



**FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER MEDIANTE  
METODOLOGÍA COMBINADA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL  
NIÑO, LIMA-PERÚ 2023

**Línea de investigación**

**Microbiología y Parasitología**

Tesis para optar el Título de Segunda Especialidad en Microbiología

**Autor**

Rojas León, Roberto Eugenio

**Asesor**

Bejarano Benites, Héctor Fidel

Código ORCID 0000-0003-2047-4425

**Jurado**

Garay Bambarén, Juana Amparo

Rivas Cárdenas, Arturo Alexander

Calderón Cumpa, Luis Yuri

**Lima - Perú**

**2025**



# "AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER MEDIANTE METODOLOGÍA COMBINADA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO, LIMA-PERÚ 2023"

## INFORME DE ORIGINALIDAD

24%

INDICE DE SIMILITUD

23%

FUENTES DE INTERNET

6%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	4%
2	<a href="https://cdn.www.gob.pe">cdn.www.gob.pe</a> Fuente de Internet	2%
3	<a href="https://vlex.com.pe">vlex.com.pe</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="https://medicina.unmsm.edu.pe">medicina.unmsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="https://repositorio.unfv.edu.pe">repositorio.unfv.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="https://1library.co">1library.co</a> Fuente de Internet	1%
7	<a href="https://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Fuente de Internet	1%
8	<a href="https://patents.google.com">patents.google.com</a> Fuente de Internet	1%



Universidad Nacional  
**Federico Villarreal**

**VRIN** | VICERRECTORADO  
DE INVESTIGACIÓN

## **FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER MEDIANTE METODOLOGÍA  
COMBINADA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD DEL NIÑO, LIMA-PERÚ**

2023

**Línea de investigación:**

**Microbiología y Parasitología**

Tesis para optar el Título de Segunda Especialidad en Microbiología

**Autor**

**Rojas León, Roberto Eugenio**

**Asesor**

**Bejarano Benites, Héctor Fidel**

**(ORCID: 0000-0003-2047-4425)**

**Jurado**

**Garay Bambarén, Juana Amparo**

**Rivas Cárdenas, Arturo Alexander**

**Calderón Cumpa, Luis Yuri**

Lima – Perú

2025

**DEDICATORIA**

A Dios porque aún sin verte percibí que siempre  
estabas a nuestro lado.

A mis padres fuente inagotable de amor, ejemplo y  
apoyo.

A mi esposa e hijos por su amor y ser el acicate de  
mis esfuerzos.

A mis hermanos por ser la alegría de nuestros  
encuentros familiares

A mi primo Carlos por su apoyo incondicional.

Y gracias a la vida.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>7</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>8</b>
<i>1.1. Descripción y formulación del problema .....</i>	<i>8</i>
<i>1.2. Antecedentes.....</i>	<i>18</i>
<i>1.3. Objetivos.....</i>	<i>26</i>
<i>1.4. Justificación .....</i>	<i>26</i>
<i>1.5. Hipótesis.....</i>	<i>27</i>
<b>II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>28</b>
<i>2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....</i>	<i>28</i>
<b>III. MÉTODO .....</b>	<b>36</b>
<i>3.1. Tipo de investigación .....</i>	<i>36</i>
<i>3.2. Ámbito temporal y espacial .....</i>	<i>36</i>
<i>3.3. Variables .....</i>	<i>36</i>
<i>3.4. Población y muestra.....</i>	<i>37</i>
<i>3.5. Instrumentos.....</i>	<i>37</i>
<i>3.6. Procedimientos.....</i>	<i>38</i>
<i>3.7. Análisis de datos .....</i>	<i>40</i>
<i>3.8. Consideraciones éticas .....</i>	<i>41</i>
<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>42</b>
<b>V. DISCUSION DE RESULTADOS .....</b>	<b>45</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>VIII. REFERENCIAS .....</b>	<b>50</b>
<b>IX. ANEXOS.....</b>	<b>58</b>

<i>ANEXO A. Matriz de consistencia .....</i>	<i>58</i>
<i>ANEXO B. Operacionalización de variables.....</i>	<i>59</i>
<i>ANEXO C. Ficha de recolección de datos .....</i>	<i>60</i>
<i>ANEXO D. Oficio de aprobación de proyecto de investigación.....</i>	<i>61</i>

