

## VIII JORNADA DE DIFUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN – FCV-UNL

### RESUMEN EXTENDIDO

# Evaluación *in vitro* de la resistencia antimicrobiana en *Campylobacter* termotolerantes presentes en planta de faena aviar.

Schreyer M<sup>1</sup>, Olivero C<sup>1</sup>, Rossler E<sup>1</sup>, Saluzzo M<sup>1</sup>, Frizzo LS<sup>1</sup>, Signorini ML<sup>2</sup>, Zbrun MV<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Análisis de Alimentos, ICiVet-Litoral (UNL-CONICET), Departamento de Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral.

<sup>2</sup> Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IdiCaL, CONICET-INTA).

\* Correspondencia: Zbrun MV, E-mail: [zbrun.maria@inta.gob.ar](mailto:zbrun.maria@inta.gob.ar)

Editado por: R. Sobrero, C. Baravalle y V. Matiller

### RESUMEN

Considerando que *Campylobacter* termotolerante (CT) es un agente zoonótico de gran relevancia en la seguridad alimentaria y, por ende, en la salud pública, se desarrolló este trabajo con el objetivo de determinar fenotípicamente el perfil de resistencia antimicrobiana de aislamientos de CT obtenidos durante el proceso de faena. Se trabajó con una colección de aislamientos de CT (n=102), los cuales fueron obtenidos durante el año 2015 a partir de muestras tomadas en diferentes etapas del proceso de faena de pollos parrilleros. Se evaluó la concentración inhibitoria mínima de los aislamientos frente a fluorquinolonas (ciprofloxacina y enrofloxacin). Desde el punto de vista epidemiológico, el 90% de las cepas de *C. jejuni* y el 100% de los aislamientos de *C. coli* presentaron susceptibilidad disminuida frente a CIP. Desde el punto de vista clínico, el 81% de las cepas de *C. jejuni* y el 100% de las cepas de *C. coli* fueron resistentes a dicho ATM. Para el caso de ENR, el 76% de las cepas de *C. jejuni* y el 88% de las cepas de *C. coli* evidenciaron resistencia. Además, el 2% de las cepas de *C. jejuni* y el 12% de aquellas correspondientes a *C. coli* presentaron resistencia intermedia a ENR. La identificación de una elevada proporción de cepas de CT clínicamente resistentes a CIP y ENR compromete la eficacia de la terapia antimicrobiana frente al tratamiento clínico de la campylobacteriosis. Es necesario fortalecer la vigilancia y el control de CT, promoviendo la integración entre las áreas de trabajo de laboratorio, clínica humana y veterinaria.

**Palabras clave:** Resistencia antimicrobiana, mecanismos de resistencia, *Campylobacter*, matadero

### IN VITRO EVALUATION OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN THERMOTOLERANT CAMPYLOBACTER PRESENT IN POULTRY SLAUGHTER PLANTSE

#### SUMMARY

Considering that thermotolerant *Campylobacter* (TC) is a zoonotic agent of great relevance in food safety and, therefore, in public health, this work was carried out with the objective to determine phenotypically, the antimicrobial resistance profile of TC isolated from different stages of the broiler slaughter process. We worked with a collection of TC isolates (n = 102), which were obtained during 2015 from samples taken at different stages of the slaughter process of broiler chickens. The minimal inhibitory concentration of the isolates was evaluated against fluoroquinolones (ciprofloxacin –CIP- and enrofloxacin –ENR-). From the epidemiological point of view, 90% of the *C. jejuni* isolates and 100% of the *C. coli* isolates showed decreased susceptibility to CIP. From a clinical point of view, 81% of the *C. jejuni* and 100% of the *C. coli* isolates were resistant to this antimicrobial. In the case of ENR, 76% of the *C. jejuni* strains and 88% of the *C. coli* strains showed resistance. In addition, 2% of the *C. jejuni* and 12% of *C. coli* isolates showed intermediate resistance to ENR. The identification of a high proportion of TC strains clinically resistant to CIP and ENR threatens the efficacy of antimicrobial therapy against the clinical treatment of campylobacteriosis. It is necessary to strengthen the TC surveillance and control, promoting integration between the laboratory, human clinic and veterinary areas.

