



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE MEDICINA

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN MICROBIOLOGIA CLÍNICA**

**PREVALENCIA DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA A
CIPROFLOXACINO Y ERITROMICINA EN CEPAS DE
CAMPYLOBACTER SPP AISLADAS DE NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS
EN EL HOSPITAL EDGARDO REBAGLIATI MARTINS.**

AUTORA:

LIC. T.M. HILDA TEODOSIA DIONISIO ALVAREZ

ASESOR:

MAGISTER STEEV ORLANDO LOYOLA SOSA

LIMA - PERÚ

2020

Asesor

Magister Steev Orlando Loyola Sosa

Profesor asociado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

A mis hijas Yadira, Sarah y Ariana por su amor y comprensión en el desarrollo de este proyecto. A mis padres Miguel y Gregoria por sus enseñanzas y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

- A Dios por acompañarme siempre en mi vida
- A mi asesor Magister Steev Orlando Loyola Sosa, excelente profesional por su valiosa orientación en el presente proyecto.
- A la Dra. Elba Linares Contreras, jefa del Departamento de Patología clínica que me permitirá desarrollar mi proyecto en las instalaciones del servicio de Microbiología del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins.
- A todas aquellas personas que directa o indirectamente apoyaron en mi formación y en el desarrollo del presente proyecto, mi reconocimiento especial.

FINANCIAMIENTO

Trabajo autofinanciado

**PREVALENCIA DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA A
CIPROFLOXACINO Y ERITROMICINA EN CEPAS DE
CAMPYLOBACTER SPP AISLADAS DE NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS
EN EL HOSPITAL EDGARDO REBAGLIATI MARTINS.**

Trabajo académico para optar por el título de especialista en microbiología clínica, segunda especialidad, en la Universidad Cayetano Heredia, Escuela de Tecnología Médica, bajo la tutoría del Magister Steev Orlando Loyola Sosa, profesor asociado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Proyecto realizado siguiendo los lineamientos de originalidad y ética.

RESUMEN

Las especies termotolerantes de *Campylobacter spp* son patógenos emergentes que frecuentemente adquieren mecanismos de resistencia antimicrobiana a fármacos usados para su tratamiento empírico. El estudio del perfil de resistencia antimicrobiano y su epidemiología es de interés público. El objetivo de este proyecto es determinar la prevalencia de resistencia a ciprofloxacino y eritromicina en aislamientos de *Campylobacter spp*, de niños menores de 2 años atendidos en el Hospital Edgardo Rebagliati Martins de enero a diciembre del 2019. Adicionalmente se explorará factores epidemiológicos asociados a la resistencia antimicrobiana mediante un estudio analítico, transversal de periodo. Se trabajará con el cepario disponible de *Campylobacter spp*, los cuales fueron aislados de muestras diarreicas procedentes del servicio de emergencia. La detección, y caracterización de las especies y del perfil de resistencia de los aislamientos de *Campylobacter* será determinado mediante procedimientos microbiológicos estándar. El análisis estadístico será ejecutado usando pruebas bivariados de acuerdo a la naturaleza y distribución de sus datos. De encontrar asociaciones significativas en el análisis bivariado, se construirán modelos de regresión para estimar razones de prevalencia.

Palabras clave (MeSH): *Campylobacter infections, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, drug resistance, Child.*

Tabla de contenido

RESUMEN

1. INTRODUCCION	1
1.1 ANTECEDENTES	3
1.2 JUSTIFICACION.....	6
2. OBJETIVO GENERAL	7
2.1 Objetivo Especifico	7
3.-MATERIAL Y MÉTODO.....	8
3.1 Diseño del estudio	8
3.2. Población	8
3.2.1 Criterios de inclusión:.....	8
3.2.2 Criterios de exclusión:	8
3.3. Muestra.....	8
3.4 - Definición operacional de variables.....	9
3.5 Procedimientos y Técnicas	10
3.5.1 Examen Microscópico Directo	10
3.5.2 Aislamiento y Cultivo.....	11
3.5.3 Antibiograma	12
3.6. Plan de análisis	12
4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13

1. INTRODUCCION

Campylobacter spp, es un género bacteriano causante de zoonosis y enfermedad transmitida por alimentos, de distribución mundial y catalogado como patógeno emergente.¹ En las últimas tres décadas, las infecciones por *Campylobacter spp* han tomado relevancia en la salud pública debido a la carga que representan en el total de enfermedades gastrointestinales de países desarrollados, ello de acuerdo a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y al Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC).¹ Del mismo modo, las infecciones por *Campylobacter spp* son de especial interés en países en vías de desarrollo como el Perú.

