



Universidad  
de Alcalá

COMISIÓN DOCENTE

FACULTAD DE FARMACIA

Campus universitario

Carretera Madrid-Barcelona, Km. 33,600  
28871 Alcalá de Henares (Madrid)

Tel. (+34) 918 854 680

FAX (+34) 918 854 680

E-mail: [decanato.farmacia@uah.es](mailto:decanato.farmacia@uah.es)

<http://www.uah.es/farmacia>



Universidad  
de Alcalá

## TRABAJO DE FIN DE GRADO GRADO EN FARMACIA

**Título:** *Campylobacter*. Control microbiológico y  
Mecanismos de resistencia bacteriana a antibióticos.

**Autor:** Noelia García Arribas

**Tutor:** María Luisa Ortiz Martínez

**Curso:** 2015/2016

## AUTORIZACIÓN E INFORME PARA LA DEFENSA PÚBLICA DEL TRABAJO DE FIN DE GRADO

D<sup>a</sup> **María Luisa Ortiz Martínez**

Profesor del Departamento de Biomedicina y Biotecnología  
como tutora del Trabajo de Fin de Grado en Farmacia de

D<sup>a</sup> **Noelia García Arribas**

Titulado: *Campylobacter*. Control microbiológico y Mecanismos de  
resistencia bacteriana a antibióticos.

INFORMA: Que ha sido realizado y redactado por la mencionada alumna bajo  
mi dirección, alcanzando los objetivos de aprendizaje y las competencias  
transversales previstas en la guía docente de la asignatura (Artículo 10 de la  
presente Normativa)

Con esta fecha considero apto el mencionado trabajo y autorizo a su  
presentación y defensa pública.

Alcalá de Henares a 5 de julio de 2016.

Fdo.: María Luisa Ortiz Martínez

## ÍNDICE

1. Resumen .....	1
2. Introducción.....	2-3
a. Punto de vista histórico .....	3
b. Infección en humanos .....	4
c. Reservorios de <i>Campylobacter</i> .....	4-5
d. Legislación sobre el género <i>Campylobacter</i> .....	5-6
3. Objetivos .....	6
4. Materiales y métodos .....	6
5. Metabolismo y patogenia de <i>Campylobacter</i> .....	7-8
6. Factores de riesgo y tendencia de la campilobacteriosis .....	8-10
7. Actuaciones para la prevención de la campilobacteriosis .....	10-15
8. Mecanismos de resistencia de <i>Campylobacter</i>	
a. Introducción .....	15-16
b. Resistencia a las quinolonas .....	16-17
c. Resistencia a los macrólidos .....	17-18
d. Resistencia a las tetraciclinas.....	18
e. Resistencia a los beta-lactámicos .....	19
f. Ejemplo práctico .....	20
9. Conclusiones.....	21
10. Bibliografía .....	22-25

## **1. RESUMEN**

La campilobacteriosis es la zoonosis más común reconocida en Europa y en EEUU, causada por bacterias del género *Campylobacter*. Se manifiesta principalmente, por síntomas gastrointestinales y es autolimitada en el tiempo. Sin embargo, en casos extremos, puede desencadenar trastornos crónicos como el Síndrome de Guillain-Barré o el síndrome de colon irritable. En general, no requiere tratamiento antibiótico al tratarse de una infección cuyos síntomas pasan desapercibidos para los pacientes la mayoría de las veces, y en cuestión de días, el paciente se recupera sin necesidad de medicación. No obstante, en determinados casos puntuales, dicho tratamiento farmacológico sí que se encuentra justificado. El principal problema para el control microbiológico de *Campylobacter* es la resistencia que presenta a los antibióticos. El objetivo de este trabajo es realizar una revisión de los principales mecanismos de resistencia bacteriana de *Campylobacter*, así como los principales factores de riesgo y las medidas más eficaces desde el punto de vista de la Salud Pública para evitar el desarrollo de la enfermedad.

## **ABSTRACT**

The campilobacteriosis is the most common zoonosis recognized in Europe and in the USA, caused by bacteria of the genus *Campylobacter*. It is an illness that is evident principally for gastrointestinal symptoms and is autolimited in the time. Nevertheless, in extreme cases it can trigger chronic disorders as the Guillain Barre syndrome or Irritable bowel syndrome. In general, it doesn't require antibiotic treatment to be an infection whose symptoms go unnoticed for patients most of the time and the patient recovers without medication in many days. However, in specific cases, the treatment with antimicrobial agents is justified. The main problem for microbiological control of *Campylobacter* is the bacterial antibiotic resistance. This review therefore takes as a target to collect the main mechanisms of bacterial resistance of *Campylobacter* as well as the main risk factors and the most effective medicines from the point of view of the Public Health to avoid the development of the illness.

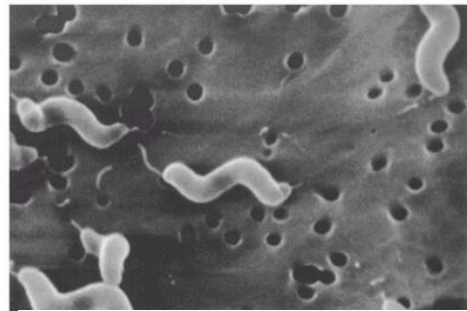
**Keywords:** *Campylobacter*, poultry, prevention, intervention, resistance.

## 2. INTRODUCCIÓN

La campilobacteriosis es una enfermedad transmitida por los alimentos, causada por bacterias del género *Campylobacter* siendo la zoonosis más frecuente en Europa y en los EEUU, cuyos principales síntomas son gastrointestinales.

Son bacilos curvados Gram-, con flagelos bipolares, lo que les proporciona un movimiento en espiral típico, que sirve para identificarlos. Miden de 0,2 a 0,5 micras de ancho por 0,5 a 5 micras de largo. Son oxidasa y catalasa+ [22].

No fueron reconocidos como patógenos humanos hasta 1970 debido a que eran difíciles de cultivar en el laboratorio. Necesitan condiciones microaerófilas, con una temperatura de incubación de 42°C y medios selectivos específicos [22].



