientes de muchos países de Sudamérica (14). Muchos de estos artículos no aparecieron en nuestra búsqueda por haber sido excluídos al tratarse de trabajos publicados antes del año 2009. De todas formas nos parece pertinente citar algunas cifras ya que no se cuenta con muchos estudios en los últimos 5 años en nuestra región.

En Sudamérica el aislamiento de *Campylobacter* en niños con diarrea varía entre 2,3% y 23% entre los estudios. *C. jejuni* es la especie más frecuentemente aislada tanto en los países en vías de desarrollo de Sudamérica como en los países industrializados de otros continentes y, en estos últimos *C. coli* es reconocido como agente de diarrea entre el 5 y el 10% de todos los casos de diarrea por *Campylobacter*. Sin embargo, en Sudamérica *C. coli* ha sido aislado con mayor frecuencia representando cerca del 25% de

los casos de diarrea producidos por especies del género. Esto se explicaría porque en Sudamérica fue aislado a partir de agua de rio, hígados de pollo, materia fecal de pollos, carne de aves y aguas servidas. Es posible que exista una vinculación entre el medio ambiente y el consumo de alimentos con la mayor frecuencia de aislamiento de *C. coli* como agente de diarrea en esta región. Otra diferencia es el hallazgo frecuente de portadores sanos en países sudamericanos. En contraposición, en países industrializados el estado de portador sano es raro y de muy baja presentación. En la revisión citada, el Dr. Heriberto Fernández opina que el estado de portador sano de *Campylobacter* en países de América del Sur se relaciona con aspectos ligados a bajas condiciones de saneamiento básico (14).

En nuestro país se realizó un estudio entre el 2005 y 2006 buscando la etiología de diarrea con sangre en una muestra de 249 niños (8). En 49 de ellos se buscó la presencia de *Salmonella, Yersinia, E. Coli enteroinvasiva, Campylobacter y Aeromonas,* se encontró una prevalencia de 14,3% tanto para *Campylobacter* como para *Shigella* (8).

A excepción del artículo recién referido de Uruguay, nuestra búsqueda solo brindó dos artículos más de la región, y los dos fueron realizados en Brasil. En un artículo publicado en el año 2012 Quetz y colaboradores reportaron un estudio realizado sobre niños ingresados en emergencia por diarrea (21). En este trabajo, reportan que un 22,6% de los niños presentaban disentería. De éstos, en un 16,4% se detectó la presencia de *C. jejuni* mientras que el 1,4% presentó *C. coli*. La mayoría de los niños eran menores a 2 años, lo que es consistente con la franja etaria considerada más susceptible para diarreas en todo el mundo (21).

Otro estudio del mismo autor en Brasil, estudió la presencia de *Campylobacter* en un grupo de niños con diarrea y otro sano. En el noreste se encontró una prevalencia de *C. jejuni* de 9,6% en el grupo con diarrea y 7,2% en el grupo sin diarrea. En el sudeste de Brasil se encontró 11,2% en el grupo con diarrea y 6,6% en el grupo sin diarrea (22). Este es el único estudio realizado con una metodología de casosy controles que obtuvimos con nuestra búsqueda.

Saliendo de la región, en Estados Unidos *Salmonella spp.* Y *Campylobacter spp.* son reconocidos como la causa principal de gastroenteritis bacteriana. Combinados estos patógenos están por encima del 82% de las causas de enteritis causadas por alimentos (23). En Estados Unidos se estima una incidencia anual de 845,024 casos de campylobacteriosis (26).

Yendo a los datos que obtuvimos de Europa, encontramos que la epidemiología de *Salmonella y Campylobacter* cambió considerablemente en Reino Unido en las últimas 2 décadas (7). La incidencia de *Campylobacter* alcanzó un pico de 60000 infecciones en el año 2000, luego declinó pero desde 2004 ha aumentado (7). En este estudio se quería averiguar si el aumento en la incidencia se debe a un aumento real de la misma o a cambios en las tasas. En este trabajo, Janiec y colaboradores concluyen que es muy posible que el aumento de casos de campylobacteriosis reportados pueda relacionarse a un aumento en el número de estudios diagnósticos realizados, sobre todo en adultos mayores. Por lo tanto el aumento en la prevalencia sería un artefacto del aumento en la vigilancia epidemiológica. De todas formas este trabajo no excluye la posibilidad de que también haya un aumento real de la incidencia (7).