Campylobacter spp es una bacteria Gram negativa, oxidasa y catalasa positiva, de forma espiralada que se asemeja a una “S” o a las alas de una gaviota. La mayoría de las especies crecen en una atmósfera microaeróbica con un requerimiento de oxígeno de 5%, 10% de dióxido de carbono y 85% de nitrógeno. El género de *Campylobacter* comprende 25 especies y seis subespecies, de las cuales, las más frecuentemente detectadas en humanos son las termo tolerantes; *C. jejuni* (subespecies *jejuni*) y *C. coli*. Otras especies como *C. lari* y *C. upsaliensis*, también han sido aisladas de casos diarreicos, pero su notificación es menos frecuente.² La infección en humanos se asocia principalmente al consumo de productos avícolas contaminados, como la carne de pollo. No obstante, la infección puede asociarse también al contacto con aves de corral, agua contaminada, leche sin pasteurizar, gatos y cerdos. La dosis infectante para humanos es de 10⁴ microorganismos.²

Los síntomas más frecuentes de la infección por *Campylobacter* son diarrea; a menudo con presencia de sangre en las heces, dolor abdominal y de cabeza, fiebre, náuseas, o vómitos. Los síntomas suelen aparecer entre el segundo y quinto día de iniciada la infección. El reporte de artritis reactiva, y de trastornos neurológicos como el síndrome de Guillain-Barré son infrecuentes pero asociados a parálisis y disfunción respiratoria que ocasionalmente desencadena en muerte.²

El tratamiento antimicrobiano con eritromicina, tetraciclina o ciprofloxacino está recomendado en casos donde la bacteria invade las células de la mucosa intestinal y dañan los tejidos, o bien para suprimir la condición de portador y evitar la diseminación de la bacteria.² Los macrólidos y fluoroquinolonas son considerados los antimicrobianos de primera línea para el tratamiento de la campilobacteriosis.² No obstante, la emergencia de la resistencia antimicrobiana hacia estos fármacos genera un escenario con muy pocas opciones terapéuticas.³

El tratamiento antimicrobiano empírico, acompañado de hidratación, se asocia a una rápida mejora y evolución satisfactoria en uno a tres días de iniciado el tratamiento. No obstante, la falla al tratamiento es un escenario frecuente. Por tal motivo, es necesario determinar el perfil de sensibilidad en aquellos casos donde la infección no pudo ser controlada y en grupos de riesgo, como los niños menores de 2 años de edad. El uso de antimicrobianos para tratar campilobacteriosis en niños menores de dos años es frecuente, y la tasa de resistencia antimicrobiana observada en esta población cada vez es más elevada.⁴ Del mismo modo, durante los últimos años se ha observado una tendencia hacia el aumento en la resistencia para macrólidos y fluoroquinolonas, tanto en aislados humanos como de animales.⁵

El uso de antimicrobianos ejerce presión ecológica sobre los microorganismos, siendo este un factor determinante para la aparición y propagación de la resistencia en la sociedad, y contribuye a la aparición y selección de aislados resistentes. La transmisión de cepas resistentes se ve favorecida por las malas prácticas de prevención y control de infecciones, así como a inadecuadas condiciones sanitarias. La transmisión de bacterias resistentes a antimicrobianos puede darse entre animales y seres humanos, y viceversa, así como entre humanos.⁴

1.1. ANTECEDENTES

María Orrego y Col.⁶ estudiaron un total de 1,110 muestras de heces provenientes de niños menores de 11 años con síndrome diarreico agudo en Asunción, Paraguay. Un total de 176 muestras fueron positivas para *Campylobacter spp.*, resultando en una prevalencia de 15.9%. El 49.0% de los aislamientos fue resistente a ciprofloxacino, un 28.0% a tetraciclina, y 1.0% a eritromicina.

Ana Tamborini y Col.⁷ estudiaron un total de 327 muestras de heces de origen humano, procedentes de pacientes con diarrea aguda, de Las Pampas, Argentina. *Campylobacter spp.* se aisló en 50 muestras. Se observó un 65% de resistencia a ciprofloxacino y un 32 % de resistencia a tetraciclina. No se detectaron bacterias resistentes a Eritromicina.

