

Comunicación breve

Prevalencia de especies zoonóticas de *Arcobacter* en cerdos a nivel de matadero en Ecuador

Rosa Janeth Simaluiza M¹  M.Sc; Jimmy Fernández C¹  Biochem-Pharm;
Heriberto Fernández J^{2*}  Ph.D.

¹Universidad Técnica Particular de Loja. Departamento de Ciencias de la Salud, Sección de Genética Humana, Microbiología y Bioquímica Clínica, San Cayetano Alto, Loja, Ecuador.

²Universidad Austral de Chile Instituto de Microbiología Clínica, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile.

*Correspondencia: hfernand@uach.cl

Recibido: Agosto 2019; Aceptado: Mayo 2020; Publicado: Junio 2020.

RESUMEN

Objetivo. Se pretende determinar la prevalencia, la diversidad y la resistencia antimicrobiana de las cuatro especies zoonóticas de *Arcobacter* en cerdos sanos, a nivel de matadero. **Materiales y métodos.** Fueron recolectadas, mediante muestreo no probabilístico por conveniencia, 50 muestras fecales obtenidas por hisopado rectal de cerdos sanos a nivel de matadero, antes de su faenamiento. El aislamiento de las cepas de *Arcobacter* fue realizado por métodos microbiológicos, utilizando enriquecimiento selectivo en caldo y filtración pasiva, mientras que para la identificación de especie fueron utilizadas pruebas bioquímicas y moleculares (multiplex PCR). El comportamiento frente a los antimicrobianos fue determinado por el método de disco difusión. **Resultados.** Fueron aisladas las cuatro especies zoonóticas, las cuales presentaron las siguientes frecuencias de aislamiento: *A. thereius* (18.0%), *A. skirrowii* (18.0%), *A. cryaerophilus* (6.0%) y *A. butzleri* (2.0%). Se encontró alta frecuencia de resistencia a ciprofloxacina y en las cuatro especies fueron aisladas cepas multirresistentes (resistentes a más de tres antibióticos).

Palabras clave: Antibiótico resistencia; epidemiología; reservorio; zoonosis (*Fuente: DeCS*).

ABSTRACT

Objective. To establish the prevalence, diversity and antimicrobial resistance of the zoonotic species of *Arcobacter* in healthy pigs at slaughterhouse level. **Material and methods.** Fifty fecal samples were taken by rectal swabs from healthy pigs, before the beginning of the slaughter at the slaughterhouse of Loja city, Southern Ecuador. Sampling was done by means of a non-probabilistic method for convenience. Isolation of *Arcobacter* strains was done by microbiological methods and species identification using biochemical and molecular (multiplex PCR) tests. Antimicrobial behavior was performed using the disk diffusion method. **Results.** The four zoonotic species of *Arcobacter* were found. The isolation rates were *A. thereius* (18.0%), *A. skirrowii* (18.0%), *A. cryaerophilus* (6.0%) and *A. butzleri* (2.0%). High resistance to ciprofloxacin was found and multi-resistant strains were isolated from these four species. **Conclusions.** The fecal carriage of the zoonotic species of *Arcobacter* was demonstrated in pigs at slaughterhouse level. These species showed high resistance to ciprofloxacin being isolated multi-resistant strains among these four species.

Keywords: Antimicrobial drug resistance, epidemiology, reservoir, zoonoses (*Source: DeCS*).

Como citar (Vancouver).

Simaluiza MR, Fernández CJ, Fernández JH. Prevalencia de especies zoonóticas de *Arcobacter* en cerdos a nivel de matadero en Ecuador. Rev MVZ Córdoba. 2020; 25(2):e1798. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1798>



©El (los) autor (es), Revista MVZ Córdoba 2020. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>), que permite a otros distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de modo no comercial, siempre y cuando den crédito y licencien sus nuevas creaciones bajo las mismas condiciones.

INTRODUCCIÓN

Los primeros aislamientos de especies de *Arcobacter* fueron hechos a partir de fetos bovinos en 1997 y 1978, siendo descritos inicialmente como *Vibrio/Spirillum*. Más tarde fueron conocidos como microorganismos semejantes a *Campylobacter* y, finalmente, clasificados en el género *Arcobacter* en 1991 (1,2).