**Keywords:** Antimicrobial resistance, mechanisms of resistance, *Campylobacter*, slaughterhouse.

---

*Campylobacter* termotolerantes (CT) es considerado la principal causa de gastroenteritis bacteriana a nivel mundial (WHO, 2001; EFSA/ECDC, 2015b), siendo *C. jejuni* y *C. coli* las especies más relevantes. Las aves de corral son uno de sus principales reservorios (Humphrey *et al.*, 2007) y, una vez colonizados, permanecen como portadores asintomáticos (Nachamkin *et al.*, 1993).

La principal fuente de infección es por consumo de carne de pollo contaminada (Notario *et al.*, 2011; Fischer *et al.*, 2013) o, indirectamente, mediante la contaminación cruzada que se produce al manipular los alimentos (carne aviar y vegetales crudos) de manera inadecuada (Mattick *et al.*, 2003; Signorini *et al.*, 2013).

La campilobacteriosis puede ser asintomática en adultos o una enfermedad autolimitante asociada con diarrea fuerte y dolor abdominal, pero que no requiere terapia antimicrobiana (Altekruse *et al.*, 1999; Avrain *et al.*, 2003). No obstante, existen circunstancias clínicas específicas en las cuales es necesaria la administración de antimicrobianos (ATM), siendo las fluoroquinolonas uno de los grupos de elección (Nachamkin *et al.*, 2000; Engberg, 2006). Sin embargo, la resistencia creciente de *Campylobacter* a los principales ATM compromete su eficacia terapéutica (Avrain *et al.*, 2003; Lubner *et al.*, 2003; Kashoma *et al.*, 2016). La emergencia de resistencia se la ha relacionado con el uso de ATM en medicina veterinaria y en prácticas agrícolas, principalmente como agentes profilácticos y promotores de crecimiento (Mor-Mur y Yuste, 2010; Iovine, 2013). Así, los aislamientos entéricos resistentes se propagan desde los animales a los humanos a través de la cadena agroalimentaria, suponiendo un riesgo para la salud pública (Signorini *et al.*, 2013).

El objetivo del presente trabajo fue determinar fenotípicamente el perfil de resistencia antimicrobiana de aislamientos de CT obtenidos durante el proceso de faena de pollos parrilleros.

#### Origen de los aislamientos

Se trabajó con una colección de aislamientos de CT (n=102) obtenidos durante el año 2015 a partir de muestras tomadas en diferentes etapas del proceso de faena de pollos parrilleros. El establecimiento muestreado se localizó en la zona de influencia de la Facultad de Ciencias Veterinarias (Universidad Nacional del Litoral). Los muestreos y análisis microbiológicos fueron realizados en el Laboratorio de Análisis de Alimentos del Departamento de Salud Pública.

La primera zona evaluada del matadero fue el sector de evisceración de los pollos, en donde se tomaron muestras del ciego, de superficies en zona de corte de

cogote, de pinzas de eviscerado y de manos de operarios que realizaban dicha tarea. La segunda zona estuvo comprendida por muestras de superficies y zona de trabajo posteriores al *chiller* como así también de manos de operarios que trabajaban en esta área. La tercera zona de estudio fue el sector de envasado en donde se tomaron muestras de la superficie de la cinta clasificadora y del área de embolsado. La cuarta zona de estudio fue el sector de almacenamiento del producto final, en donde se tomaron muestras de carcasas de pollos listas para ser distribuidas en los diferentes puntos de venta final.

La confirmación presuntiva del género de los microorganismos aislados se realizó mediante métodos fenotípicos: microscopía de contraste de fases, prueba de oxidasa y catalasa (Patton *et al.*, 1991). Posteriormente, se realizó la confirmación por técnicas de biología molecular mediante PCR-*multiplex*, la cual además de asegurar que los aislamientos pertenecían al género *Campylobacter* permitió su identificación a nivel de especie (Vandamme *et al.*, 1997).

Las colonias así identificadas fueron conservadas a -80°C en viales utilizando un medio crioprotector (Terzolo *et al.*, 1987).

#### Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos

Las 102 cepas conservadas a -80°C se reactivaron en agar sangre Columbia base (Oxoid) suplementado con 5% de sangre equina hemolizada (Corry *et al.*, 1995), incubándose en microaerofilia (3-5% de O<sub>2</sub>, 2-10% de CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>) a 42°C durante 48 h en jarras de anaerobiosis. Para el control de calidad del crecimiento de las cepas se utilizó como control positivo una cepa de *Campylobacter jejuni* ATCC 33560.