Algo muy interesante ocurre en Alemania, donde la detección de *Campylobacter* es de notificación obligatoria (25). Allí es la bacteria más comúnmente notificada en las gastroenteritis en la población general. La incidencia es mayor en niños de entre 0 y 4 años, particularmente en los niños de un año. La incidencia aumenta fuertemente de mayo a julio llegando a su pico en agosto (verano en ésta región). 90% de los casos son causados por *C. jejuni*, 7% por *C. coli* y 2% por otras especies como *C. lari, C. fetus y C. upsaliensis.* Un 10% de las campylobacteriosis necesitan ser hospitalizadas, esto ocurre más comúnmente en niños menores de un año (25).

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

La detección de *Campylobacter* en las heces es de gran importancia tanto para el tratamiento como para la investigación epidemiológica.

Una herramienta de utilidad en la búsqueda de *Campylobacter* en las heces es la observación microscópica directa. A pesar de su baja sensibilidad, en algunos laboratorios se utiliza la tinción de Gram modificada para buscar bacterias espiraladas sugestivas de *Campylobacter* (2,15,16).

Los métodos microbiológicos convencionales (el cultivo) para la detección de *Campylobacter* son tediosos y consumen mucho tiempo, ya que se trata de organismos son de crecimiento lento y tienen baja sensibilidad (2).

Muchas veces es problemático identificar a nivel de especie dentro del género Campylobacter. Luego de obtenido el aislamiento, diferenciar *C. jejuni* de *C. coli* por métodos bioquímicos resulta difícil debido a la extensa similitud entre ambos. La actividad de la Hippuricasa es la única que los discrimina, aunque a veces es muy débil en *C. jejuni* (18).

Los métodos moleculares basados en PCR presentan ventajas sobre el cultivo para detectar la presencia de *Campylobacter* en las heces, sobre todo en términos de sensibilidad. A su vez los métodos moleculares también se pueden usar para la identificación de especie luego de tener el asilamiento por cultivo (27, 28, 29).A pesar que se conocen claras ventajas, no se ha establecido un método molecular como referencia para el diagnóstico de Campylobacteriosis. Es así que se sigue usando el cultivo como gold estándar en países como Alemania donde *Campylobacter* se busca rutinariamente en los laboratorios de microbiología clínica (25).

De similar forma, en EEUU el cultivo también es el gold estándar para la detección de este patógeno (23).

Esta sección resume 9 artículos, en los cuales se compara la sensibilidad de los métodos diagnósticos para detección de *Campylobacter* en materia fecal de niños con diarrea. La comparación está enfocada en cultivo versus métodos inmunológicos y/o métodos moleculares.

Da Silva Quetz y colaboradores encontraron *Campylobacter* en un 6% de las muestras que cultivaron, mientras que con PCR se detecto17,8%.El estudio concluyo que los métodos moleculares fueron capaces de detectar una mayor proporción de muestras positivas que el cultivo (21).Collado y colaboradores hicieron un estudio de casos y controles y encontraron por cultivo un 10,7% en los casos y en un 1,7% en los controles. Cuando aplican métodos moleculares, encuentran 25,7% en los casos y 5,2% en los controles (30).En otro estudio, Inglis y colaboradores compararon un método de PCR con el cultivo convencional para realizar el diagnóstico de campylobacteriosis (31). Concluyeron que la detección por PCR no está sujeta a las limitaciones inherentes al cultivo, y por esta razón, el uso de PCR es una alternativa atractiva para detectar otras especies de *Campylobacter* aparte de *C. jejuni* y *C. coli* (31).

Siguiendo con estas comparaciones, Zhang y colaboradores reportan el desarrollo de una prueba de PCR en tiempo real para detectar *Campylobacter* (32). Al comparar los resultados obtenidos con éste método con los resultados obtenidos por cultivo, encontraron que todos los cultivos positivos se correlacionaron con PCR positivos. Además, la sensibilidad del ensayo de PCR resultaba mucho más alta que la del cultivo (32).