**Fig. 1** *Campylobacter jejuni*

Vive en el tracto gastrointestinal del ganado, tanto vacuno, bovino, ovino y aves de corral, y en animales de compañía como perros y gatos. La infección, en el hombre, se produce por el consumo de carnes poco cocinadas, sobre todo de pollo, o leches contaminadas. La mayor parte de los casos, en niños pequeños, se deben al contacto con animales domésticos, aunque a veces también puede transmitirse de persona a persona.

*Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* son considerados los enteropatógenos más importantes del género *Campylobacter*.

Los primeros síntomas de la enfermedad suelen aparecer entre dos y cinco días después de la infección, aunque el periodo de incubación puede oscilar entre uno y diez días.

En función de la severidad de cada patología, sus principales síntomas son diarrea, náuseas, dolor abdominal, fiebre, heces sanguinolentas, por lo que, pueden ser indistinguibles de otras patologías bacterianas similares.

Se trata de una enfermedad que puede cursar de forma asintomática y es autolimitada en el tiempo, sin necesidad de tratamiento farmacológico, sin

embargo éste está justificado en determinados casos severos y en aquellos pacientes inmunológicamente comprometidos [27].

Asimismo, puede verse asociada a procesos crónicos como pueden ser el Síndrome de Guillain-Barré, artritis reumatoide, síndrome de colon irritable y enfermedad inflamatoria intestinal [22].

*Campylobacter* y las aves de corral son el principal binomio patógeno-alimento responsable de 608.231 casos, 6.091 hospitalizaciones, 55 muertes y un coste sanitario de 1,3 billones de dólares para los EEUU al año [26].

### **a) Punto de vista histórico**

La primera reseña del género *Campylobacter*, fue realizada por Theodore Escherich en 1886, quien encontró en el colon de un niño, los organismos responsables de una enfermedad entérica a la que denominó "cólera infantil" [4].

John McFadyean y Stewart Stockman, en 1906 y posteriormente Smith en 1918, establecieron la participación de una bacteria microaerófila en el aborto del ganado bovino y ovino, de morfología similar al género *Vibrio* por lo que lo llamaron *Vibrio fetus* [4].

La primera asociación entre "vibrios microaerófilos" y diarrea en el hombre fue sugerida por Levy en 1946, que realizó un estudio en un brote de gastroenteritis en un penal de Illinois, observando, en exámenes directos, la presencia de "vibrios" en el 20% de las muestras.

En 1957, E. King sugirió la división de estos "vibrios microaerófilos" en dos grupos, al tener características serológicas y bioquímicas distintas. Mientras algunos eran capaces de crecer a 25 y 37°C, otros lo hacían a 42°C. A estos últimos los consideró "Vibrios relacionados" y se comprobó que eran causantes de diarrea aguda. En 1963, Sèbald y Veron proponen la creación del género *Campylobacter* para agrupar estos "Vibrios relacionados".

A partir de 1970, Butxler y Skirrow, Bolton y Robertson, y Blaser y col., desarrollan medios de cultivo selectivos, que permiten el aislamiento de estos microorganismos con relativa facilidad y establecer su participación en diferentes cuadros infecciosos [4, 22].

### **b) Infección en humanos**

La infección por *Campylobacter* afecta aproximadamente al 1% de la población humana en Europa cada año y a 13 de cada 100.000 personas en EEUU [4].

En casos más graves, puede dar lugar al desarrollo de post-infecciones complicadas como por ejemplo el Síndrome de Guillain Barré o el Síndrome de Miller Fisher, siendo éste último, un subtipo del anterior y que se caracteriza por arreflexia, ataxia y oftalmoplegia.

A pesar de que todas las personas tienen un riesgo similar de contraer la infección, la población diana para *Campylobacter* suelen ser niños menores de 5 años, y adultos jóvenes con una edad comprendida entre los 15 y 44 años [9].

Según estudios realizados en países en desarrollo, 60.000 de cada 100.000 niños menores de 5 años, presentan infección por *Campylobacter*, lo que sugiere que la campilobacteriosis puede ser considerada una infección pediátrica en dichos países [9].

Por otro lado, más del 90% de las campilobacteriosis ocurren durante el verano, porque durante esta estación, se realizan un mayor número de barbacoas y, en consecuencia, mayor consumo de carne poco cocinada, siendo ésta la principal fuente de infección [9].

### **c) Reservorios de *Campylobacter***

Los animales destinados a la producción alimentaria, especialmente las aves de corral, pueden ser considerados el principal reservorio de la infección en humanos, en países desarrollados, aunque también pueden incluirse la oveja y el cerdo.

El hecho de que las aves de corral constituyan el principal reservorio de la bacteria es debido al carácter termófilo de la misma, que necesita alrededor de 41-42°C para poder multiplicarse, y esta temperatura es, aproximadamente, la misma que la que se alcanza en el cuerpo del ave cuando éste realiza el proceso de metabolización de los alimentos [18].

La colonización se produce en todo el intestino del pollo de engorde, aunque principalmente tiene lugar en el ciego del ave.

Desde el punto de vista de la Salud Pública, es necesario desarrollar y poner en práctica actuaciones dirigidas a reducir la contaminación cruzada que se produce en las granjas de animales destinadas a la producción alimentaria, con el objetivo de prevenir la enfermedad en humanos.

En el caso de los humanos, podemos ser considerados los únicos huéspedes que desarrollamos la enfermedad de forma sintomática tras la ingestión oral de *Campylobacter* a través de algunos de sus reservorios.

#### **d) Legislación sobre el género *Campylobacter***

Según el Reglamento nº 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo del 17 de noviembre de 2003 [30] sobre el control de *Salmonella* y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por alimentos, entre los que se incluye *Campylobacter*, estos dos géneros son los principales responsables de la mayor parte de los casos de zoonosis en seres humanos.

Sin embargo, llama la atención que, las medidas aprobadas para controlar dichas zoonosis están perfectamente establecidas y reguladas para el género *Salmonella*, sin existencia de la aplicación de las mismas para el género *Campylobacter*, a pesar de producir patologías similares.

De ahí que el presente trabajo pretenda destacar la necesidad de instaurar un control microbiológico específico para el género *Campylobacter* donde se regulen los límites máximos permitidos en los animales de la industria ganadera, puesto que, a pesar de ser una enfermedad autolimitada en el tiempo y pasar desapercibida la mayor parte de los casos, presenta una incidencia muy elevada desde el punto de vista de la Salud Pública.