Para evaluar fenotípicamente la resistencia antimicrobiana de aislamientos de CT se utilizó el método de dilución en agar según el manual de procedimientos propuesto por el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G Malbrán" (Lucero y Galas, 2011), siguiendo el protocolo elaborado por Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), documento M7-A7 (2010).

Para cada agente antimicrobiano, a partir de una solución de antimicrobiano de trabajo se realizaron diluciones seriadas al medio, las cuales se volvieron a diluir 1/20 al ser incorporadas dentro del medio de cultivo agar Mueller-Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero desfibrinada, siguiendo las instrucciones de Lucero y Galas (2011). De esta manera,

cada placa contuvo una concentración de antimicrobiano diferente.

A partir del cultivo fresco en placa, se tomaron aproximadamente 3 o 4 colonias de las diferentes cepas de CT y se resuspendieron en tubos con 3 ml de solución fisiológica (0,9% NaCl). Posteriormente, se ajustó la suspensión bacteriana por comparación visual hasta alcanzar la misma turbidez del estándar de 0,5 de la escala Mc. Farland, lo que equivale aproximadamente a  $10^8$  UFC/ml. A continuación, se realizó una dilución 1/10 de los inóculos previamente ajustados, transfiriendo 0,1 ml de los mismos a tubos eppendorf con 0,9 ml de solución fisiológica (Lucero y Galas, 2011).

El contenido de cada tubo eppendorf fue homogeneizado, se tomó una alícuota de 0,4 ml y se colocó en el pocillo correspondiente de la policubeta del replicador de Steers para proceder a la aplicación de los inóculos bacterianos, de manera rápida y simultánea, sobre la superficie del agar. Cada "spot" formado en dicha superficie contuvo aproximadamente  $1-2 \times 10^4$  bacterias (Lucero y Galas, 2011).

Los ATM estudiados pertenecen al grupo de las fluoroquinolonas: ciprofloxacina (CIP, 0,062-16  $\mu\text{g/ml}$ ) y enrofloxacin (ENR, 0,031-4  $\mu\text{g/ml}$ ). Las placas inoculadas se incubaron a 42 °C en condiciones de microaerofilia por 24 h. Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a la lectura e interpretación de las placas, registrando la concentración inhibitoria mínima (CIM) como el valor de la menor concentración de ATM que inhibió completamente el desarrollo microbiano.

Los aislamientos se clasificaron como sensibles, intermedias o resistentes frente a CIP y ENR según los criterios de interpretación de la CIM para establecer puntos de corte clínicos en *Campylobacter* spp., reportados por CLSI. Además, los aislamientos de CT se clasificaron como *wild type* (WT, población de microorganismos que no poseen mecanismos de resistencia detectables fenotípicamente) o *non-wild type* (nWT, población que se aleja de la población normal WT) frente a CIP según los criterios de interpretación de la CIM para establecer valores de corte epidemiológicos (ECOFF) en *C. jejuni* y *C. coli*, reportados por el sitio web oficial de EUCAST (2020). Para el caso particular de ENR, no existen tales criterios de interpretación en las especies de CT mencionadas.

De las 102 cepas de CT aisladas, 57 provenían del ciego de pollos, 3 de zona de corte de cogote, 7 de pinzas de eviscerado, 12 de operarios que realizaban dicha tarea, 5 de superficies post-chiller, 1 de operario en esta área, 1 de cinta clasificadora, 1 de embolsado y 15 de carcasas de pollos. Del total, 42 pertenecían a la especie *C. jejuni* y 60 a *C. coli*.

Desde el punto de vista epidemiológico, el 90% de los aislamientos de *C. jejuni* y el 100% de los aislamientos de *C. coli* presentaron susceptibilidad disminuida frente a

CIP (Figura 1a). Desde el punto de vista clínico, el 81% de los aislamientos de *C. jejuni* y el 100% de los aislamientos de *C. coli* fueron resistentes a dicho ATM (Figura 1b). A partir del ECOFF se pudo detectar la existencia de cepas de *C. jejuni* (9%) que implica un problema emergente de salud pública dado que se clasificaron como susceptibles desde el punto de vista clínico frente a CIP, pero en proceso de adquirir resistencia.

Para el caso de ENR, el 76% de los aislamientos de *C. jejuni* y el 88% de los aislamientos de *C. coli* evidenciaron resistencia. Además, el 2% de los aislamientos de *C. jejuni* y el 12% de aquellos correspondientes a *C. coli* presentaron resistencia intermedia a ENR (Figura 1c).