Sin embargo a diferencia de los artículos anteriores, en un estudio donde se aplica un PCR para determinar si resulta una mejor forma diagnostica comparada con los métodos ya existentes, encontraron que con el método convencional se detectó en el 4,8% y con el método de PCR se detectó el mismo número (33).

Buchan y colaboradores compararon un método de PCR con el cultivo para la identificación de múltiples patógenos. La detección en cultivo de *Campylobacter* fue de 1,8%y en el PCR fue de 2,3%. Este resultado sugiere que el PCR es más sensible (23). Un estudio realizado por Brianna y colaboradores también identifico múltiples patógenos comparando 3 nuevos métodos genéticos con el cultivo. Los tres métodos genéticos detectaron el mismo patógeno en la misma muestra, indicando que estos tienen buena

concordancia. Todos los métodos tenían similar sensibilidad, por lo tanto ninguno mostro beneficio sobre otro (34).De forma similar Lutful y colaboradores indican que la identificación de especies por PCR, se correlaciona muy bien con los resultados colectivos de 2 métodos genéticos, y es mucho más simple, conveniente y seguro que los métodos bioquímicos que se usan actualmente para la discriminación de las especies de *Campylobacter*(18).

En un estudio se compara la detección de *Campylobacter* por cultivo, dos métodos moleculares basados en PCR, y 3 análisis inmunoenzimáticos. El principal resultado de este estudio es la baja sensibilidad que muestra el cultivo de las heces para detectar *Campylobacter*. Este estudio realza las limitaciones del cultivo en la detección de *Campylobacter* a partir de las heces. Según los autores, el método con mejor sensibilidad fue el ELISA, seguido de los métodos moleculares. Pero la rápida detección por los ensayos inmunoenzimáticos que utilizaron es muy atractiva y requiere más estudios para especificar sus condiciones de uso. Ellos proponen que en un futuro se van a tener que cambiar los métodos de referencia para la detección de *Campylobacter* (24).

TRATAMIENTO Y RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS

Como ya mencionamos anteriormente, la terapia antimicrobiana es necesaria en casos graves y prolongados, a pesar de que la campylobacteriosis humana es, por lo general, una enfermedad auto limitada.

Hoy en día los macrólidos y quinolonas son los antimicrobianos utilizados en el tratamiento de las infecciones por *Campylobacter*. En los últimos años se ha detectado un aumento de la resistencia bacteriana a estos antimicrobianos (5,35), esto complica el tratamiento empírico en la práctica clínica.

En un estudio retrospectivo realizado en Chile que emplea un análisis microbiológico y molecular en aislados de *C. jejuni* de humanos, bovinos y carne de aves, se evaluaron los antimicrobianos eritromicina y ciprofloxacina

(5).Todos los aislamientos de *C. jejuni* de origen humano analizados en este estudio eran sensibles a eritromicina, pero el60% presentó resistencia a ciprofloxacina. La mayoría de los aislamientos provenían de pacientes pediátricos. Los autores refieren que el porcentaje de resistencia a quinolonas que encontraron es similar a los descritos en Argentina, Japón y distintos países europeos (5).Se ha asociado el aumento de la resistencia de *Campylobacter* a las quinolonas con la introducción de estos fármacos en la industria avícola (5). Esto se evidencia, porque en países como Australia donde no se permite el uso de quinolonas en la producción animal destinada al consumo, *Campylobacte*r presenta una resistencia del 3,2% a estos fármacos, dónde los casos de aislados resistentes fueron atribuidos a viajes (5).

Otro estudio del año 2011 realizado en Chile, evaluó la susceptibilidad y la resistencia antimicrobiana de *C. jejuni* a azitromicina, eritromicina, amipicilina y ciprofloxacina (36).Se tomaron cepas obtenidas de 72 muestras de coprocultivo recibidos por el laboratorio entre los años 2002 y 2007. Este estudio reveló que 24 de las cepas (32.4%) eranresistentes a ciprofloxacina, mientras que solo 5 cepas presentaron resistencia o resistencia intermedia a ampicilina. Ninguna de las 72 cepas presentó resistencia a los macrólidos (azitromicina o eritromicina) (36).