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. <i>Distribución de los patógenos entéricos y especies de Campylobacter aislados mediante metodología combinada</i> .....	24
Tabla 2. <i>Distribución de las especies de Campylobacter aislados</i> .....	28
Tabla 3. <i>Distribución de las especies de Campylobacter según grupos de edad aislados</i> ...	29

## RESUMEN

**Objetivo:** Aislar especies de *Campylobacter* en muestras de heces de niños con diarrea, mediante metodología combinada, en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño, 2023. **Método:** El estudio es de tipo cuantitativo, prospectivo, de diseño observacional, descriptivo, transversal. El Instrumento empleado fue una Ficha de Recolección de Datos y se evaluó mediante programas estadísticos. **Resultados:** Se procesaron 290 muestras de heces de niños con diarrea, las que fueron cultivadas con medio selectivo y con metodología combinada para el aislamiento de especies de *Campylobacter*. Se aislaron 11 especies de *Campylobacter*, representando el 35% de los patógenos entéricos. La metodología combinada propuesta alcanza una sensibilidad del 91% y una especificidad del 100%. También se evaluó la tinción Gram interrumpido-Vago para la detección microscópica de *Campylobacter*, alcanzando una sensibilidad del 64% y una especificidad del 97%. **Conclusiones:** El uso de la metodología combinada presenta buena performance para el aislamiento de especies de *Campylobacter*, permitiendo obtener mayor número de colonias aisladas que pueden satisfacer el realizar pruebas de identificación y susceptibilidad, sin necesidad de reaislamientos posteriores con el consiguiente retraso de los resultados de laboratorio.

*Palabras clave:* *Campylobacter*, método de cultivo, método de filtración

## ABSTRACT

**Objective:** To isolate *Campylobacter* species in stool samples from children with diarrhea, using a combined methodology, in the Microbiology Laboratory of the National Institute of Child Health, 2023. **Method:** The study is quantitative, prospective, observational, descriptive, and cross-sectional. The instrument used was a Data Collection Sheet and it was evaluated using statistical programs. **Results:** 290 stool samples from children with diarrhea were processed, which were cultured with selective medium and with a combined methodology for the isolation of *Campylobacter* species. 11 species of *Campylobacter* were isolated, representing 35% of enteric pathogens. The proposed combined methodology reaches a sensitivity of 91% and a specificity of 100%. The interrupted Gram-Vague stain was also evaluated for the microscopic detection of *Campylobacter*, reaching a sensitivity of 64% and a specificity of 97%. **Conclusions:** The use of the combined methodology presents good performance for the isolation of *Campylobacter* species, allowing obtaining a greater number of isolated colonies that can satisfy the identification and susceptibility tests, without the need for subsequent reisolations with the consequent delay in laboratory results.

*Keywords: Campylobacter, culture method, filtration method*

## I. INTRODUCCIÓN

*Campylobacter*, un patógeno transmitido por los alimentos, es una de las principales causas de gastroenteritis humana y representa aproximadamente 96 millones de casos anuales en todo el mundo. En países industrializados afectan a niños y adultos, mientras que, en los países en desarrollo, la enteritis por *Campylobacter* es casi exclusivamente una enfermedad pediátrica, siendo frecuente en menores de 5 años. Para el aislamiento de especies de *Campylobacter* a partir de muestras de heces, en la actualidad se utilizan métodos tradicionales, los cuales son lentos y laboriosos, y requieren una incubación prolongada a 42 °C en una atmósfera microaerófila, y el uso de medios de cultivo con suplemento antibiótico, generalmente costosos. Se han descrito varios medios de cultivo para el aislamiento selectivo de *Campylobacter*, la mayoría de ellos contienen sangre y antibióticos. Por desgracia, algunas cepas de *Campylobacter* son sensibles a algunos de los antibióticos incorporados en los medios de cultivo, estas cepas por lo general son distintas de *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari*. Siendo *Campylobacter* el principal agente de diarrea en niños, es importante su aislamiento e identificación, la cual continúa siendo aún bastante problemática, sumado a la gran variabilidad de factores involucrados en su aislamiento, por lo que, se hacen necesarios la implementación de metodologías, que aseguren revertir este escenario. Estas razones nos llevaron a investigar y proponer, una metodología combinada libre de antibióticos, simple y de bajo costo, para el aislamiento de especies de *Campylobacter*, a partir de muestras de heces de niños atendidos en el Instituto Nacional de Salud del Niño Breña, periodo de enero a marzo del 2023.