Ngan Thi y Col.⁸ desarrollaron un estudio en Tailandia y Japón para investigar la prevalencia de patógenos en casos de enfermedad diarreica aguda. Un total de 29 especies de *Campylobacter* fueron aisladas. En niños tailandeses se

encontró 8 cepas de *C. jejuni* y 1 cepa de *C. coli*, mientras que, en niños japoneses se encontró 20 cepas de *C. jejuni*. Además, se observó una alta tasa de resistencia a fluoroquinolonas; en aislamientos tailandeses un 66.7% y 90.0% en japoneses. La resistencia a macrólidos únicamente fue detectada en los aislamientos tailandeses y fue del 12.5%.

Aurora García y Col.⁹ realizaron un estudio de vigilancia para explorar las tasas de resistencia antimicrobiana durante el 2013 al 2016 en Italia. De un total de 647 especies de *Campylobacter* aisladas de niños entre 1 a 5 años, 218 cepas fueron seleccionadas para el estudio de resistencia antimicrobiana; 176 *C. jejuni*, 41 *C. coli* y 1 *C. fetus*. De las 176 cepas de *C. jejuni* el 49.9 % fueron resistentes a ciprofloxacino y tetraciclina, 5.7% a ciprofloxacino, tetraciclina y eritromicina. Por otra parte, de los 41 aislados de *C. coli*, 15 (36.6%) fueron resistentes a ciprofloxacino y tetraciclina, y 15 (36.6%) resistentes a ciprofloxacino, tetraciclina y eritromicina.

María Perales y Col.¹⁰ realizaron un estudio con niños menores de 2 años en Lima, Perú. De 248 muestras, 33 (13.3%) fueron positivas a *Campylobacter*. Jeel Moya y Col.¹¹ realizaron un estudio transversal de periodo desde el 2012 al 2015 en un hospital de Lima. En dicho trabajo reportan el aislamiento de 150 cepas de *Campylobacter* obtenidas de niños menores de 2 años; 76 *C. coli*, 30 *C. jejuni* y 44 especies de *Campylobacter*. El 93.3% de los aislamientos evidenció resistencia a uno o dos de los fármacos de primera línea utilizados en población pediátrica. De forma desglosada, la resistencia a ciprofloxacino fue de 87%, y de 7.3% a eritromicina.

Simon Pollet y Col.¹² realizaron un estudio para evaluar las tasas de resistencia a ciprofloxacino y eritromicina de acuerdo a dos periodos de estudio; 2001-2005 y 2006-2010, así como en función a tres ciudades del Perú; Lima, Iquitos y Cusco. De un total de 4,652 aislamientos, 3,419 fueron de Lima, 625 de Iquitos y 608 de Cusco. De todos los aislamientos, el 82.9% fueron identificados como *C. jejuni*, seguido por *C. coli* con 11.9%, y por otras especies relacionadas o no identificadas que incluyeron *C. lari*. De forma general se observó un aumento significativo del número de aislamientos y de las tasas de resistencia a ambos antibióticos en todas las ciudades evaluadas, sugiriendo que dicho aumento seguirá manteniendo su tendencia a través del tiempo.

Angela Lluque y Col.¹³ evaluaron el perfil de resistencia antimicrobiana de *Campylobacter spp.* aislados de 149 niños menores de 18 meses de edad en Lima, Perú. El 88.7% de los aislamientos fueron resistentes a ciprofloxacino, y un 13.0% resistentes tanto a eritromicina como a azitromicina. Los investigadores sugieren que la efectividad del tratamiento empírico debería ser constantemente evaluada debido a que este podría fallar en caso surgiera un mecanismo de resistencia de rápida dispersión.

1.2 JUSTIFICACION

En el Hospital Edgardo Rebagliati Martins, el tratamiento empírico de elección para la infección por *Campylobacter spp.*, en casos atendidos por Emergencia, es la terapia con eritromicina. La evidencia a nivel global y local sugiere que la tasa de resistencia a eritromicina es variable, siendo afectada por el periodo y lugar de estudio, así como el tipo de población estudiada. No obstante, es claro que el uso indiscriminado de antimicrobianos de primera línea favorece la emergencia y diseminación de resistencia en la comunidad.