De igual manera según el Reglamento nº 2073/2005 de la Comisión del 15 de noviembre de 2005 [29] relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, en él se fijan y establecen los criterios de seguridad biológica, de higiene de los procesos, así como las normas para la adecuada toma de muestras y preparación de las mismas para el género *Salmonella* y otras bacterias (*Listeria monocytogenes*, *Enterobacter*), con ausencia total de los mismos criterios aplicados al género *Campylobacter*.



Debido a que no se dispone de documentación oficial relativa a la regulación y control de la colonización por cepas del género *Campylobacter* en animales utilizados en la producción alimentaria, resulta difícil llevar a cabo un adecuado control de la misma, y esto puede ser el desencadenante de un incremento de la prevalencia e infección por *Campylobacter* en humanos. En consecuencia se incrementa la preocupación social y por ello es preciso realizar intervenciones eficaces para prevenir la enfermedad.

### **3. OBJETIVOS**

El objetivo del presente trabajo es, en primer lugar, destacar la necesidad de desarrollar e instaurar un método de control microbiológico específico para *Campylobacter* que garantice la seguridad alimentaria y, en segundo lugar, llevar a cabo una revisión de los principales mecanismos de resistencia bacteriana a antibióticos de *Campylobacter*, así como los principales factores de riesgo y las actuaciones más eficaces para la prevención de la campilobacteriosis en materia de Salud Pública.

### **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizó una revisión bibliográfica exhaustiva sobre *Campylobacter* y sus principales mecanismos de resistencia bacteriana, en diversas bases de datos (Web of Science, PubMed, Scopus), utilizando para la búsqueda palabras clave enumeradas anteriormente (keywords). Se seleccionaron las publicaciones y estudios comprendidos entre los años 2010-2015, para realizar una revisión actualizada de los conocimientos y perspectivas del tema a tratar.

## **5. METABOLISMO y PATOGENIA DE CAMPYLOBACTER**

*Campylobacter* adquiere los nutrientes a través de un proceso que no se conoce con certeza, sin embargo, es lo suficientemente flexible a las condiciones medioambientales que le permitan sobrevivir.

Su metabolismo consiste en la utilización de aminoácidos (serina, aspartato y glutamato) y los intermediarios obtenidos en el ciclo del ácido cítrico como fuentes de carbono.

Conserva la energía gracias a la respiración, la oxidación de hidrógeno y formiato (combinación de ácido fórmico con diversas sales) con la consiguiente reducción de los aceptores de electrones (fumarato, nitratos y sulfatos). Además a bajas concentraciones de oxígeno, condición necesaria para poder multiplicarse, se generan movimientos de protones que intervienen en la conservación de energía por parte de la bacteria, favoreciendo su supervivencia [9].

En cuanto a su patogenicidad, los dos factores que contribuyen en mayor medida a que *Campylobacter* sea tan patógena son, por un lado, la resistencia a antibióticos y, por otro, la motilidad en espiral característica. Ambos factores promueven la adherencia, invasión y alteración de los mecanismos de la célula hospedadora.

El resultado final es la muerte celular, debido a la destrucción del sistema inmune de la célula hospedadora desencadenándose los siguientes acontecimientos: reorganización del citoesqueleto, respuesta inflamatoria que es debida a la estimulación del sistema inmune innato y la consiguiente activación del sistema del complemento, reclutamiento de fagocitos, presentación de antígenos y respuesta humoral [9].

Todo lo anterior, promueve la destrucción de la célula hospedadora, mientras que la bacteria patógena adquiere un catión de hierro que le sirve como micronutriente para su crecimiento [9].

La infección por *Campylobacter* en algunos casos suele preceder al Síndrome de Guillain Barré, resultado de la producción de anticuerpos anti-*Campylobacter* que reconocen y reaccionan contra los propios gangliósidos de la célula hospedadora, dañando los tejidos de los nervios periféricos. Se trata

de una enfermedad autoinmune rara, que se caracteriza por la desmielinización de los nervios motores y sensoriales y el deterioro de los axones y de los tejidos de los nervios periféricos. Este daño puede llegar al músculo, ocasionando debilidad, parálisis y muerte [9].

## **6. FACTORES DE RIESGO Y TENDENCIA DE LA CAMPILOBACTERIOSIS.**

### **FACTORES DE RIESGO**

Los principales factores de riesgo implicados en la infección esporádica por *Campylobacter* se establecen de acuerdo a un estudio prospectivo de casos y controles, realizado en Francia desde Septiembre de 2002 hasta Junio de 2004 [11]:

- **Consumo de carne poco cocinada:** el consumo de carne de ave de corral o de vaca poco cocinada, presentaba una alta asociación con el desarrollo de campilobacteriosis, puesto que, aquellas personas que habían consumido carne poco cocinada presentaban un riesgo 2,0 veces mayor de sufrir la infección que aquellas que no la consumían poco cocinada. Este es considerado el principal factor de riesgo asociado a la infección por *Campylobacter*.
- **Viajar al extranjero:** 16 casos de 285 del total (5,6%) constataron haber viajado al extranjero durante los 8 días antes del comienzo de la infección, en concreto al norte de África y Europa.
- **Comer fuera de casa:** aquellas personas que habían comido en restaurantes, tenían un riesgo 1,9 veces mayor de sufrir infección por campilobacteriosis que las que no habían comido fuera de casa.
- **Menor ingesta de vegetales, marisco y bayas:** es preciso señalar que los casos habían consumido menor proporción de vegetales, marisco y bayas en comparación con los controles.

- **Pobres condiciones higiénicas de manos y utensilios en la cocina:** el 30% y el 37,4% de los casos presentaban pobres condiciones higiénicas de manos y de utensilios durante la manipulación de los alimentos en la cocina, respectivamente, en comparación con los controles que presentaban un 21% y 26,1%.
- **Contacto directo con personas:** haber mantenido contacto directo con alguna persona que presentase diarrea durante los 8 días antes del desarrollo de la infección incrementaba el riesgo. De los 51 casos que señalaron haber mantenido contacto directo con alguna persona con la característica anterior, 28 vivían con esa misma persona, 12 habían mantenido contacto con niños que presentaban diarrea y 7 habían mantenido contacto con amigos o en el trabajo. Todos los factores de riesgo anteriormente enumerados, son los que en mayor medida contribuyen al desarrollo de la enfermedad y algunos, como el nivel de cocinado de la carne y las condiciones higiénico sanitarias son modificables, de forma que, se disminuiría la incidencia de la enfermedad con adecuadas medidas de prevención.