### 1.1 Descripción y formulación del problema.

#### 1.1.1. Descripción del problema

Según la Organización Mundial de la Salud, los productos alimenticios inseguros causan 600 millones de casos de enfermedades transmitidas por alimentos y 420.000 muertes al año, especialmente en niños y ancianos. (Backert, 2021).

*Campylobacter*, un patógeno transmitido por los alimentos, es una de las principales causas de gastroenteritis humana y representa aproximadamente 96 millones de casos anuales en todo el mundo. (Asuming-Bediako et al., 2019; Kaakoush et al., 2015)

El género *Campylobacter* comprende 33 especies. Estas son bacterias Gram-negativas, microaerófilas, móviles, curvas o en forma de espiral. La campilobacteriosis es una de las principales gastroenteritis de origen bacteriano transmitidas por los alimentos. El curso de la enfermedad, generalmente autolimitado, se caracteriza por náuseas, fiebre, calambres abdominales, diarrea acuosa a sanguinolenta y vómitos. En casos graves, la campilobacteriosis se asocia con complicaciones posinfecciosas graves, como daño del sistema nervioso periférico, síndrome de Miller Fisher, síndrome de Guillain-Barré, y artritis reactiva. (Strakova et al., 2021; Chlebicz y Śliżewska, 2018; Burnham y Hendrixson, 2018)

Normalmente las especies de *Campylobacter* se transportan en el tracto intestinal de muchos animales domésticos, como aves de corral, bovino, ovino, caprino, porcino, así como animales salvajes y aves, siendo las heces de estos animales una fuente importante de contaminación. Los seres humanos se infectan por la ingesta de carne poco cocida, o por la manipulación de productos crudos o por la contaminación cruzada de alimentos crudos con alimentos cocidos, por nadar en aguas naturales, por el contacto directo con animales o cadáveres de animales contaminados y por viajar. Las especies patógenas de *Campylobacter* implicadas en infecciones en humanos incluyen, *C. jejuni*, *C. concisus*, *C. rectus*, *C. hyointestinalis*, *C. insulaenigrae*, *C. sputorum*, *C. helveticus*, *C. lari*, *C. fetus*, *C. mucosalis*, *C. coli*, *C. upsaliensis* y *C. ureolyticus*. Siendo, *C. jejuni* y *C. coli* las especies más comúnmente

reportadas en humanos, y se reconocen como los agentes causales más comunes de gastroenteritis bacteriana en el mundo. El uso, abuso y mal uso de antimicrobianos en animales destinados al consumo, sobre todo en países en desarrollo, ha dado lugar a la aparición y diseminación de bacterias resistentes a los antimicrobianos, *Campylobacter* no escapa a esta realidad generando un impacto potencialmente grave en la inocuidad de los alimentos tanto en la salud animal como humana. (Hagos et al., 2021; García-Sánchez et al., 2018; Kuhn et al., 2018; Schreyer et al., 2022)

En Europa, desde 2005, las especies de *Campylobacter* son el patógeno entérico más frecuente informado al Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades, con 71 casos por 100 000 en 2014. Sin embargo, las tasas de incidencia varían mucho entre países. La incidencia de las infecciones por *Campylobacter spp.* probablemente se subestima, debido a la falta de un enfoque sistemático en los métodos de aislamiento y el reporte no sistemático de los casos diagnosticados. (Tilmanne et al., 2019)

Solo en los EE. UU., se estimó que las enfermedades causadas por *Campylobacter* en humanos le cuestan al gobierno americano una carga de hasta \$6200 millones al año. También se reportó que *Campylobacter* causa enfermedad diarreica con una frecuencia de 2 a 7 veces mayor que las especies patógenas de *Salmonella*, *Escherichia* o *Shigella*, dicho panorama no dista mucho de otras naciones desarrolladas. (Backert, 2021)

En Alemania, por ejemplo, los informes estadísticos anuales del Instituto Robert Koch indican que la incidencia de casos de *Campylobacter* notificados, constituyó el 45 y el 77 % de todas las infecciones bacterianas intestinales notificadas en 2006 y 2019, respectivamente. Sin embargo, se estimó que es probable que el número real de casos de campilobacteriosis en Alemania y otros países sea mucho mayor y supere en más de cuatro veces las estadísticas

publicadas. Por lo tanto, las infecciones por *Campylobacter* causan una alta carga socioeconómica. (Backert, 2021)

Moffatt et al. (2020) estudian las características de los brotes de gastroenteritis por *Campylobacter* del 2001 a 2016. De los 84 brotes por *Campylobacter*, 51 (61 %) se clasificaron como transmitidos por alimentos. Se identificaron vehículos alimentarios específicos para 33 (65 %) de los brotes, con 28 (85 %) relacionados con pollo o platos que contenían pollo.