En 2010 se realizó un estudio prospectivo en niños menores de 12 años con diagnóstico de diarrea por *Campylobacter*, comparando eritromicina versus azitromicina en dos dosis diferentes: eritromicina 50mg kilo-día durante 5 días, azitromicina 20mg-kilo en una sola dosis o azitromicina 30 mg-kilo también en monodosis, en comparación con un grupo control sin tratamiento antibiótico (37). El estudio concluyo que el tratamiento en monodosis con 30 mg de azitromicina proporcionaba beneficios clínicos considerables (37).

Por último, en la revisión realizada por Fernández sobre campylobacteriosis en Sudamérica se pone en evidencia la aparición de cepas resistentes a eritromicina, tetraciclina, ampicilina y a quinolonas, encontrándose que la resistencia a éstas últimas es mayor al 60% (14).

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En nuestra revisión, al comparar la epidemiología de nuestra región con la de EEUU y Europa, observamos que no hay grandes diferencias en cuanto a la prevalencia. Sabemos que *Campylobacter* es de los gérmenes más frecuentes vinculados a las diarreas y en particular a las enfermedades transmitidas por alimentos, y esto parece ocurrir del mismo modo en las tres regiones. En países europeos como Alemania, en los que *Campylobacter* se busca rutinariamente en los laboratorios de microbiología clínica y veterinaria, los datos de prevalencia no se diferencian demasiado de los obtenidos en otras regiones en los trabajos de investigación analizados.

Los datos disponibles de Uruguay, indican que la prevalencia de *Shigella* y *Campylobacter* es similar en los casos de diarrea con sangre infantil.

A pesar de que en Alemania se haga una búsqueda rutinaria de *Campylobacter* y en Uruguay no, estos dos países comparten las pautas terapéuticas. Esto nos lleva a cuestionarnos si la búsqueda sistemática de *Campylobacter* en las diarreas infantiles resultaría redituable desde el punto de vista económico y clínico en nuestro país. Si bien sabemos que es fructífero desde el punto de vista epidemiológico.

En cuanto a las especies de *Campylobacter* más frecuentemente aisladas, *C. jejuni* y *C. coli* ocupan los primeros lugares en todo el mundo. En Sudamérica la prevalencia de *C. coli* parece ser mayor que en las otras regiones. Suponemos que esto podría relacionarse a condiciones ambientales diferentes, como la calidad de aguas y fuentes de contaminación de alimentos de origen animal.

En cuanto a los métodos diagnósticos, hay una clara coincidencia a favor de la eficacia de los métodos moleculares y genéticos frente al cultivo. Este resultado

era esperable, ya que los métodos moleculares y genéticos presentan en general mayor sensibilidad que la búsqueda microbiológica tradicional. Sumado a esto, y dadas las dificultades inherentes al cultivo de *Campylobacter*, resultan además de sensibles muy específicos. A pesar de estas ventajas, el cultivo continúa utilizándose como gold estándar en los trabajos analizados.

El resultado de nuestra revisión, encuentra evidencia suficiente como para afirmar que los antimicrobianos de elección, en caso de tener que usarlos, deberían ser los macrólidos, ya que en los diferentes estudios se detecta mucho menos resistencia en relación a las quinolonas. La alta tasa de resistencia a quinolonas podría relacionarse al gran uso de estos antimicrobianos en el área de veterinaria, incluso en los animales de producción de alimentos que son el principal reservorio de estos patógenos para el hombre.

Nuestra principal conclusión es que en Uruguay no sería necesario desde el punto de vista clínico hacer un cambio en las pautas diagnósticas de la diarrea, ya que en el caso de que se hiciera una búsqueda sistemática de *Campylobacter* el tratamiento sería el mismo. Sabemos que esto sería útil desde el punto de vista epidemiológico pero al no haber un gold estándar con buen rendimiento y bajo costo, es discutible su aplicabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bello O, Sehbiague G, Prego J, Leonardis D. Pediatría, Urgencias y Emergencias. 3a Edición. Bibliomédica Ediciones.
2. Acuña A, Alfonso A, Algorta G, Anchieri D, Betancor L et al. 2002. Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay.Montevideo. OPS.
3. Gutierrez-Castillo, Del Cármen A, Paasch-Martinez, Henri L, Calderon-Apodaca, et al. 2008. Salmonelosis y campylobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo. Veterinaria México 39:81-90.
4. Allos B. 2001.Campylobacter jejuni infections: Update in Emerging issues and trends. Clinical Infectious Diseases; 32:1201–6
5. Gonzalez-Hein G, Cordero N, García P, Figueroa G. 2013. Análisis molecular de la resistencia a fluoroquinolonas y macrólidos en aislados de Campylobacter jejuni de humanos, bovinos y carne de ave. Revista chilena de infectología; 30:135-139.