A partir del ECOFF se detectó la presencia de cepas de *C. jejuni* que desarrollaban una susceptibilidad disminuida frente a CIP, pero que todavía tenían una CIM lo suficientemente baja como para permitir una terapia exitosa (de Jong *et al.*, 2016). Estos resultados son congruentes con los informados en otros trabajos que reportaron elevadas tasas de resistencia a fluoroquinolonas en CT (Giacomelli *et al.*, 2014; Kovalenko *et al.*, 2014; Torralbo *et al.*, 2015; Zbrun *et al.*, 2015; López *et al.*, 2017; EFSA/ECDC, 2018). Para el monitoreo de la resistencia en *Campylobacter* spp., tanto los criterios epidemiológicos como los clínicos deben ser aplicados a fin de poder identificar variaciones de susceptibilidad en el reservorio de esta bacteria y estimar posibles fallas de tratamiento clínico en humanos (Aarestrup *et al.*, 2008; McDermott y Mégraud, 2017).

Varias publicaciones han demostrado una asociación entre el aumento en la prevalencia de *Campylobacter* spp. resistentes a quinolonas aislados de aves, carne de aves y humanos infectados, con la introducción de estos fármacos en la industria avícola, principalmente ENR (Smith y Fratamico, 2010; EFSA/ECDC, 2012b; WHO, 2012).

Ya en el año 1996, un estudio concluyó que el uso veterinario de ENR ejercía una presión selectiva para la resistencia a CIP, en aislamientos de *Campylobacter* en humanos (Gaunt y Piddock, 1996) y siguen siendo avalados en la actualidad (Goualié *et al.*, 2012; Frasso *et al.*, 2015; WHO, 2017). Adicionalmente, se demostró que el metabolito activo de ENR es CIP (Idowu *et al.*, 2010). Este hecho explicaría la mayor resistencia a CIP obtenida en este estudio, ya que el uso frecuente de ENR en aves de corral pudo haber provocado que, durante la metabolización de este antimicrobiano, se seleccionaran cepas resistentes a CIP (Frasso *et al.*, 2015).

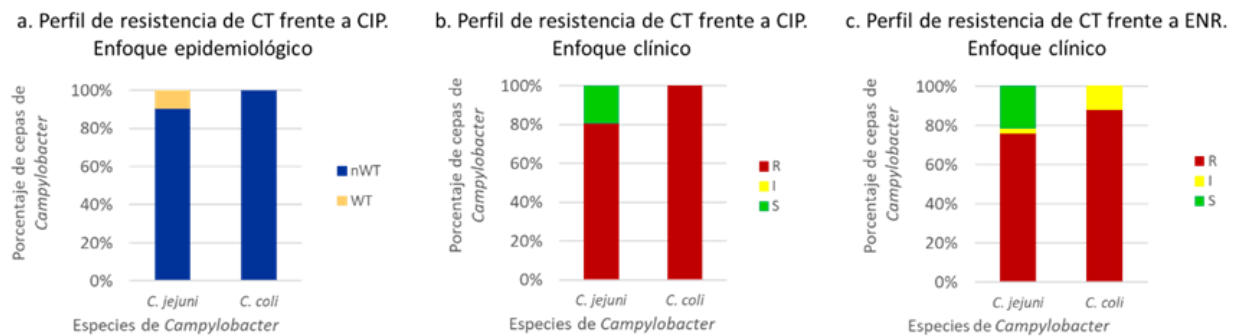
A pesar de que se ha demostrado que la eliminación del uso de quinolonas en granjas de producción de pollos disminuye la tasa de resistencia de *Campylobacter* frente a estos ATM (Wieczorek *et al.*, 2013), en Argentina y en la mayor parte de los países de América Latina su uso aún está permitido (González-Hein *et al.*, 2013; Frasso *et al.*, 2015; Fernández y Pérez-Pérez, 2016).