## **TENDENCIA DEMOGRÁFICA y GEOGRÁFICA DE LA CAMPILOBACTERIOSIS**

Un estudio realizado en Alemania durante los años 2001-2010 sostiene que, el aumento de la incidencia de los casos de campilobacteriosis durante ese período de tiempo, pudo deberse a la mejora en las técnicas de diagnóstico, como el ELISA [24].

Se ha establecido una correlación directa entre la temperatura atmosférica y el número de casos de campilobacteriosis, los cuales presentan un pico de aumento en los meses de verano [24]. Esto puede deberse a que durante este periodo de tiempo se realizan un mayor número de barbacoas y en ellas es más fácil que el cocinado de la carne no sea el idóneo.

Atendiendo a criterios demográficos, la incidencia de campilobacteriosis en hombres resulta mayor que en mujeres. Por otro lado, los niños menores de un año presentan mayor riesgo de contraer la enfermedad, puesto que, no tienen

el sistema inmunitario desarrollado por completo y ello puede hacerles más vulnerables a contraer determinadas enfermedades [24].

Si se consideran los criterios geográficos, en concreto el parámetro de residencia rural o urbana, la primera presenta una mayor incidencia que la segunda [24]. Esto puede deberse a que, los habitantes de zonas rurales, tienen una mayor exposición a granjas o explotaciones ganaderas donde, en muchas ocasiones, las medidas higiénico sanitarias no son ni suficientes ni adecuadas, favoreciéndose la colonización de *Campylobacter*.

## **7. ACTUACIONES PARA LA PREVENCIÓN DE LA CAMPILOBACTERIOSIS.**

Con el objetivo de poder determinar las actuaciones más eficaces para la prevención de la campilobacteriosis, es preciso conocer las principales fuentes de infección para el ser humano. La primera de ellas puede proceder de la cadena alimentaria, a través de la ingestión de carne, leche o agua contaminados con *Campylobacter*, y la segunda por contacto directo con animales infectados por la bacteria.

En la actualidad se emplean 2 criterios (microbiológico y epidemiológico), que permiten estimar la contribución cuantitativa procedente de las diferentes fuentes de infección y de esta manera, poder aplicar las intervenciones o medidas preventivas necesarias para reducir la enfermedad.

El criterio microbiológico (MLST) se ha convertido en el método más usado para tipificar las infecciones por *Campylobacter*. Se basa en criterios fenotípicos y genotípicos de las diferentes especies de *Campylobacter* para determinar la fuente de infección humana.

Teniendo en cuenta que, determinadas variantes de *Campylobacter* se presentan mayoritariamente en un determinado reservorio y, basándose en la tipificación molecular de *Campylobacter* de distintos países, se ha estimado que, en torno al 50-80% de las cepas de *Campylobacter* que infectan a humanos, proceden de las aves de corral (incluyendo las gallinas ponederas y

los pollos de engorde), el 20-30% procede del ganado vacuno y el resto del porcentaje, se atribuye a otros reservorios como son la oveja o el cerdo [13,18]. El criterio epidemiológico se basa en un estudio de casos y controles realizado con casos esporádicos, el cual sugirió que, la manipulación de los alimentos por parte del consumidor, junto con el consumo de carne de pollo, constituían los principales factores de riesgo de la campilobacteriosis en humanos. En términos matemáticos, se estima que aproximadamente el 28% de los casos esporádicos son debidos al consumo de carne de pollo [18].

Además, el consumo de leche no pasteurizada, viajar el extranjero, comer comida poco cocinada, el medio ambiente, comer fuera de casa, y el contacto directo con mascotas eran significativos factores de riesgo para la campilobacteriosis. Este último factor, es responsable de 2/3 de la exposición a *Campylobacter jejuni* en los humanos. [14,18].

A fin de prevenir la colonización y con ello el desarrollo de la enfermedad, las principales intervenciones van destinadas hacia la producción primaria, es decir, la reducción de *Campylobacter* en la industria alimentaria. De esta manera, la puesta en práctica de medidas adecuadas de control evitarían alrededor del 80% de los casos de campilobacteriosis en humanos. Sin embargo, estas medidas resultan difíciles de mantener debido, entre otras cosas, a su elevado coste [18].

Por ello, los corrales deben estar adecuadamente limpios y desinfectados antes de la llegada de nuevos animales, esto aseguraría que ellos mismos estuvieran libres de *Campylobacter* durante las dos primeras semanas.

Es necesario mantener un nivel alto de bioseguridad en las granjas destinadas a la explotación animal que intervienen en la cadena alimentaria, de esta manera, se conseguiría descender la prevalencia de *Campylobacter*. Puesto que dicha seguridad no asegura la ausencia total del microorganismo, se precisan medidas preventivas que se describen a continuación:

En primer lugar, llevar a cabo adecuadas medidas higiénicas por parte del manipulador, como pueden ser la desinfección de prendas de vestir así como cualquier otro utensilio, e instalación de mosquiteras.

Existen algunas mejoras tecnológicas aplicadas durante el proceso de sacrificio de los animales que tienen por objetivo reducir la contaminación de *Campylobacter* en la carne, sin embargo, su eficacia no ha sido probada todavía.

En segundo lugar, la descontaminación física y química de la carne, a pesar de tener una aplicación limitada debido a su escasa efectividad. La descontaminación física (luz UV o irradiación) está permitida, pero sus valores de efectividad son muy escasos, especialmente, cuando se realizan elevadas cadenas de sacrificio en las instalaciones, por ello esta práctica no se emplea con frecuencia. Asimismo, no existen medidas tecnológicas efectivas destinadas a reducir los niveles de contaminación de *Campylobacter* por debajo de los niveles actuales que se están obteniendo en las granjas de explotación.

Por último, se recomienda una adecuada pasteurización de la leche como medida preventiva en la industria alimentaria así como un cocinado energético de la carne por parte de los consumidores.

Sin embargo, las preferencias de los consumidores (preferencia de carne fresca), la aceptación por parte de los mismos (los consumidores prefieren adquirir productos que no hayan sido irradiados con anterioridad) y argumentos económicos, condicionan y limitan la puesta en práctica de dichas medidas eficaces para frenar la colonización por *Campylobacter*.