A través de los años, el género *Arcobacter* ha experimentado una gran expansión, estando constituido actualmente por 27 especies. De ellas, 11 especies han sido aisladas de muestras ambientales, siete de mariscos o moluscos y nueve de animales o alimentos de origen animal (4). Dentro de estas nueve últimas especies, solamente cuatro -*A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii* y *A. thereius*- son consideradas bacterias zoonóticas emergentes y de transmisión alimentaria, capaces de producir diarrea y otros procesos infecciosos en seres humanos (2,3,4).

Estas cuatro especies de *Arcobacter* han sido reportadas produciendo aborto, mastitis y diarrea en mamíferos domésticos. Sin embargo, han sido aisladas frecuentemente de materia fecal de animales sanos, los cuales pueden ser reservorios y fuentes de contaminación de estas bacterias para el hombre y el medio ambiente (1,5,6). De entre los animales utilizados para producir alimentos para consumo humano, los cerdos son un reservorio importante de diferentes especies de *Arcobacter* y fuente de contaminación para la carne de consumo (1,5,6,7,8).

Considerando que, en América Latina, particularmente en Ecuador, la información disponible sobre *Arcobacter* en cerdos es limitada y que una proporción significativa de la población ecuatoriana consume carne de cerdo con frecuencia (9), el objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia, la diversidad y el comportamiento antimicrobiano de las especies de *Arcobacter* spp. aisladas de materia fecal obtenida de cerdos sanos a nivel de matadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aspectos éticos. La ejecución de este estudio fue aprobada por el Comité de Ética de la Universidad Técnica Particular de Loja y la toma de muestras fecales fue realizada por un médico veterinario, respetando el bienestar animal.

Recolección de muestras. Fueron tomados aleatoriamente (muestreo no probabilístico por conveniencia), mediante hisopado rectal, 50 muestras fecales a partir de cerdos sanos, antes del comienzo de la faena de matanza en el matadero de la ciudad de Loja (sur de Ecuador).

Métodos de laboratorio. Para el aislamiento de *Arcobacter* spp., cada muestra fue sembrada en caldo de enriquecimiento CAT (cefoperazona, anfotericina B y teicoplanina) e incubada a 30°C durante 72 h en aerobiosis (10). Luego, alícuotas de 200 µL de cada caldo de enriquecimiento fueron sometidas a filtración pasiva a través de membranas filtrantes estériles de 0,45 µm de poro, sobre placas de agar sangre. Después de 30 min, los filtros fueron retirados asepticamente y las placas fueron incubadas bajo las mismas condiciones descritas anteriormente (6,10). Los aislamientos fueron identificados preliminarmente por sus características fenotípicas [bacilos Gram negativos curvos, móviles, oxidasa y catalasa positivos] (6). La identificación de especie fue realizada mediante la prueba multiplex PCR (mPCR) descrita por Doudah *et al*, la cual caracteriza las cinco especies de *Arcobacter* asociadas más frecuentemente al ser humano y animales [*A. butzleri*, *A. cibarius*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii* y *A. thereius*] (11).

Considerando que los puntos de corte específicos para definir la resistencia en *Arcobacter* no están disponibles, la resistencia a los cinco antibióticos estudiados (ciprofloxacina, eritromicina, gentamicina, amoxicilina y tetraciclina) fue evaluada utilizando el método de difusión en disco recomendado para *Campylobacter* por EUCAST (12).

RESULTADOS

De las 50 muestras fecales de cerdo estudiadas, 20 (40%) fueron positivas, siendo identificadas las cuatro especies zoonóticas de *Arcobacter*. En dos de las muestras positivas fueron aisladas simultáneamente dos especies de *Arcobacter* (*A. butzleri* + *A. thereius* y *A. skirrowii* + *A. thereius*). En cada una de las 18 muestras restantes fue aislada solo una especie de *Arcobacter*. Las especies aisladas en estas muestras fueron *A. butzleri* (2.0%), *A. cryaerophilus* (6.0%), *A. skirrowii* (18.0%) y *A. thereius* (18.0%).