Es importante destacar que CT resistentes a fluoroquinolonas son capaces de persistir en las granjas durante varios ciclos productivos en ausencia de presión selectiva antimicrobiana (Humphrey *et al.*, 2005; Luangtongkum *et al.*, 2009). Una posible explicación a este hecho es que el mecanismo de resistencia que adquiere la bacteria frente a este grupo de ATM le proporcionaría cierta ventaja en la colonización de aves, sin ocasionar un cambio en el *fitness* de *Campylobacter* (Luangtongkum *et al.*, 2009). En este sentido, las mutaciones que confieren resistencia a los ATM a menudo implican la modificación de la enzima objetivo para evitar la unión a dichos ATM. Estas mutaciones frecuentemente hacen que la enzima sea diferente en comparación con la versión de la cepa original, lo cual puede afectar ciertas características de la bacteria que pueden manifestarse como una disminución de la virulencia, la transmisión, la tasa de crecimiento, lo que se conoce como "*fitness cost*" (Melnyk, *et al.*, 2015). Sin embargo, a pesar de esto, la cepa mutante puede sobrevivir en condiciones de tratamiento con ATM. Incluso, si las mutaciones no generan un *fitness cost* tienen más probabilidades de persistir en ausencia del uso de los ATM (Melnyk, *et al.*, 2015).

Se encontró una elevada proporción de aislamientos de CT resistentes a las fluoroquinolonas, comprometiendo su uso en el tratamiento de campilobacteriosis humanas. La evaluación de la resistencia antimicrobiana teniendo en cuenta los ECOFF aporta información valiosa sobre lo que sucede en los reservorios de estos microorganismos. Por lo expuesto, es necesario fortalecer la vigilancia y el control de CT, promoviendo la integración entre las áreas de trabajo de laboratorio, clínica humana y veterinaria.

#### **Agradecimientos**

Este trabajo fue financiado por el PICT-Joven N°1491/2014 (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica) y el CAID-Joven 2016 (Código de proyecto: 50020150100061L, Universidad Nacional del Litoral).



**Figura 1.** Perfil de resistencia en *C. jejuni* y *C. coli* frente a CIP desde (a) enfoque epidemiológico (ECOFF: nWT, WT), (b) enfoque clínico (R, I, S) frente a CIP y (c) enfoque clínico (R, I, S) frente a ENR.

## Bibliografía

Aarestrup F.M., Mcdermott P.F., Wegener H.C. 2008. Transmission of antibiotic resistance from food animals to humans. En I. Nachamkin, C.M. Szymanski, M.J. Blaser (eds.), *Campylobacter* (3rd ed.). (pp. 645-665). ASM Press, Washington, DC. doi:10.1128/9781555815554.ch36.

Altekruse S.F., Stern N.J., Fields P.I., Swerdlow D.L. 1999. *Campylobacter jejuni*-an emerging foodborne pathogen. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 28-35. doi:10.3201/eid0501.990104.

Avrain L., Humbert F., L'Hospitalier R., Sanders P., Vernozy-Roland C., Kempf I. 2003. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers: association with production type and antimicrobial use. *Vet. Microbiol.* 96: 267-276. doi:10.1016/j.vetmic.2003.07.001.

CLSI. 2010. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved Guideline (2nd ed.), Wayne, PA.

Corry J.E.L., Post D.E., Colin P., Laisney M.J. 1995. Culture media for the isolation of *Campylobacter*s. *Int. J. Food Microbiol.* 26: 43-76. doi:10.1016/0168-1605(95)00044-k.

de Jong A., Moyaert H., Simjee S. 2016. Antimicrobial susceptibility testing of foodborne bacteria related to national and international resistance-monitoring programs. En Barros-Velázquez, J. (ed.), *Antimicrobial Food Packaging*. (pp.117-128). ASM Press. doi:10.1016/B978-0-12-800723-5.00009-7.

EFSA/ECDC. 2012. The European Union Summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2010. *EFSA J.* 10: 2598. doi:10.2903/j.efsa.2012.2598.

EFSA/ECDC. 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. *EFSA J.* 13: 4329. doi:10.2903/j.efsa.2015.4329.

EFSA/ECDC. 2018. The European Union Summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. *EFSA J.* 16: 5182. doi:10.2903/j.efsa.2018.5182.

Engberg J. 2006. Contributions to the epidemiology of *Campylobacter* infections. A review of clinical and microbiological studies. *Dan. Med. Bull.* 53: 361-389.

EUCAST. 2020. Definitions of clinical breakpoints and epidemiological cut-off values. Recuperado el 24 de enero de 2020, de [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/EUCAST\\_SOPs/EUCAST\\_definitions\\_of\\_clinical\\_breakpoints\\_and\\_ECOffs.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/EUCAST_SOPs/EUCAST_definitions_of_clinical_breakpoints_and_ECOffs.pdf).