Múltiples estudios sugieren que la tasa de resistencia antimicrobiana para ciprofloxacino podría ser superior al 90%, siendo esta mayor a la tasa de resistencia para eritromicina. La información sobre resistencia a ambos antimicrobianos a nivel local, y específicamente en aislamientos de *Campylobacter* aislados de población infantil es limitada en la literatura científica. Por lo expuesto, es necesario e importante realizar un estudio de caracterización de la resistencia antimicrobiana en aislamientos de *Campylobacter spp.*

Los resultados del estudio podrían ser utilizados para fortalecer las normas actuales con respecto a la prescripción de ciprofloxacino y eritromicina, los cuales son antimicrobianos de primera línea para el tratamiento de campilobacteriosis. Finalmente, los resultados del estudio podrían también ser usados como datos epidemiológicos basales de vigilancia de resistencia para futuros estudios que planteen intervenciones que controlen la emergencia de resistencia.

2. OBJETIVO GENERAL

- ✓ Estimar la prevalencia de resistencia a ciprofloxacino y eritromicina en aislamientos de *Campylobacter spp* de niños menores de 2 años atendidos en el servicio de emergencia pediátrica del Hospital Edgardo Rebagliati Martins desde enero a diciembre del 2019.

2.1. Objetivo Especifico

- ✓ Explorar la asociación entre edad y las tasas de resistencia a ciprofloxacino y eritromicina de forma global y desglosada por cada especie de *Campylobacter*
- ✓ Explorar diferencia de tasas de resistencia a ciprofloxacino y eritromicina a través del tiempo de forma global y desglosada por cada especie de *Campylobacter*.

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 Diseño del estudio

Analítico, transversal de periodo.

3.2 Población

Aislamientos de *Campylobacter*, provenientes de muestras fecales de niños menores de dos años, con enfermedad diarreica aguda (EDA) atendidos en el servicio de emergencias pediátrica del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, entre enero y diciembre del 2019

3.2.1 Criterios de inclusión:

- ✓ Aislamientos de *Campylobacter spp* viables, provenientes de muestras de heces de niños menores de 2 años que son referidos del servicio de emergencia pediátrica.

3.2.2 Criterios de exclusión:

- ✓ La no viabilidad del aislamiento de *Campylobacter spp* será motivo de exclusión.

3.3 Muestra

La unidad de análisis en este estudio está definida por un aislamiento de *Campylobacter spp*. obtenido de una muestra de un niño menor de 2 años que fue referido por el servicio de Emergencia pediátrica.

Debido a la naturaleza del estudio, a la falta de un marco muestral, todos los aislamientos obtenidos durante el periodo de estudio planteado, y que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión, serán caracterizados en este estudio. En tal sentido, no será necesario calcular un tamaño de muestra. Del mismo modo, la no selección de una muestra mediante procedimientos aleatorios asegurará la inclusión de aquellas posibles sub-poblaciones de bacterias infrecuentes que podrían perderse en caso se usara una técnica de muestreo.

3.4 Definición operacional de variables

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	TIPO Y SUBTIPO DE VARIABLE Y ESCALA DE MEDICIÓN	DEFINICION OPERACIONAL	UNIDAD DE MEDIDA Y VALORES	FUENTE DE DATOS
Resistencia a Ciprofloxacino	Resistencia antimicrobiana en aislados de <i>Campylobacter spp.</i> A Ciprofloxacino.	Catagórica politómica nominal	Cepas resistentes a Ciprofloxacino detectado por la técnica de disco difusión e interpretado por la CLSI .M45,	-Resistente -Intermedio -Sensible	Registro de resultado de cepas resistentes y no resistentes obtenidos del estudio de aislados de cepas de
Resistencia a Eritromicina	Resistencia antimicrobiana en aislados de <i>Campylobacter spp.</i> A Eritromicina.	Catagórica politómica nominal	Cepas resistentes a Eritromicina detectado por la técnica de disco difusión e interpretado por la CLSI .M45,	-Resistente -Intermedio -Sensible	<i>Campylobacter spp</i> sometidos a perfil de sensibilidad antimicrobiana
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento	numérica continua de razón	Años de vida calculados en base a la diferencia de tiempo entre el nacimiento y la fecha de recepción de la muestra	Niños 0 a 2 años	-Solicitud de examen para cultivo de <i>Campylobacter</i>
Sexo	Condición de un organismo que distingue entre masculino y femenino	Catagórica dicotómica nominal	Femenino: género gramatical; propio de la mujer. Masculino: género gramatical; propio del hombre.	Hombre y mujer.	-Base de datos del servicio de microbiología.