En Australia, Moffatt et al. (2021) analizaron los datos de un hospital de nivel provincial para identificar las hospitalizaciones asociadas a *Campylobacter* entre 2004 y 2013. Ellos encontraron un total de 685 admisiones hospitalarias asociadas a *Campylobacter*. La tasa media anual de hospitalización fue del 13,6%. Las tasas de hospitalización fueron más altas para las mujeres en la mayoría de los grupos de edad, mientras que para ambos sexos se observaron aumentos marcados para los mayores de 60 años. La mediana de edad de ingreso fue de 39,5 años, con una estancia media de 3,5 días. Las comorbilidades estuvieron presentes en el 34,5 % (237/685) de los ingresos, siendo estos pacientes más propensos a desarrollar trastornos electrolíticos, hipotensión, insuficiencia renal o confusión aguda. Se observó bacteriemia y daño renal agudo en el 4,1% (28/685) y el 3,6% (23/685) de los ingresos, respectivamente. La mortalidad hospitalaria fue baja (0,15%).

En Shanghai, China, en un estudio de detección etiológica de diarrea en niños, desde enero de 2015 hasta diciembre de 2018, se encontró que, a partir de muestras fecales, se identificaron patógenos entéricos en 1572 (58,4%) de los 2692 niños estudiados con diarrea aguda. Los virus se detectaron con más frecuencia, 41,3%, que las bacterias, 25,0%. Rotavirus (16,0 %), norovirus (15,5 %) y *Salmonella spp.* no tifoidea (10,3 %), siendo los principales patógenos responsables de la diarrea en los niños de Shanghai, y para *Campylobacter spp.* (3,6%) relativamente bajo. (Chang et al., 2021)

En Sudáfrica, se encontró una prevalencia de 13.2% en infecciones por *Campylobacter* en niños menores de 2 años, y con mayor frecuencia en las heces diarreicas (20,4 %) en comparación con las no diarreicas (12,4 %). La prevalencia de *Campylobacter* aumentó con la edad de los niños hasta los 11 meses, después de lo cual la prevalencia disminuyó. (Samie et al., 2022)

En Guinea-Bissau, África oriental, en un estudio de prevalencia en niños menores de cinco años con y sin diarrea, se estudiaron muestras de heces mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR), encuentran que, de los 429 niños, 228 con y 201 sin diarrea, el 96,9% y el 93,5% tenían hallazgos de patógenos bacterianos, el 62,7% y el 44,3% virales, y el 52,6% y el 48,3% parasitarios, respectivamente. Estando *Campylobacter* presente en niños con diarrea, 53,2 %, frente a 51,8 % sin diarrea. Concluyendo que todos los patógenos investigados de las heces resultaron comunes en todos los niños independientemente de que tuvieran o no diarrea. (Mero et al., 2021)

En Nueva Zelanda, Oceanía, Jeffs et al., 2019, describen aspectos epidemiológicos de la gastroenteritis por *Campylobacter* en niños menores de 15 años, desde 1997 hasta 2016. De los 39.970 casos notificados, el 59,1% fueron del sexo masculino y se produjeron 1458 hospitalizaciones de los cuales el 61,8% fueron del sexo masculino. Antes de 2006, las tasas de notificación aumentaron un 3,4 % anual, con un pico de 340 notificaciones por cada 100 000 niños en 2003. De 2006 a 2008, las tasas de notificación y hospitalización cayeron un 25% y un 30%, respectivamente. Desde 2008, las tasas de incidencia estandarizadas por edad se han mantenido estables en 161 notificaciones, y 6,73 hospitalizaciones por cada 100 000 niños por año. Las tasas de notificación fueron más altas en niños de 1 a 4 años de edad y solo una pequeña proporción de casos necesitaron de hospitalización. (Jeffs et al., 2019)