Otro aspecto que debe tenerse en cuenta es el fenómeno de contaminación cruzada que puede producirse entre alimentos ya contaminados junto con otros alimentos u objetos, especialmente en establecimientos públicos.

A pesar de que una de las principales fuentes de contaminación es el consumo de carne poco cocinada, un nivel alto de contaminación de la misma es consecuencia de escasas medidas higiénicas que se llevan a cabo durante el proceso de preparación de la comida. Por lo tanto, la principal intervención que debe realizarse a fin de evitar lo anterior es intensificar la educación sanitaria hacia el consumidor, como principal medida tanto eficaz como efectiva para reducir la campilobacteriosis, aunque no se espera que solo con eso se resuelva el problema.

En conclusión, los usuarios deben poner en práctica mayores medidas higiénico sanitarias, como principal punto de partida para frenar la colonización por *Campylobacter* mediante educación sanitaria que debe de estar al alcance de todos los consumidores y usuarios.

La mejora de las condiciones higiénicas en aquellas instalaciones dedicadas al sacrificio de estos animales, junto con la aplicación de tratamiento de desinfección adecuado, forma parte de un enfoque multidisciplinar que debería incluirse en las intervenciones realizadas en granjas, con el objetivo de disminuir la exposición a *Campylobacter* en las mismas.

Además de todas las intervenciones anteriormente descritas, se ha estudiado la posibilidad de emplear probióticos, para inhibir el crecimiento de *Campylobacter jejuni* ya que, algunas de las propiedades biológicas como la colonización y la transducción de señales de la propia bacteria, pueden ser obstaculizadas por el uso de este tipo de probióticos. A modo de ejemplo, algunos estudios señalan una reducción del crecimiento de *Campylobacter jejuni* cuando se combinan *Lactobacillus plantarum* 0407 y *Bifidubacterium bifidum* Bb12 junto con oligofruktosa y xilooligosacáridos [17].

Se han postulado varios mecanismos de acción a través de los cuales actuarían los probióticos. Entre ellos destacan su mayor velocidad, que les permite llegar a las células epiteliales más rápidamente que *Campylobacter jejuni*, produciendo lo que se conoce como exclusión competitiva, evitando de esta manera que la bacteria patógena penetre en la célula.

Un segundo mecanismo de acción es la reducción del pH luminal, que se produce con el uso de probióticos y la producción de bacteriocinas, que favorecen la inactivación de la motilidad flagelar de *Campylobacter jejuni* y por lo tanto, se evita la virulencia de dicha bacteria sobre la célula huésped.

Igualmente, los probióticos pueden fortalecer las proteínas de unión de las células epiteliales, evitando así la translocación de *Campylobacter jejuni* y, en consecuencia, su penetración en la célula hospedadora.

Por último, otro mecanismo de acción consistiría en la modulación del sistema inmune y las vías de transducción de señales de la célula hospedadora,



mediante la alteración de moléculas como NFKappaB, interferón gamma, kinasas, modulación de linfocitos T así como células dendríticas, siendo todas ellas necesarias para la destrucción de *Campylobacter jejuni*.

Todos los mecanismos anteriores dan lugar a una alteración de la patogenicidad y virulencia de *Campylobacter jejuni*, que se traduce en una reducción de la colonización de la misma en las células, tanto humanas como animales.

Recientemente, se han descrito en diversos estudios la posibilidad del emplear bacteriófagos como agentes en el tratamiento de la campilobacteriosis [3].

Se entiende por bacteriófago aquel virus que puede infectar, multiplicarse y causar la muerte de la bacteria a la cual infectó, y ello hace que se estudie su posible utilización en terapéutica.

Muchos países han explotado el uso de este tipo de bacteriófagos como medidas profilácticas y de desinfección, habiendo comercializado algún producto bacteriófago por diversas compañías biotecnológicas.

Los bacteriófagos que son seleccionados para la terapéutica, deben de presentar obligatoriamente un ciclo de vida lítico que finalmente cause la muerte de la bacteria que infectó, en este caso *Campylobacter*, dando lugar a nuevos bacteriófagos que continúen con la destrucción de las bacterias patógenas. Aquellos bacteriófagos que presenten un ciclo de vida lisogénico no resultan útiles para la terapéutica, puesto que, al integrar parte del genoma en el interior del DNA bacteriano, la bacteria puede desarrollar inmunidad para la infección de nuevos bacteriófagos y el tratamiento no resultaría eficaz.

Esta terapéutica presenta varias ventajas, entre ellas que los bacteriófagos son específicos para las bacterias de interés, y por lo tanto, no dañan ni destruyen la propia flora del individuo y además, se encuentran en los mismos medios que sus huéspedes, por lo que son fácilmente aislados.

Los bacteriófagos encontrados con mayor frecuencia para el género *Campylobacter* pertenecen a la familia *Myoviridae* y secundariamente a *Siphoviridae* y *Podoviridae*.

En lo relativo a aplicaciones terapéuticas, el uso de bacteriófagos administrados directamente a animales vivos destinados a la producción primaria, puede reducir el número de patógenos implicados en las infecciones transmitidas por los alimentos, sin olvidar que, al tratarse de una técnica biotecnológica reciente, requiere de mayor estudio experimental para lograr niveles de efectividad óptimos.

## **8. MECANISMOS DE RESISTENCIA DE *CAMPYLOBACTER***

### **a) Introducción**

El tratamiento antimicrobiano para la campilobacteriosis solamente está justificado cuando se trate de casos severos o cuando sea un paciente inmunológicamente deprimido, puesto que, en la gran mayoría de casos es suficiente con una terapia de reposición de fluidos y electrolitos.

El tratamiento con agentes antimicrobianos que habitualmente se utiliza para las infecciones por *Campylobacter* son fármacos como la Eritromicina como representante de los macrólidos y el Ciprofloxacino de las fluoroquinolonas. Las tetraciclinas pueden ser consideradas una alternativa para el tratamiento de los síntomas clínicos, sin embargo, en la práctica, no se utilizan tan habitualmente como los dos anteriores.

Este tipo de antibióticos se han venido utilizando durante décadas en las instalaciones de producción alimentaria para el control, prevención y tratamiento de las enfermedades de los animales destinados a ello.