Como se muestra en la tabla 1, fue encontrada resistencia a la ciprofloxacina y la tetraciclina en las cuatro especies aisladas, siendo la resistencia a ciprofloxacina la de mayor frecuencia.

Tabla 1. Ocurrencia, diversidad y resistencia antimicrobiana de especies de *Arcobacter* en muestras fecales de cerdos (50) a nivel de matadero.

Especies	Nº. de aislamientos	%	Resistencia Antimicrobiana				
			Cipro	Eritro	Genta	Ampi	Tetra
<i>A. butzleri</i>	3*	6.0	1/3 ^a	0/3	1/3	3/3	1/3
<i>A. cryaerophilus</i>	1	2.0	1/1	0/1	1/1	0/1	1/1
<i>A. skirrowii</i>	9*	18.0	3/9	0/9	0/9	1/9	1/9
<i>A. thereius</i>	9	18.0	6/9	1/9	0/11	2/9	2/9

*Una cepa de *A. butzleri* y una de *A. skirrowii* fueron aisladas simultáneamente con *A. thereius*

^a N° de cepas resistentes /N° de cepas estudiadas

Cipro= ciprofloxacina; Eritro= eritromicina; Genta= gentamicina; Ampic= ampicilina; Tetra= tetraciclina

Una cepa de cada una de las cuatro especies aisladas (*A. butzleri*, *A. cryaerophilus*, *A. skirrowii* y *A. thereius*) mostró multiresistencia. No fueron aisladas cepas resistentes para i) eritromicina en *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* y *A. skirrowii*; ii) gentamicina en *A. skirrowii* y *A. thereius* y iii) para ampicilina en *A. cryaerophilus*.

DISCUSIÓN

La prevalencia de especies de *Arcobacter* en cerdos que ha sido informada en diferentes países fluctúa entre 4,0% en Brasil (8) y 59.3% en Chile (6), aunque datos de prevalencias intermedias han sido comunicadas en Bélgica (11.3-50%), Perú (29.2%) e India (23.3%) (13,14,15). La frecuencia de aislamiento verificada en nuestro trabajo parece ser relativamente alta, aunque cae dentro de los rangos descrito en la literatura. Estos datos sugieren que el cerdo debe ser considerado un reservorio significativo de *Arcobacter* spp. en diferentes latitudes.

Concordando con los hallazgos de Smet *et al.* en cuatro granjas porcinas de Bélgica (13), también aislamos las cuatro especies zoonóticas de *Arcobacter*. Sin embargo, otros autores aislaron principalmente *A. butzleri*, *A. skirrowii* y *A. cryaerophilus*, lo cual podría deberse a que los métodos moleculares que utilizaron no cubren la identificación de todas las especies zoonóticas (6,8,15). Incluso, en algunos trabajos, solo han sido utilizados métodos fenotípicos como lo fue en la experiencia peruana (14). Estas diferencias dejan de manifiesto la falta de métodos estandarizados, universalmente aceptados, tanto para aislar como para identificar con precisión las diferentes especies de *Arcobacter*.