3.5 Procedimientos y Técnicas

De forma rutinaria, el servicio de Emergencia Pediátrica remite muestras de heces obtenidas por evacuación espontánea en frascos de boca ancha estériles al laboratorio de Microbiología. Las muestras de heces son recibidas en el laboratorio y luego procesadas usando métodos microbiológicos estándar. La búsqueda de *Campylobacter spp.* se realiza mediante microscopía directa y cultivo. En caso se aísle una bacteria, se procede con el estudio y caracterización de la resistencia antimicrobiana.

3.5.1 Examen microscópico directo

El examen directo de las heces es una herramienta inicial en el proceso de investigación. Este examen incluye;

- ✓ Examen de reacción inflamatoria: Se realiza la búsqueda de leucocitos, hematíes y bacilos curvos y/o espiralados con gran motilidad en forma circular o de sacacorchos. La identificación de los bacilos se asocia a un diagnóstico presuntivo y rápido de *Campylobacter*.
- ✓ Coloración Gram: Las muestras de materia fecal son examinadas a través de una tinción simple utilizando carbol fucsina como colorante de contraste para observar las formas bacilares curvas compatibles a *Campylobacter*.¹⁴

3.5.2 Aislamiento y cultivo

La metodología usada para el aislamiento es el método de filtración, el cual está fundamentado en la separación de *Campylobacter* del resto de la flora microbiana presente en las heces. Los coliformes quedan retenidos en la superficie de una membrana de celulosa de 0,45 o 0,66 μm , y los bacilos de menor tamaño penetran la membrana y se depositan sobre la placa de agar sangre, la cual actúa como sustrato para el crecimiento del microorganismo.

El método está validado y se desarrolla de la siguiente manera; usando una pinza, se coloca un filtro estéril de celulosa de 0.45 μm , hasta que se adhiera al medio. Luego, se prepara una suspensión de materia fecal en solución fisiológica, y usando una pipeta Pasteur se deposita aproximadamente 100 μL del preparado sobre la membrana, procurando evitar derrames fuera del filtro. Luego de 30 minutos, se agrega más muestra y se deja secar por 30 minutos adicionales. Al completar la hora, el filtro es retirado y desechado. El área expuesta al filtro es estriada con un asa microbiológica. Las placas son incubadas en jarras con vela, con una atmósfera aproximada de 17 – 19% de oxígeno y de 2 – 4% de dióxido de carbono. Para favorecer las condiciones de crecimiento, se adiciona un generador casero de dióxido de carbono, el cual contiene una pastilla de Alka Seltzer disuelto en 10 ml de agua. Las placas son incubadas por 48 horas a 42°C. Finalizado el tiempo de incubación, se procede a buscar colonias sugerentes de *Campylobacter*. Las colonias de *Campylobacter* se caracterizan por ser planas, no hemolíticas, de aspecto acuoso, grisáceas, con bordes irregulares y con tendencia a diseminarse.

Para confirmar su positividad, se procede a realizar una tinción de Gram simple, esperando observar bacilos curvos y/o espiralados, con forma de alas de gaviota.

Posterior a la observación microscópica se realiza una prueba de catalasa y oxidasa, esperando que ambas pruebas sean positivas.¹⁴

3.5.3 Antibiograma

Este estudio propone caracterizar los aislamientos de *Campylobacter* almacenados durante todo el 2019 en el laboratorio de microbiología. Los aislamientos serán reactivados y preparados para realizar el antibiograma.