La resistencia a antibióticos que desarrollan las bacterias, se ha convertido en el principal problema de Salud Pública, tanto para los países desarrollados como los de en vías de desarrollo y, por ello el tratamiento de la campilobacteriosis en humanos presenta serias limitaciones.

Las principales resistencias que están apareciendo, y cuyo número va en aumento son, para fluoroquinolonas y macrólidos, además de aminoglucósidos y beta-lactámicos.

En Europa, la creciente aparición de resistencia a las fluoroquinolonas fue evaluada desde 1993 hasta 2003, demostrando un significativo aumento de la resistencia al ácido nalidíxico (46,7% de los casos) y a ciprofloxacino (52,2% de los casos) [27].

En 2001 en Alemania, la proporción de casos de campilobacteriosis en humanos resistentes al tratamiento con ciprofloxacino era de 41-46% [28].

### **b) Resistencia a las Quinolonas**

El mecanismo de acción por el que actúan las quinolonas es, inhibiendo la síntesis del DNA bacteriano causando la muerte de la célula. Las principales dianas de las quinolonas son dos enzimas bacterianas: DNA girasa y topoisomerasa IV. Ambas actúan sobre la replicación, transcripción y recombinación del DNA.

Las fluoroquinolonas, forman un complejo estable con ambas enzimas, intercalándose en el DNA bacteriano, impidiendo su replicación, transcripción y promoviendo así la muerte celular.

La resistencia que se desarrolla para las fluoroquinolonas se debe principalmente, a una mutación, que consiste en una sustitución de aminoácidos en la correspondiente enzima implicada.

La mutación que tiene lugar con más frecuencia, implicada en la resistencia a las quinolonas, es la sustitución Thr86Ile (C257T) en la girasa, confiriéndole unos niveles altos de resistencia para los antimicrobianos de este grupo (ácido nalidíxico y ciprofloxacino).

Es interesante destacar que existe otra mutación, menos común que la anterior, siendo la sustitución Thr86Ala, que confiere resistencia únicamente al ácido nalidíxico, pero no al resto de fluoroquinolonas.

Otro mecanismo de acción por el que se puede producir resistencia a las quinolonas, que actúa en sinergismo con el anterior, es la actividad de CmeABC (sistema de bombas de extrusión multifármaco de modulación y división). Se trata de una proteína de transporte de membrana, formada por tres componentes codificados: CmeB (transportador de membrana interna),

CmeC (transportador de membrana externa) y CmeA (proteína de fusión plasmática que une CmeB y CmeC).

La acción de dicha proteína de transporte, hallada en *Campylobacter jejuni*, es mediar la extrusión de determinados antimicrobianos, reduciendo así las concentraciones intracelulares de fármaco.

La expresión de CmeABC está sujeta a la regulación por parte de CMER, siendo éste un represor, que inactiva la acción de la bomba de extrusión multifármaco. De forma que, esta inactivación incrementa la susceptibilidad a diferentes antibióticos.

Se ha demostrado recientemente que mutaciones producidas en el represor, conducen a una sobreexpresión de la bomba de extrusión y en consecuencia, a un incremento de cepas resistentes a diferentes antimicrobianos.

### **c) Resistencia a los Macrólidos**

Los macrólidos como se ha mencionado anteriormente, son los fármacos antimicrobianos que con mayor frecuencia, se utilizan en las infecciones por *Campylobacter* y son considerados fármacos eficaces, sin embargo el incremento de la resistencia a la Eritromicina en *C. coli* y *C. jejuni*, requiere un uso prudente y racional de este tipo de antibióticos.

El mecanismo de acción por el que actúan los macrólidos es interrumpiendo la síntesis de proteínas en la subunidad 50S del ribosoma bacteriano. La unión del fármaco con el ribosoma, da lugar a cambios conformacionales en el mismo produciéndose, la detención de la elongación de la cadena proteica bacteriana.

Los mecanismos de resistencia a macrólidos en la campilobacteriosis es el resultado de la modificación del sitio de unión con el ribosoma bien, por la mutación del gen ribosomal, o bien, por cambios en las proteínas resultantes.

Al igual que ocurre con las quinolonas, otro posible mecanismo de resistencia a los macrólidos puede ser un sistema de bombas de extrusión multifármaco, hasta el momento se han identificado 8 sistemas diferentes, siendo uno de ellos, CmeABC.

La interacción entre la actividad de las bombas de extrusión y las mutaciones que tienen lugar en el gen ribosomal, contribuye a un aumento de aislamientos de *Campylobacter* resistentes a los macrólidos.

Un tercer mecanismo implicado en la resistencia a los macrólidos, es la expresión de porinas transmembrana (MOMP) que alteran la permeabilidad de la membrana. Las porinas, son proteínas de membrana externa que generan poros transmembrana y permiten el paso por difusión pasiva, de moléculas hidrofóbicas, como pueden ser determinados antibióticos (entre ellos los macrólidos). Estos poros, limitan el paso de moléculas al exterior con un peso molecular superior a 360 kDa, como los macrólidos tienen un peso molecular superior a 700 kDa, serían transportados al exterior gracias a estas porinas y no tendría lugar el efecto antimicrobiano.

#### **d) Resistencia a las Tetraciclinas**

El mecanismo de acción por el que actúan las tetraciclinas es el siguiente: se unen a los cationes de  $Mg^{2+}$ , aportando carga positiva, facilitándose la entrada del fármaco. Seguidamente, se disocian del magnesio y se introducen pasivamente hacia el interior del citoplasma, para unirse a la subunidad 30S del ribosoma.

El efecto antimicrobiano resultante es el bloqueo de la unión del aminoacil-ARNt en el sitio A del ribosoma por impedimento estérico, al estar éste ya ocupado por la tetraciclina, y en consecuencia, se detiene la elongación de la cadena peptídica, bloqueándose la síntesis de proteínas bacterianas.

Este tipo de resistencia aparece por la participación del gen *tetO* presente en *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*.