Fernández H., Pérez-Pérez G. 2016. *Campylobacter*: fluoroquinolone resistance in Latin-American countries. *Arch. Med. Vet.* 48: 255-259.

- Fischer S., Kittler S., Klein G., Glünder G. 2013. Microplate-test for the rapid determination of bacteriophage-susceptibility of *Campylobacter* isolates-development and validation. PLoS ONE 8: e53899. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053899>.
- Frasão B.S., Côrtes L.R., Nascimento E.R., Cunha N.C., Almeida V.L., Aquino M.H.C. 2015. Detecção de resistência às fluoroquinolonas em *Campylobacter* isolados de frangos de criação orgânica. Pesq. Vet. Bras. 35: 613-619. doi:10.1590/S0100-736X2015000700003.
- Gaunt P., Piddock L. 1996. Ciprofloxacin resistant *Campylobacter* spp. in humans: an epidemiological and laboratory study. J Antimicrob Chemother. 37: 747-757.
- Giacomelli M., Salata C., Martini M., Montesissa C., Piccirillo A. 2014. Antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from poultry in Italy. Microb. Drug Resist. 20: 181-188. doi:10.1089/mdr.2013.0110.
- González-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. Rev. Chilena Infectol. 30: 135-139.
- Goualié G.B., Akpa E.E., Kakou-N'Gazoa E.S., Guessennnd N., Bakayoko S., Niamké L.S., Dosso M. 2012. Prevalence and antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter* Isolated from chicken in Cote d'Ivoire. Int. J. Microbiol. 1-5. doi:10.1155/2012/150612.
- Humphrey T.J., Jørgensen F., Frost J.A., Wadda H., Domingue G., Elviss N.C., Griggs D.J., Piddock L.J.V. 2005. Prevalence and subtypes of ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* spp. in commercial poultry flocks before, during, and after treatment with fluoroquinolones. Antimicrob. Agents Chemother. 49: 690-698. doi:10.1128/AAC.49.2.690-698.2005.
- Humphrey T., O'Brien S., Madsen M. 2007. Campylobacters as zoonotic pathogens: A food production perspective. Int. J. Food Microbiol. 117: 237-257. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.01.006.
- Idowu O.R., Peggins J.O., Cullison R., Von Bredow J. 2010. Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in lactating dairy cows and beef steers following intravenous administration of enrofloxacin. Res. Vet. Sci. 89: 230-235.
- Iovine N.M. 2013. Resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni*. Virulence 4: 230-240. doi:10.4161/viru.23753.
- Kashoma I.P., Kassem I.I., John J., Kessy B.M., Gebreyes W., Kazwala R.R., Rajashekara G. 2016. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from dressed beef carcasses and raw milk in Tanzania. Microb. Drug Resist. 22: 40-52. doi:10.1089/mdr.2015.0079.
- Kovalenko K., Roasto M., Santare S., Berzins A., Hörman A. 2014. *Campylobacter* species and their antimicrobial resistance in Latvian broiler chicken production. Food Control 46: 86-90. doi:10.1016/j.foodcont.2014.05.009.
- López C., Giacoboni G., Sommerfelt I. 2017. Resistencia a antimicrobianos de *Campylobacter jejuni* aislados de pollos, provincia de Buenos Aires, Argentina. Rev. Med. Vet. 98: 8-12.
- Luber P., Wagner J., Hahn H., Bartelt E. 2003. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated in 1991 and 2001-2002 from poultry and humans in Berlin, Germany. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 3825-3830. doi:10.1128/AAC.47.12.3825-3830.2003.
- Lucero M.H., Galas M. 2011. Manual de procedimientos "Sensibilidad a los antimicrobianos en *Campylobacter* spp". Dto. Bacteriología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas A.N.L.I.S. "Dr. Carlos G. Malbrán". Centro Regional de Referencia WHO-Global Salm. Surv. para América del Sur.
- Luangtongkum T., Jeon B., Han J., Plummer P., Logue C.M., Zhang Q. 2009. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence. Future Microbiol. 4: 189-200. <https://doi.org/10.2217/17460913.4.2.189>.
- Mattick K., Durham K., Domingue G., Jørgensen F., Sen M., Schaffner D.W., Humphrey T. 2003. The survival of foodborne pathogens during domestic washing-up and subsequent transfer onto washing-up sponges, kitchen surfaces and food. Int. J. Food Microbiol. 85: 213-26. doi:10.1016/s0168-1605(02)00510-x.
- McDermott P.F., Mégraud F. 2017. Antimicrobial resistance in *Helicobacter* and *Campylobacter*. En D.L. Mayers, J.D. Sobel, M. Ouellete, K.S. Kaye, D. Marchaim (eds.). *Antimicrobial drug resistance*. (pp. 991-1006). Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-319-47266-9\_14.