A. butzleri es la especie que se encuentra con mayor frecuencia en muestras clínicas,

ambientales y animales (1). Sin embargo, en este estudio, *A. thereius* y *A. skirrowii* fueron las más frecuentes (18% cada una), seguidas por *A. cryaerophilus* (6%) y *A. butzleri* (2%). Tasas de aislamiento más bajas de *A. skirrowii* han sido reportadas (1,14) pero, Ho *et al* (7) y de Smet *et al* (13) han informado frecuencias más altas de esta bacteria (7,13). Por otra parte, Ho *et al* (7) demostraron que la transmisión de *Arcobacter* spp. de las cerdas a sus crías pueden ser tanto por vía vertical como horizontal, ocurriendo esto último a través de fuentes ambientales (7). *A. thereius* fue aislado originalmente de cerdos y de patos (16) y con relativa frecuencia de muestras fecales de cerdos sanos y también de algunos pacientes hospitalizados con enteritis (4,16). Actualmente, estas cuatro especies son consideradas agentes zoonóticos emergentes transmitidos por los alimentos que tienen a los cerdos como uno de sus principales reservorios (4,5). Otras especies del género como *A. throphiarum*, *A. suis* y *A. lanthieri* han sido aisladas de cerdos (17). Recientemente, Figueras *et al.* describieron la nueva especie *A. porcinus*, estrechamente relacionada con *A. thereius* (18). Sin embargo, hasta ahora, ninguna de estas especies, excepto *A. thereius*, ha demostrado ser zoonótica. Teniendo en cuenta que los cerdos son reservorios de especies de *Arcobacter* que aún no han sido descritas como zoonóticas, los microbiólogos clínicos deben estar conscientes de la posibilidad de que algunas de ellas puedan infectar a seres humanos. Por lo tanto, deben estar preparados para poder identificarlas correctamente.

Con respecto al comportamiento frente a los antimicrobianos, se encontró resistencia a ciprofloxacina y a tetraciclina en las cuatro especies aisladas, llamando la atención la alta resistencia a la ciprofloxacina diagnosticada en *A. thereius* (6/9) y en *A. skirrowii* (3/9).

No se observó resistencia a eritromicina en *A. butzleri*, *A. cryaerophilus* y *A. skirrowii*; a gentamicina en *A. skirrowii* y *A. thereius* y ampicilina en *A. cryaerophilus*. Se encontraron cepas multirresistentes, una cepa en cada una de las cuatro especies aisladas. La resistencia a ciprofloxacina y a otros antibióticos, así como la resistencia múltiple, han sido informado anteriormente (19). El pequeño número de cepas estudiadas no nos permite proponer conclusiones sólidas, pero señala la necesidad de realizar estudios de largo plazo para definir la situación epidemiológica de *Arcobacter* y su comportamiento antimicrobiano en Ecuador.

Los resultados obtenidos demuestran que los cerdos, a nivel de matadero en Ecuador, podrían ser reservorios de las cuatro especies zoonóticas

de *Arcobacter*, las que pueden mostrar resistencia a varios antibióticos, destacándose la resistencia a ciprofloxacina como también el aislamiento de cepas multirresistentes. Se necesitan estudios adicionales de largo alcance para proporcionar información sobre la situación epidemiológica de *Arcobacter* y su comportamiento antimicrobiano en Ecuador.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Agradecimientos

Soporte financiero: Proyecto PROY_CCSAL_1283, Universidad Técnica Particular de Loja.

REFERENCIAS

1. Collado L, Figueras M. Taxonomy, epidemiology, and clinical relevance of the genus *Arcobacter*. Clin Microbiol Rev. 2011; 24(1):174-1792. <https://doi.org/10.1128/CMR.00034-10>
2. Pérez-Cataluña A, Salas-Massó N, Diéguez AL, Balboa S, Lema A, Romalde JL, Figueras MJ. Revisiting the taxonomy of the genus *Arcobacter*: getting order from the chaos. Front Microbiol. 2018; 9: 2077. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02077>
3. Vandenberg O, Dediste A, Houf K, Ibekwem S, Souayah H, Cadranel S, Douat N, Zissis G, Butzler JP, Vandamme P. *Arcobacter* species in humans. Emerg Infect Dis. 2004; 10(10):1863-1867. <https://doi.org/10.3201/eid1010.040241>
4. van den Abeele A, Vogelaers D, van Hende J, Houf K. Prevalence of *Arcobacter* species among humans, Belgium, 2008-2013. Emerg Infect Dis. 2014; 20(10):1731-1734. <https://doi.org/10.3201/eid2010.140433>
5. Ferreira S, Oleastro M, Domingues F. *Arcobacter* spp. in food chain-from culture to omics. In: Singh OV, ed. Foodborne Pathogens and Antibiotic Resistance. New Jersey: Wiley-Blackwell; 2017. <https://books.google.cl/books?isbn=1351863487>
6. Fernandez H, Villanueva MP, Mansilla I, Gonzalez M1, Latif F, *Arcobacter butzleri* and *A. cryaerophilus* in human, animals and food sources, in southern Chile. Braz J Microbiol. 2015; 46(1):145-147. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246120140095>
7. Ho TKH, Lipman LJA, van der Graaf-van Bloois L, van Bergen M, Gaastra W. Potential routes of acquisition of *Arcobacter* species by piglets. Vet Microbiol. 2006; 114(1-2):123-133. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.051>
8. Gobbi DDS, Spindola MG, Moreno LZ, Carlos Matajira EC, Oliveira MGX, Paixão R, Ferreira TSP, Moreno AM. Isolation and molecular characterization of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* from the pork production chain in Brazil. Pesq Vet Bras. 2018; 38(3):393-399. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-4709>