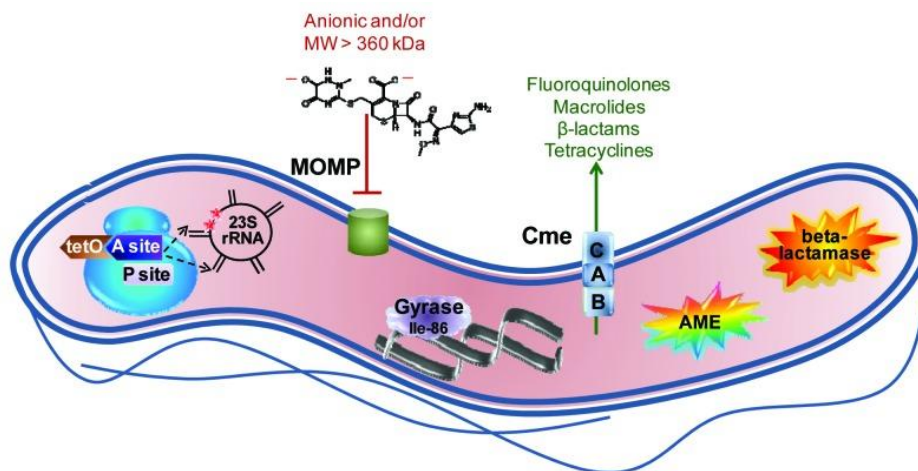
El gen *tetO* ha demostrado conferir niveles altos de resistencia a las tetraciclinas puesto que, es capaz de reconocer un sitio A disponible en el ribosoma bacteriano, uniéndose a él, e induciendo un cambio conformacional que resulta en la liberación de la molécula de tetraciclina y, por lo tanto, la ausencia de efecto antimicrobiano.

### e) Resistencia a los Beta-lactámicos

En este tipo de antibióticos se incluyen las penicilinas y cefalosporinas. Todas ellas contienen un anillo beta lactámico en su estructura química.

El principal mecanismo de resistencia a los beta-lactámicos es la expresión de porinas transmembrana (MOMP) que generan poros transmembrana y permiten el paso por difusión pasiva de algunos antibióticos con un peso molecular superior a 360 kDa. Aquellos beta-lactámicos con un peso molecular superior al anterior, serán transportados al exterior de la célula gracias a estas porinas y no tendrá lugar el efecto antimicrobiano. Este mecanismo de resistencia es idéntico al que se produce para los macrólidos.

Un segundo mecanismo implicado en la resistencia a los beta-lactámicos, es sistema de bombas de extrusión multifármaco CmeABC cuya acción ya ha sido explicada en apartados anteriores.



**Fig. 2** Resumen de los Mecanismos de resistencia a antibióticos de *Campylobacter*. El ribosoma, mostrado en color azul, es el lugar donde se producen dos grandes mecanismos de resistencia. El primero es la unión de la proteína tetO en el sitio A del ribosoma impidiendo que la tetraciclina ejerza su función. El segundo son las mutaciones que se producen en la subunidad 23S del ribosoma, representadas en negro, responsables de la resistencia a macrólidos. La proteína de membrana externa (MOMP), representada en verde, limita el paso de fármacos al exterior con un peso molecular mayor a 360 kDa, desencadenando la resistencia a macrólidos y beta-lactámicos. Las bombas de extrusión de múltiples fármacos (Cme ABC), representada en cuadros azules, contribuye a la resistencia contra fluoroquinolonas, macrólidos y beta-lactámicos. El impedimento estérico, representado en estrella multicolor (AME), entre el sitio A del ribosoma con el aminoácido, impide la elongación de la cadena peptídica, dando lugar a la resistencia a las tetraciclinas [15].

### **f) Ejemplo práctico**

En términos prácticos y matemáticos, un estudio realizado en Portugal durante los años 2009-2012 [25], que pretendía poner de manifiesto la susceptibilidad antibiótica y la aparición creciente de cepas resistentes de *Campylobacter* a determinados antibióticos de uso humano, determinó que, existía una elevada resistencia a diversos antimicrobianos: ácido nalidíxico (100%), ciprofloxacino (91,3%) y tetraciclina (79,6%). Además el 86% de los casos aislados presentaban resistencia para tres o más familias diferentes de antimicrobianos [1,23].

Asimismo establece que, a pesar del hecho de que los niveles de resistencia fueran mayores para la especie *C.coli* en comparación con *C. jejuni* (a excepción de ciprofloxacino), la capacidad de ambas especies para desarrollar resistencia a múltiples fármacos, incluidos macrólidos y fluoroquinolonas incrementa su interés desde la perspectiva de Salud Pública.

En referencia al ácido nalidíxico, todos los casos estudiados en el trabajo mencionado anteriormente, presentaban resistencia a este tipo de antimicrobiano, de forma similar a lo que sucede en España.

Para ciprofloxacino, el 90% de los casos estudiados, eran resistentes a este tipo de antimicrobiano, un porcentaje mucho mayor que lo que ocurre en otros países [25]. Igualmente, la resistencia a la eritromicina (25%) es mucho mayor que la encontrada en otros países, siendo más común estar presente en *C.coli* que en *C.jejuni* [5, 28].

Por lo tanto, debido a la elevada resistencia antimicrobiana que *Campylobacter* desarrolla a los principales antibióticos, es importante conocer los mecanismos de resistencia que dicha bacteria presenta, con el objetivo de evitar que se produzcan, y que el tratamiento antimicrobiano resulte efectivo en aquellos casos en los que esté justificado.



## **9. CONCLUSIONES**

1. Tras la revisión bibliográfica llevada a cabo en el presente trabajo, es preciso destacar la necesidad de diseñar e implementar un método de control microbiológico específico para *Campylobacter*, aplicado fundamentalmente a la industria ganadera, debido a la ausencia total en España de un documento legal de dichas características, para poder controlar y actuar de la forma más eficiente posible.
2. El empleo de antibióticos en los animales de producción alimentaria, concretamente en las aves de corral, favorece el aumento de resistencias a este tipo de fármacos, dificultando así el tratamiento en caso necesario. Por lo tanto su empleo debería de estar perfectamente regulado y evitarse en la medida de lo posible.
3. Las principales actuaciones de mejora que deben llevarse a cabo para reducir la incidencia de la campilobacteriosis y evitar que se convierta en un problema importante para la Salud Pública son, en primer lugar, reducir los principales factores de riesgo y, en segundo lugar, ofrecer mayor educación sanitaria al consumidor.