Se realizará el perfil de sensibilidad según la normativa de la CLSI.¹⁶ a partir de colonias puras, frescas y aisladas. Se seleccionará 3-4 colonias de *Campylobacter spp* y se procederá a preparar una suspensión en 3 ml de solución salina. La suspensión será ajustada a la escala 0.5 de Mc. Farland. Luego, se procederá a sembrar la suspensión en placas de Agar Mueller Hinton suplementadas con 5% de sangre de oveja. Posterior a la siembra se procederá a colocar discos de eritromicina y ciprofloxacino sobre la superficie del agar. Las placas serán incubadas a 42°C por 24 horas en atmósfera microaeróbica; 10% CO₂, 5% O₂ y 85% N₂.¹⁵ La interpretación de resultados se realizará siguiendo los criterios establecidos por la CLSI (Anexo 1).¹⁶

3.6. Plan de análisis

Las variables categóricas serán resumidas usando frecuencias absolutas y relativas. Las variables numéricas serán resumidas usando una medida de tendencia central y

de dispersión que mejor se ajuste a la distribución de sus datos. El análisis bivariado entre las variables categóricas será realizado usando la prueba del chi cuadrado. El análisis bivariado entre las variables categóricas y numéricas será realizado usando una prueba paramétrica. En caso los supuestos estadísticos no sean cumplidos, se utilizará una prueba no paramétrica. De encontrar asociaciones, se procederá a construir modelos de regresión para la estimación de razones de prevalencia mediante modelos lineales generalizados. El análisis será ejecutado en Stata v15, considerando significancia estadística a valores de $p < 0.05$.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Boelaert F, Rizzi V, Stoicescu A. Manual para Informar sobre Zoonosis y Agentes Zoonóticos, en el Marco de la Directiva 2003/99 / CE, y Sobre Algunos otros Agentes Microbiológicos Patógenos para Obtener Información Derivada del año 2018. Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria; *Publicación de respaldo EFSA* 2019; 16 (1): EN - 1560. 59 pp. Doi: 10.2903 / sp.efsa.2019.EN - 1560
2. Fitzgerald C. *Campylobacter*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud;2018.
3. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in Zoonotic and Indicator Bacteria from Humans, Animals and food in 2017. *EFSA J.* 2019;17 (2):5598.
4. Lonjedo R. Estudio de las Resistencias Antimicrobianas en *Campylobacter* Termófilos Aislados en Producción Avícola [tesis]. Valencia:Departamento de Biotecnología de la Universidad Politécnica de Valencia;2017:20 p.

5. Gabriel A, Taylor D. Macrolide Resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. J Antimicrob Chemother. agosto del 2006;58(2):243–55.
- 6- Orrego M, Weiler N, Portillo R, Lird G, Acosta L, Ortiz F, et al. Síndrome Diarreico Agudo Causado por *Campylobacter spp.* en Pacientes Menores de 11 Años y su Resistencia Antimicrobiana a las Drogas de Elección para Tratamiento 2010-2012, Paraguay. Art Pediatr. agosto 2014;41(2):127-30.
7. Tamborini A, Casabona L, Viñas L, María R., Asato V, Hoffer A, et al. *Campylobacter spp.* Prevalencia y Caracterización Feno-genotípica de Aislamientos de Pacientes con Diarrea y de sus Mascotas en la Provincia de La Pampa, Argentina. Rev argent Microbiol. octubre-diciembre del 2012;44(4):266-71.
8. Ngan Thi Kim Pham, Aksara Thongprachum, Dinh Nguyen Tran, Shuichi Nishimura. Antibiotic Resistance of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* Isolated from Children with Diarrhea in Thailand and Japan. Jpn J Infect Dis. 2016; 69(1):77-9.
9. García A, Dionisi A, Arena S, Iglesias Y, Carattoli A, Luzzi I. Human *Campylobacteriosis* in Italy: Emergence of Multi-Drug Resistance to Ciprofloxacin, Tetracycline, and Erythromycin. Front Microbiol. 2018; 9:1906.
10. Perales M, Camiña M, Quiñones C. Infección por *Campylobacter* y *Shigella* como Causa de Diarrea Aguda Infecciosa en niños menores de dos años en el Distrito de la Victoria, Lima-Perú. Rev Perú med exp salud pública. octubre del 2002;19(4):186-92.