9. Rivadeneira RT, Montesdeoca RR, Guevara RV, del Toro A, Curbelo LM, Guevara GE, Torres CS, Roca AJ. Market Study of Meat Processing Industry in Manabí, Ecuador. *Rev Prod Anim.* 2017; 29(2):25-31. <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/2101>
10. Collado L, Gutiérrez M, González M, Fernández H. Assessment of the prevalence and diversity of emergent campylobacteria in human stool samples using a combination of traditional and molecular methods. *Diag Microbiol Infect Dis.* 2013; 75(4):434-436. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.12.006>
11. Doudah L, De Zutter L, Vandamme P, Houf K. Identification of five human and mammal associated *Arcobacter* species by a novel multiplex-PCR assay. *J Microbiol Methods.* 2010; 80(3):281-286. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.01.009>
12. Sifré E, Salha BA, Ducournau A, Floch P, Chardon H, Mégraud F, Lehours P. EUCAST recommendations for antimicrobial susceptibility testing applied to the three main *Campylobacter* species isolated in humans. *J Microbiol Methods.* 2015; 119:206-213. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.10.018>
13. De Smet S, De Zutter L, Debruyne L, Vangroenweghe F, Vandamme P, Houf K. *Arcobacter* population dynamics in pigs on farrow-to-finish farms. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77(5):1732-1738. <https://doi.org/10.1128/AEM.02409-10>
14. Zerpa R, Alarcón J, Lezama P, Patiño L, Reyes A, Valencia A, Velásquez J, Sevilla C, Alarcón M. Identification of *Arcobacter* in children and adult feces with/without diarrhea, and in animal reservoirs. *An Fac Med.* 2014; 75 2):185-187. <https://doi.org/10.15381/anales.v75i2.8389>
15. Soma Sekhar M, Tumati SR, Chinnam BK, Kothapalli VS, Mohammad Sharif N. Occurrence of *Arcobacter* species in animal faeces, foods of animal origin and humans in Andhra Pradesh, India. *Indian J Anim Res.* 2018; 52:1649-1653. <https://doi.org/10.18805/ijar.B-3402>
16. Houf K, On SL, Coenye T, Debruyne L, De Smet S, Vandamme P. *Arcobacter thereius* sp. nov., isolated from pigs and ducks. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2009; 59(10):2599-2604. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.006650-0>
17. Whiteduck-Léveillé K, Whiteduck-Léveillé J, Cloutier M, Tambong JT, Xu R, Topp E, Arts MT, Chao J, Adam Z, André Lévesque C, Lapen DR, Villemur R, Talbot G, Khan IU. *Arcobacter lanthieri* sp. nov., isolated from pig and dairy cattle manure. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015; 65(8):2709-2716. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000318>
18. Figueras MJ, Pérez-Cataluña A, Salas-Massó N, Levican A, Collado L. *Arcobacter porcinus* sp. nov., a novel *Arcobacter* species uncovered by *Arcobacter thereius*. *New Microbes New Infect.* 2017; 15:104-106. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2016.11.014>
19. Vicente-Martins S, Oleastro M, Domingues FC, Ferreira S. *Arcobacter* spp. at retail food from Portugal: Prevalence, genotyping and antibiotics resistance. *Food Control.* 2018; 85:107-112. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.09.024>