## **10. BIBLIOGRAFÍA**

- [1] Carreira AC, Clemente L, Rocha T, Tavares A, Geraldés M, Barahona MJ. Comparative genotypic and antimicrobial susceptibility analysis of zoonotic *Campylobacter* species isolated from broilers in a nationwide survey, Portugal. *J Food Prot* 2012;75:2100–9.
- [2] Chang Q, Wang W, Regev-Yochay G, Lipsitch M, Hanage WP. Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? *Evolutionary Applications* 2015 MAR;8(3):240-247.
- [3] Connerton PL, Timms AR, Connerton IF. *Campylobacter* bacteriophages and bacteriophage therapy. *J Appl Microbiol* 2011;111(2):255-265.
- [4] Dasti JI, Tareen AM, Lugert R, Zautner AE, Gross U: *Campylobacter jejuni*: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. *Int J Med Microbiol* 2010, 300(4):205–11.
- [5] De Jong A, Bywater R, Butty P, Deroover E, Godinho K, Klein U. A pan-European survey of antimicrobial susceptibility towards human-use antimicrobial drugs among zoonotic and commensal enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. *J Antimicrob Chemother* 2009;63:733–44.
- [6] Doorduyn Y, Van Den Brandhof WE, Van Duynhoven YT, Breukink BJ, Wagenaar JA, Van Pelt W: Risk factors for indigenous *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections in the Netherlands: a case–control study. *Epidemiol Infect* 2010, 138(10):1391–404.
- [7] Duarte A, Santos A, Manageiro V, Martins A, Fraqueza MJ, Canica M. Human, food and animal *Campylobacter spp.* isolated in Portugal: High genetic diversity and antibiotic resistance rates. *Int J Antimicrob Agents* 2014 OCT 2014;44(4):306-313.
- [8] Economou V, Gousia P. Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. *Infection and Drug Resistance* 2015;8:49-61.
- [9] Epps SVR, Harvey RB, Hume ME, Phillips TD, Anderson RC, Nisbet DJ. Foodborne *Campylobacter*: Infections, Metabolism, Pathogenesis and Reservoirs. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2013 DEC 2013;10(12):6292-6304.

- [10] European Medicines Agency. Sales of veterinary antimicrobial agents in 25EU/EEA countries in 2011. Third ESVAC report. EMA; 2013. EMA/236501/2013.
- [11] Gallay A, Bousquet V, Siret V, Prouzet-Mauleon V, de Valk H, Vaillant V. Risk factors for acquiring sporadic *Campylobacter* infection in France: Results from a national case-control study. *J Infect Dis* 2008 MAY 15 2008;197(10):1477-1484.
- [12] Ghunaim H, Behnke JM, Aigha I, Sharma A, Doiphode SH, Deshmukh A. Analysis of Resistance to Antimicrobials and Presence of Virulence/Stress Response Genes in *Campylobacter* Isolates from Patients with Severe Diarrhoea. *Plos One* 2015 MAR 17;10(3):e0119268.
- [13] Kittl S, Kuhnert P, Hächler H, Korczak BM. Comparison of genotypes and antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* isolated from humans and slaughtered chickens in Switzerland. *J Appl Microbiol* 2011;110:513–20.
- [14] Lal A, Hales S, French N, Baker MG: Seasonality in human zoonotic enteric diseases: a systematic review. *PLoS One* 2012, 7(4):e31883.
- [15] Lovine NM. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. *Virulence* 2013 APR 2013;4(3):230-240.
- [16] Man SM: The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011, 8(12):669–85.
- [17] Mohan V. The role of probiotics in the inhibition of *Campylobacter jejuni* colonization and virulence attenuation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2015;34(8):1503-1513.
- [18] Mughini-Gras L. *Campylobacter*. Animal reservoirs, human infections, and options for control. *Zoonoses-Infections Affecting Humans and Animals: Focus on Public Health Aspects*; 2015. p. 159-177.
- [19] Nichols GL, Richardson JF, Sheppard SK, Lane C, Sarran C: *Campylobacter* epidemiology: a descriptive study reviewing 1 million cases in England and Wales between 1989 and 2011. *BMJ Open* 2012, 2(4):e001179.
- [20] Peres-Boto D, Lopez-Portoles JA, Simon C, Valdezate S, Echeita MA. Study of the molecular mechanisms involved in high-level macrolide resistance

of Spanish *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains. J Antimicrob Chemother 2010 OCT 2010;65(10):2083-2088.

[21] Przenioslo-Siwczyńska M, Kwiatek K, Wasyl D. Use of antimicrobial agents in food production animals and the problem antimicrobial resistance. Medycyna Weterynaryjna-Veterinary Medicine-Science and Practice 2015 NOV;71(11):663-669.

[22] Romero, R. (2011) Microbiología y Parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª edición. México: Editorial Médica Panamericana.

[23] Sáenz Y, Zarazaga M, Lantero M, Gastañares MJ, Baquero F, Torres C. Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997–1998. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:267–71.

[24] Schielke A, Rosner BM, Stark K. Epidemiology of campylobacteriosis in Germany - insights from 10 years of surveillance. BMC Infect Dis 2014;14(1).

[25] Vicente A, Barros R, Florinda A, Silva A, Hanscheid T. High rates of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* in Portugal. Euro Surveill 2008;13:1–2.

[26] Wagenaar JA, French NP, Havelaar AH. Preventing *Campylobacter* at the Source: Why Is It So Difficult? Clinical Infectious Diseases 2013 DEC 1 2013;57(11):1600-1606.

[27] Wiczorek K, Osek J. Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. BioMed research international 2013 2013;2013:340605-340605.

[28] Wimalarathna HML, Richardson JF, Lawson AJ, Elson R, Meldrum R, Little CL. Widespread acquisition of antimicrobial resistance among *Campylobacter* isolates from UK retail poultry and evidence for clonal expansion of resistant lineages. BMC Microbiol 2013;13:160.

[29] Reglamento 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

<https://www.um.es/casan/documentos/legislacion/ALIMENTARIA/CRITERIOS%20MICROBIOLOGICOS/reglamento-2073-2005.pdf>

[30] Reglamento 2160/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo del 17 de noviembre de 2003 sobre el control de la salmonella y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos.

[http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/legislacion/reglamento\\_2160\\_2003\\_tcm7-6038.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/legislacion/reglamento_2160_2003_tcm7-6038.pdf)