En Irlanda, O'Connor et al. (2020) describen la epidemiología de *Campylobacter* y las tendencias a lo largo del tiempo. Los casos notificados de campilobacteriosis comprendieron de 2004-2016, por edad, sexo, área geográfica, temporada y tendencias a lo largo del tiempo. Hubo 27.034 casos de campilobacteriosis notificados. La incidencia anual bruta osciló entre 36,2 y 54,4 por 100.000 habitantes. La incidencia fue mayor en varones, menores de 5 años. En 2011, observaron un aumento escalonado en la incidencia bruta anual en general, en ambos sexos, todos los grupos de edad y la mayoría de las áreas geográficas.

Aunque las infecciones sintomáticas afectan a niños y adultos en países industrializados, en el mundo en los países en desarrollo, la enteritis por *Campylobacter* es casi exclusivamente una enfermedad pediátrica, inclusive nos atrevemos a asegurar el grupo etario más prevalente es menores de 5 años. (Sainato et al., 2018)

En México, Larrosa et al. (2010) reportan una prevalencia de algunos enteropatógenos en lactantes y preescolares con diarrea aguda. En un periodo de dos años evaluaron 5459 muestras de heces. *Cryptosporidium parvum* fue el parásito identificado con mayor frecuencia (5,1%), seguido de *Giardia lamblia* (1,2%). *Campylobacter jejuni* se aisló en 858 casos (15,7%) y fue el enteropatógeno más frecuente en general, encontrado en todos los meses del año con un ligero aumento en su frecuencia de mayo a agosto.

En Guatemala, Benoit et al. (2014) describen la epidemiología de las infecciones diarreicas por *Campylobacter*, confirmadas por laboratorio en dos centros de vigilancia, desde enero de 2008 hasta agosto de 2012. De 5137 muestras de heces recolectadas, se aisló 306 (6,0%) *Campylobacter*. En los niños menores de 5 años, la incidencia anual fue de 1288,8 por 100 000 niños en Santa Rosa y 185,5 por 100 000 niños en Quetzaltenango. Entre 224 pacientes de atención ambulatoria con *Campylobacter*, 169 (75,5 %) recibieron metronidazol o trimetoprim-sulfametoxazol, y 152 (66,7 %) recibieron o se les prescribió terapia de

rehidratación oral. Se probaron las susceptibilidades a los antimicrobianos en 96 aislamientos; 57 (59,4%) fueron resistentes a ciprofloxacino y 12 (12,5%) MDR (resistencia a  $\geq 3$  clases de antimicrobianos). Se logra apreciar que la resistencia a los antimicrobianos era alta y la rehidratación oral subóptima.

En Perú, Pollett et al. (2012) describen las tendencias en la prevalencia de los aislamientos de *C. jejuni* y *C. coli*, a partir de muestras de heces, resistentes a fluoroquinolonas y macrólidos en tres regiones de Perú, Lima, Iquitos y Cusco, durante un período de diez años, distribuidos en dos periodos, 2001-2005 y 2006-2010. Se analizó la susceptibilidad a ciprofloxacina, azitromicina y eritromicina en 4652 aislamientos; 3419 de Lima, 625 de Iquitos y 608 de Cuzco. Se encontró que la prevalencia de aislamientos de *C. jejuni* resistentes a ciprofloxacino aumentó en las áreas de estudio de Lima (73,1% a 89,8%) e Iquitos (24,1% a 48,9%). Las tasas de *C. coli* resistente a ciprofloxacino también aumentaron en Lima (48,1% a 87,4%) y Cusco (10,0% a 65,9%). Se observaron aumentos pequeños pero significativos en la prevalencia de *C. jejuni* resistente a la azitromicina y resistente a la eritromicina en Iquitos (2,2% a 14,9%; 3,2% a 14,9%) y las tasas de *C. coli* resistente a la eritromicina aumentó en Lima (0,0% a 5,3%). La prevalencia de aislados de *C. jejuni* resistentes tanto a la ciprofloxacina como a la azitromicina aumentó en Iquitos (0,3% a 14,9%) y Lima (0,3% a 1,6%), y la prevalencia de *C. jejuni* aislados resistentes tanto a ciprofloxacina como a eritromicina aumentaron en Iquitos (0,0% a 14,9%). La prevalencia de *C. coli* resistente a ciprofloxacina y eritromicina aumentó en Lima (0,0% a 5,3%). Estos datos encontrados sirven para el manejo empírico de la enterocolitis guiando el uso apropiado de antimicrobianos, así como para el estudio de la vigilancia de estos importantes agentes bacterianos en el Perú.