- Melnyk A.H., Wong A., Kassen R. 2015. The fitness costs of antibiotic resistance mutations. *Evol. Appl.* 8: 273-283. doi:10.1111/eva.12196.
- Mor-Mur M., Yuste J. 2010. Emerging bacterial pathogens in meat and poultry: An overview. *Food Bioprocess Technol.* 3: 24-35. doi:10.1007/s11947-009-0189-8
- Nachamkin I., Bohachick K., Patton C.M. 1993. Flagellin gene typing of *Campylobacter jejuni* by restriction fragment length polymorphism analysis. *J. Clin. Microbiol.* 31: 1531-1536.
- Nachamkin I., Engberg J., Aarestrup F.M. 2000. Diagnosis and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. En I. Nachamkin, M.J. Blaser (eds.), *Campylobacter* (2nd ed). (pp. 45-66). AMS Press, Washington, DC.
- Notario R., Borda N., Gambande T., Bermejo J., Ponessa A., Toledo V. 2011. Cepas de *Campylobacter jejuni* resistentes a quinolonas aisladas de humanos, gallinas y pollos. *Medicina* 71: 331-335.
- Patton C., Wachsmuth I.K., Evins G., Kiehlbauch J.A., Plikaytis B.D., Troup N., Tompkins L., Lior H. 1991. Evaluation of 10 methods to distinguish epidemic-associated *Campylobacter* strains. *J. Clin. Microbiol.* 29: 680-688. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC269853/>.
- Signorini M.L., Zbrun M.V., Romero-Scharpen A., Olivero C., Bongiovanni F., Soto L.P., Frizzo L.S., Rosmini M.R. 2013. Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis by consumption of salad cross-contaminated with thermophilic *Campylobacter* spp. from broiler meat in Argentina. *Prev. Vet. Med.* 109: 37-46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.09.011>.
- Smith J.L., Fratamico P.M. 2010. Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter*. *J. Food Prot.* 73: 1141-52. doi:10.4315/0362-028x-73.6.1141.
- Terzolo H.R., Lawson G.H.K., Angus K.W., Snodgrass D.R. 1987. Enteric *Campylobacter* infection in gnotobiotic calves and lambs. *Res Vet Sci.* 43: 72-7.
- Torralbo A., Borge C., García-Bocanegra I., Méric G., Perea A., Carbonero A. 2015. Higher resistance of *Campylobacter coli* compared to *Campylobacter jejuni* at chicken slaughterhouse. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 39: 47-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2015.02.003>.
- Vandamme P., Van Doorn L.J., Rashid S.T.A., Quint W.G.V., Plas J.V.D., Chan V.L., On S.L.W. 1997. *Campylobacter hyoilei* Alderton et al. 1995 and *Campylobacter coli* Veron and Chatelain 1973 are subjective synonyms. *Int. J. Sys. Bacteriol.* 47: 1055-1060.
- WHO. 2001. The increasing incidence of human campylobacteriosis. Report and proceedings of a WHO consultation of experts, Copenhagen, Denmark, 21–25.
- WHO. 2012. The global view of Campylobacteriosis. Report of Expert Consultation. Utrecht, Netherlands. [www.who.int/iris/bitstream/10665/80751/1/9789241564601\\_eng.pdf](http://www.who.int/iris/bitstream/10665/80751/1/9789241564601_eng.pdf).
- WHO. 2017. Guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals. Recuperado el 14/11/2019 de <https://apps.who.int/iris/handle/10665/258970>.
- Wieczorek K., Osek J. 2013. Antimicrobial resistance mechanisms among *Campylobacter*. *Biomed. Res. Int.* 1-12. <https://doi.org/10.1155/2013/340605>.
- Zbrun M.V., Olivero C., Romero-Scharpen A., Rössler E., Soto L.P., Astesana D.M., Blajman J.E., Berisvil A., Signorini M.L., Frizzo L.S. 2015. Antimicrobial resistance in thermotolerant *Campylobacter* isolated from different stages of the poultry meat supply chain in Argentina. *Food Control* 57: 136-141. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.045>