11. Moya J, Terán A, Salazar R. Alta Resistencia Antimicrobiana a Fluoroquinolonas por *Campylobacter* en Pacientes Pediátricos de un Hospital Peruano. Rev Perú med exp salud pública. enero- marzo 2018;35(1):156-58.
12. Pollett S, Rocha C, Zerpa R, Patiño L, Valencia A, Camiña M, et al. *Campylobacter* Antimicrobial Resistance in Perú: a Ten-Year Observational Study. BMC Infect Dis. 2012;12:193.
- 13- Lluque A, Riveros M, Prada A, Ochoa T, Ruiz J. Virulence and Antimicrobial Resistance in *Campylobacter* spp. from a Peruvian Pediatric Cohort. J Scientific. 2017.
14. Farace M, Viñas M. Manual de Procedimientos Para el Aislamiento y Caracterización de *Campylobacter* spp. Buenos Aires:Departamento Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv Para América del Sur;2007:34 p.
- 15-- Galas. M. Manual de Procedimientos Sensibilidad a los Antimicrobianos en *Campylobacter* spp. Buenos Aires: Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.A.N.L.I.S. “Dr. Carlos G. Malbrán” Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv Para América del Sur 2008:24 p.
- 16.The Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria.M45, 3rd ed. August 2016.

5. CRONOGRAMA Y PRESUPUESTO

Cronograma de trabajo propuesto

Actividades	Meses											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Registro y aprobación del proyecto por parte de UPCH	X	X										
Registro y aprobación del proyecto por parte de la institución			X	X								
Recepción de muestras, proceso y cultivo de muestras					X	X	X					
Análisis de datos								X	X			
Elaboración del informe y presentación										X	X	X

Presupuesto

Rubros	Costo por mes (S/.)	Costo total (S/.)
Gastos de obtención de información, internet.	50	600
Material sin costo para el estudio		
Incubadoras	0	0
Cabina de flujo laminar	0	0
Autoclave y otros	0	0
Material con costo para el estudio		
Medios de cultivo base.	20	240
Asa de 10 ul	50	600
Placa Petri y otros.	800	9600
Total	920	11040

TOTAL: S/ 11,040.00

Table 5. *Campylobacter jejuni/coli*

Testing Conditions	Routine QC Recommendations	Agents to Consider for Primary Testing
<p>Medium: Broth microdilution: CAMHB-LHB (2.5% to 5% v/v) Disk diffusion: BMHA</p> <p>Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard</p> <p>Incubation: Broth microdilution method: 36 to 37°C for 48 hours; 42°C for 24 hours (Incubation at less than 36°C or greater than 42°C may not yield satisfactory growth.) Disk diffusion: 42°C for 24 hours Microaerobic atmosphere equivalent to 10% CO₂, 5% O₂, and 85% N₂. Use of a compressed gas incubator is preferable; however, acceptable performance may be achieved using microaerobic gas-generating sachets. Sealed plastic bags or pouches do not result in reproducible data and are not recommended.</p> <p>NOTE: Agar dilution testing is described in CLSI documents VET01³³ and VET01S.³⁴</p>	<p>Microdilution: <i>C. jejuni</i> ATCC® 33560, 36 to 37°C for 48 hours or 42°C for 24 hours</p> <p>Disk Diffusion: <i>S. aureus</i> ATCC® 25923, MHA, 35 to 37°C for 16 to 18 hours in ambient air</p> <p>See QC Tables 23C and 24A.</p>	<p>Ciprofloxacin Erythromycin Tetracycline</p>

* ATCC® is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

General Comment

- (1) Growth characteristics on routine media: fastidious; grows on media such as BMHA; requires a microaerobic atmosphere (10% CO₂, 5% O₂, and 85% N₂); 36 to 37°C for 48 hours or 42°C for 24 hours.

Antimicrobial Class	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter (mm) Interpretive Criteria			MIC (µg/mL) Interpretive Criteria			Comments
			S	I	R	S	I	R	
MACROLIDE									
	Erythromycin	15 µg	≥ 16	13–15	≤ 12	≤ 8	16	≥ 32	(2) Susceptibility and resistance to azithromycin can be predicted by testing erythromycin.
FLUOROQUINOLONE									
	Ciprofloxacin	5 µg	≥ 24	21–23	≤ 20	≤ 1	2	≥ 4	
TETRACYCLINES									
	Tetracycline	30 µg	≥ 26	23–25	≤ 22	≤ 4	8	≥ 16	Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline.
	Doxycycline	–	–	–	–	≤ 2	4	≥ 8	

Abbreviations: ATCC®, American Type Culture Collection; BMHA, Mueller-Hinton agar with 5% sheep blood; CAMHB-LHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth supplemented with lysed horse blood; I, intermediate; MHA, Mueller-Hinton Agar; MIC, minimal inhibitory concentration; QC, quality control; R, resistant; S, susceptible.