6. ChanqueoL, García P, León E, Blu A. 2005. Evaluación de la tinción de Huker para las búsqueda rutinaria de Campylobacter sp en el estudio de un síndrome diarreico agudo. RevChilInfect. ; 22:242-246.
7. Janiec J, Evans M, Thomas D, Davies G, Lewis H. 2012.Laboratory-Based Sourveillence of Campylobacter and Salmonella and the importance of denominator data.Epidemiol. Infect. . 140:045-2052.
8. Mota MI, Gadea MP, González S, González G, Pardo L, et al 2010. Bacterial pathogens associated with bloody diarrhea in Uruguayan children Rev Argent Microbiol 42:114-7.
9. Torres ME, Pírez MC, Schelotto F, Varela G, Parodi V,et al 2001.Etiology of Children's Diarrhea in Montevideo, Uruguay: Associated Pathogens and Unusual Isolates J ClinMicrobiol.; 39: 2134–2139.
10. Algorta G. Incidencia de Campylobacter en niños menores de 2 años que ingresan al hospital por diarrea aguda, 1987. Arch. PediatrUrug, 58:85-88.
11. Cortes PR, Díaz V, Contreras Funes V. Campylobacter jejuni proveniente de materia fecal de pacientes pediátricos, 2008. Revista Argentina de Microbiología, 40:171
12. Moreno AC, Filho AF, Gomes TA, Ramos ST, Montemor LP, et al. 2010. Etiology of childhood diarrhea in the northeast of Brazil: significant emergent diarrheal pathogens. Diagn Microbiol Infect Dis 66, 50–57.
13. Jagusztyn-Krynicka EK, Łaniewski P, Wyszyńska A 2009. Update on Campylobacter jejuni vaccine development for preventing human campylobacteriosis. Expert Rev Vaccines. 8:625-45.
14. Fernandez H. Campylobacter y Campylobacteriosis: Una mirada desde américa del sur. RevPeruMedExp Salud Pública 2011, 28:121-27.
15. Misawa, N., Kawashima, K., Kawamoto, H. & Kondo, F. 2002. Development of a combined filtration-enrichment culture followedby a one-step duplex PCR technique for the rapid detection of Campylobacter jejuni and C. coli in human faecal samples. J MedMicrobiol 51, 86–89.
16. Moore JE, Corcoran D, Dooley JSG, Fanning S, Lucey Bet al. 2005. Campylobacter. Vet. Res. 36:351-382

17. Schuurman T, de Boer RF, van Zanten E, van SlochterenKR, Scheper HR, et al. 2007. Feasibility of a molecular screening method for detection of *Salmonella enterica* and *Campylobacter jejuni* in a routine community-based clinical microbiology laboratory. J. Clin. Microbiol. 45: 3692-3700.
18. Kabir SM, Kikuchi K, Asakura M, Shiramaru S, Tsuruoka N et al. 2010 Evaluation of a Cytolethal Distending Toxin (cdt) Gene-Based Species-Specific Multiplex PCR Assay for the Identification of Campylobacter Strains Isolated from Diarrheal Patients in Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 64:19-27
19. Keramas G, Bang DD, Lund M, Madsen M, Bunkenborg M et al,2004. Use of Culture, PCR Analysis, and DNA Microarrays for Detection of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from Chicken Feces J ClinMicrobiol; 42: 3985–3991.
20. Dekate P, Jayashree M, Singhi SC. 2012 Management of Acute Diarrhea in Emergency Room. Indian J Pediatr 80:235–246.
21. Quetz J, Lima FN, Havt A, Prata M, Cavalcante PA et al 2012.Campylobacter jejuni infection and virulence-associated genes in children with moderate to severe diarrhea admitted to emergency rooms in northeastern Brazil. Journal of Medical Microbiology, 61:507-13
22. Quetz J, Nunes Lima IL, Moreira Lima AA 2010. Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in children from communities in Northeastern Brazil: Molecular detection and relation to nutritional status. DiagnMicrobiol Infect Dis. 67: 220–227.
23. Buchan BW, Olson WJ, Pezewski M, Marcon MJ, Novicki T,et al. 2013. Clinical Evaluation of Real-Time PCR Assay for Identification of Salmonella, Shigella, Campylobacter (Campylobacter jejuni and C.coli), and Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli Isolates in Stool Specimens. Journal of ClinicalMicrobiology 51:4001-4007
24. Bessede E, Delcamp A, Sifre E, Buissonniere A, Megraud F 2010. New Methods for Detection of Campylobacters in Stool Samples in Comparison to Culture. J ClinMicrobiol 49:941-994.