En Perú, Zerpa et al. (2004) en el Instituto Especializado de Salud del Niño, hoy Instituto Nacional de Salud del Niño – Breña, presentan una frecuencia de bacterias enteropatógenas aislados en coprocultivos de niños con enfermedad diarreica aguda (EDA).

Trabajaron 3401 muestras de heces frescas de niños atendidos por cuadros de EDA durante enero a julio de 2004. Para el estudio de las especies de *Campylobacter*, se usó la microscopía con la tinción de Vago y el aislamiento mediante el coprocultivo, utilizando filtros de 0,45  $\mu$ m de porosidad e incubados en microaerofilia por el método de la *Klebsiella*. De los 3401 coprocultivos se aisló 352 enteropatógenos. Del total de positivos, *Campylobacter lari* en 146 casos (41,5%), *C. jejuni/coli* en 48 casos (13,6%), *Shigella* en 143 casos (40,7%) y *Salmonella* en 15 casos (4,3%). No se investigó *E. coli* enteropatógenas. Del total de *Campylobacter*, 62 % correspondió a menores de 1 año, 26% de 1 a 4 años y 10% de 5 años a más, siendo 58% del sexo masculino y 42 % del sexo femenino. Los investigadores concluyen que *C. lari* resultó el enteropatógeno más frecuente en los coprocultivos en el período estudiado (41,5%); el grupo etario más afectado fue el de menores de un año (61%); la razón sexo masculino/ femenino fue 1,4.

Teniendo en cuenta todos estos hechos, podemos resumir que la campilobacteriosis es una enfermedad inflamatoria intestinal grave que afecta a la población humana mundial, y en especial en los países en desarrollo, las infecciones por *Campylobacter* son especialmente frecuentes en menores de 5 años, en los que a veces son mortales.

Para el aislamiento de especies de *Campylobacter* a partir de muestras de heces, en la actualidad se utilizan métodos tradicionales, los cuales son lentos y laboriosos, y requieren una incubación prolongada a 42 °C en una atmósfera microaerófila, y el uso de medios de cultivo con suplemento antibiótico, generalmente costosos. Se han descrito varios medios para el aislamiento selectivo de *Campylobacter* a partir de muestras humanas, en general, la mayoría de ellos contienen sangre y antibióticos. Pero todos los medios convencionales estándar recomendados para el aislamiento de *Campylobacter* incorporan antibióticos para lograr una tasa máxima de aislamiento. Por desgracia, algunas cepas de *Campylobacter* son sensibles a algunos de los antibióticos incorporados en los medios de cultivo, estas cepas por lo general

son distintas de *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari*. Aun así, los antimicrobianos, como cefalotina, colistina y polimixina B, también inhiben algunas cepas de *C. jejuni* y *C. coli*. (Baserisalehi et al., 2004)

Ante tan sombrío panorama respecto del aislamiento primario de las especies de *Campylobacter*, se recurren a otras variantes para el aislamiento selectivo de esta bacteria, uno de ellos es el método de filtración (MF) en agar sin antibióticos, con una incubación a una temperatura inferior, 37 °C. A veces se usa un paso de enriquecimiento inoculando la muestra en un caldo antes de colocar las heces en el filtro, este enriquecimiento previo en muestras de heces humanas, resultan innecesarias, siendo útil si en muestras con baja concentración de bacterias, como agua o alimentos. Para el MF se han utilizado diferentes tipos de agar, en su mayoría sin antibióticos. El agar Mueller-Hinton y el agar base Columbia sangre de carnero se han utilizado durante décadas, siendo el medio Columbia preferido para el crecimiento de especies de *Campylobacter*. Otro detalle respecto al MF es el material y tamaño de poro del filtro utilizado. Se sabe que los filtros de acetato de celulosa (AC) con un tamaño de poro de 0,65 µm, utilizados en el primer MF, tienen una mejor sensibilidad que los filtros de AC con un tamaño de poro de 0,45 µm, pero también aumentan la posibilidad de desarrollo de bacterias contaminantes. Nielsen et al. (2013) compararon filtros de policarbonato (PC), con un tamaño de poro de 0,6 µm y filtros de AC con un tamaño de poro de 0,65 µm, y encontraron que *C. concisus* significativamente se aislaba más, usando el filtro de PC con una menor contaminación con flora fecal comensal.