25. A. Schielke, B. Rosner, K. Stark. 2014. Epidemiology of campylobacteriosis in Germany – insights from 10 years of surveillance. BMC InfectiousDiseases 14: 10.1186/1471-2334-14-30
26. Pfeifer ML, Dupont HL, Ochoa TJ. 2012 The patient presenting with acute dysentery-A systematic review.Journal of Infection 64:374-386
27. Amar CF, East C, Maclure J, Jenkins C, Duncanson P, et al 2004. Blinded application of microscopy, bacteriological culture, immunoassays and PCR to detect gastrointestinal pathogens from faecal samples of patients with community-acquired diarrhoea. Eur J ClinMicrobiol Infect Dis. 23:529–534.
28. Abubakar I, Irvine L, Aldus CF, Wyatt GM, Fordham R, et al 2007. A systematic review of the clinical public health and cost-effectiveness of rapid diagnostic tests for the detection and identification of bacterial intestinal pathogens in faeces and food. Health Technol Assess. 11:26–33.
29. Ajjampu e Ajjampur SS, Rajendran P, Ramani S, Banerjee I, Monica B, et al 2008. Closing the diarrhoea diagnostic gap in Indian children by the application of molecular techniques. J MedMicrobiol. 57:1364–1368.
30. Collado L, Gutierrez M, Gonzalez M, Fernandez H. 2013.Assessment of the prevalence and diversity of emergent campylobacteria in human stool samples using a combination of traditional and molecular methods. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 75 434–436
31. Inglis G, Boras V y Houd A. 2011. Enteric Campylobacteria and RNA Viruses Associated with Healthy and Diarrheic Humans in the Chinook Health Region of Southwestern Alberta, Canada. Journal of Clinical Microbiology 49:209-19
32. Zhang M, Qiao B, Xu X, Zhang J. 2013. Development and application of real-time polymerase chain reaction method of Campylobacter jejuni detection. World J Gastroenterol 19: 3090–3095
33. McAuliffe GN, Anderson T, Stevens M, Adams J, Coleman R, et al. 2013. Systematic application of multiplex PCR enhances the detection of

bacteria, parasites, and viruses in stool samples. The British InfectionAssociation 67:122-9

34. Brianna L, Mihai P, Martin A, Walker AW, Mai V et al. 2013.Survey of Culture, GoldenGateAssay,Universal Biosensor Assay, and 16S rRNA Gene Sequencing as Alternative Methods of Bacterial Patoghen Detection. Journal of Clinical Microbiology 51:3263-9
35. García PC, Valenzuela NS, Rodriguez VL, Leon E, Fernandez H 2009. Susceptibilidad Antimicrobiana de Campylobacter jejuni aislado de coprocultvo en Santiago de Chile. Rev Chilena Infectol 26:511-4.
36. Nancy Rivera F., Raúl Bustos B., Sonia Montenegro H., Marcelo Sandoval M.,Juan Castillo N. al 2011 L.Genotipificación y resistencia antibacteriana de cepas e Campylobacter spp aisladas en niños y en aves de corral. RevChilInfect 2011; 28: 555-562
37. Vukelic D, Trkulja V, Salkovic-Petrisic M. 2010. Single oral dose of azithromycin versus 5 days of oral erythromycin or no antibiotic in treatment of campylobacter enterocolitis in children: a prospective randomized assessor-blind study.J PediatrGastroenterolNutr. 50:404-10.