Otra innovación es la aportada por Baserisalehi et al. (2004), esta se basa en la centrifugación de las muestras, en este caso de aguas contaminadas, a 4500 g durante 10 min sedimentando la mayoría de las bacterias junto con *Campylobacter*. Pero luego de reposar las muestras por 10 minutos a temperatura ambiente, solo las bacterias móviles podrían migrar del

sedimento al sobrenadante, como *Campylobacter*, preciso momento en que se toma una asada de la superficie del sobrenadante para su aislamiento en medio selectivo.

Zerpa et al. (1984) en el Hospital del Niño, Lima Perú, describen un método biológico (variante del principio de Fortner) para el cultivo de *C. jejuni*. Se utilizó una cepa de *Klebsiella pneumoniae* para disminuir la tensión de oxígeno en una placa de Petri sellada herméticamente con un dispositivo de jebe especial, concluyendo que el método constituye otra alternativa simple y de bajo costo para el aislamiento de *C. jejuni*.

En Perú, el 2022 el Ministerio de Salud mediante la Resolución Ministerial N°830-2022/MINSA. Por la cual se aprueba la Directiva Sanitaria N° 146-MINSA/CDC-2022, “Directiva Sanitaria para la Vigilancia Epidemiológica de la EDA por *Campylobacter spp.* en hospitales centinelas”. Dicha norma tiene por finalidad Contribuir a disminuir la morbilidad por las EDA por *Campylobacter spp.* en la población del país, proponiéndose como objetivo general, el de implementar la vigilancia centinela laboratorial de las EDA, por *Campylobacter spp.* en hospitales centinelas. Entre sus objetivos específicos, cita la norma, están las de, Establecer el procedimiento estandarizado de la vigilancia epidemiológica centinela de EDA por *Campylobacter spp.* en los hospitales centinelas del Perú; detectar precozmente los casos de EDA por *Campylobacter spp.* y controlar la difusión de la enfermedad y establecer medidas de control de la difusión de la enfermedad, de prevención y evitar brotes en la población. Gracias a esta norma los laboratorios de microbiología de nuestros hospitales, deben garantizar la correcta conservación y procesamiento de las muestras provenientes de pacientes con sospecha de EDA por *Campylobacter spp.* (Resolución Ministerial N°830-2022/MINSA. Por la cual se aprueba la Directiva Sanitaria N° 146-MINSA/CDC-2022, “Directiva Sanitaria para la Vigilancia Epidemiológica de la EDA por *Campylobacter spp.* en hospitales centinelas” (14 de octubre del 2022). Normas legales N° 16861. Diario Oficial El Peruano., s. f.)

### **1.1.2. Formulación del problema general**

- ¿Se podrán aislar las especies de *Campylobacter* en muestras de heces de niños con diarrea, mediante metodología combinada atendidos en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023?

### **1.1.3. Formulación de los problemas específicos**

- ¿Se podrán determinar la sensibilidad y especificidad de la metodología combinada para la detección de especies de *Campylobacter* en muestras de heces?
- ¿Se podrán determinar la sensibilidad y especificidad de la coloración Vago para la detección microscópica de *Campylobacter* en muestras de heces?
- ¿Se podrá determinar la frecuencia de las diferentes especies de *Campylobacter* en las muestras de heces de niños con diarrea que acuden al instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023
- ¿Se podrá determinar la frecuencia de especies *Campylobacter* según grupos etarios en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023

## **1.2. Antecedentes**

### **1.2.1. A nivel internacional**

Strakova et al. (2021) con el objetivo de desarrollar un método universal para el aislamiento de *Campylobacter* termotolerantes de agua turbia que pueda complementar la norma ISO. Se recolectaron en total 36 muestras de agua para la detección paralela de *Campylobacter* termotolerantes por 2 métodos. Las muestras se recolectaron durante todas las estaciones del año para cubrir las condiciones durante todo el año, principalmente de estanques y lagos en 17 localidades de la República Checa. En el novedoso método de cultivo rápido presentado, las muestras se centrifugan a alta velocidad y el precipitado resuspendido, se

inoculan en un filtro, el cual descansa sobre un agar desoxicolato, cefoperazona, carbón modificado (mCCDA) selectivo. Las bacterias móviles pasan a través de los poros del filtro y el agar mCCDA suprime el crecimiento de la microbiota acompañante. El método modificado resulta ser más eficaz en la detección de *Campylobacter* termotolerantes: el 44 % de las muestras dieron positivo para *Campylobacter* con el método modificado y el 28 % con el método ISO estándar. Los investigadores concluyen que el método propuesto fue más eficiente, más rápido y más fácil de aplicar que el método ISO.

Hou et al. (2018) evaluaron la eficiencia de recuperación y la especificidad del método de filtración con jeringa, y también compararon este método con el método de filtración por membrana para el aislamiento de *Campylobacter spp.* en muestras de heces. El estudio se realizó en el Departamento de Microbiología del Centro de Enfermedades y Prevención de Guangzhou, de marzo a agosto de 2018 (25 semanas). Un filtro de jeringa con un tamaño de poro de 0,45  $\mu\text{m}$  logró la tasa de recuperación más alta (0,29 %), mientras que los filtros de membrana de policarbonato con un tamaño de poro de 0,6  $\mu\text{m}$  y 0,4  $\mu\text{m}$  recuperaron menos *Campylobacter*, con 0,01 % y  $1,3 \times 10^{-3}$  %, respectivamente. También analizaron 601 muestras de heces diarreicas utilizando métodos de filtración por membrana y jeringa. Se aislaron un total de 23 *C. jejuni/coli* a partir de la filtración con jeringa y membrana; nueve y uno se aislaron solo con jeringa o solo con membrana, respectivamente ( $p < 0,05$ ). Concluyeron que la combinación de filtración con jeringa y caldo de enriquecimiento es una opción útil para aumentar la selectividad y reducir la contaminación en el aislamiento de *Campylobacter* a partir de muestras de heces.

Hsieh et al. (2017) evaluaron 5 medios basales (Bolton, Columbia, Mueller-Hinton, TSA y MacConkey), además de temperaturas de incubación y suplementos adicionales, para el crecimiento óptimo de 16 *Campylobacter spp.* de 24 cepas de referencia ATCC. De los resultados se encontró que, de los medios evaluados, Bolton o Columbia con sangre y

suplementados con antibióticos, fueron los medios selectivos óptimos para la mayoría de los aislamientos de las 16 especies probadas. Respecto al estudio de la temperatura óptima de desarrollo, se encontró que todas las especies podrían crecer bien a 37 °C, sin embargo, a 42 °C, no se notó tanto crecimiento, no observándose diferencias significativas de crecimiento entre los medios probados ( $P>0.05$ ), excepto que las colonias incubadas a 42 °C fueron más pequeñas en comparación con las colonias que desarrollaron a 37 °C; concluyendo que los medios de Bolton o Columbia con sangre, fueron los medios de cultivo óptimos para el crecimiento de la mayoría de *Campylobacter spp.*, en presencia o ausencia de suplementos que incluyen sangre animal y antibióticos; adicionalmente, la temperatura de incubación a 37 °C con un ambiente microaeróbico fue mejor para el aislamiento y el cultivo.

Nachamkin y Nguyen (2017), realizaron un estudio para determinar la frecuencia y relevancia clínica de las especies de *Campylobacter* a partir de cultivos de heces. Se cultivaron 225 muestras fecales enviadas al Laboratorio de Microbiología Clínica del Hospital de la Universidad de Pensilvania de septiembre a diciembre de 2016 (10 semanas), usando el método de filtración. Se recuperaron 23 *Campylobacter spp.* de las muestras procesadas, incluidas *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* (n=10) y otras especies (n=13). Todas las muestras de las que se aislaron *C. jejuni*, *C. coli* o *C. lari* utilizando el método de filtración también dieron positivo en el ensayo molecular multiplex del panel entérico de Verigene. De los 13 (5.8%) aislamientos, distintos de *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari*, 4 se recuperaron con filtros de nitrocelulosa de 0,45  $\mu\text{m}$  (30,7 %), 8 (61,5 %) se recuperaron con filtros de nitrocelulosa de 0,65  $\mu\text{m}$  y 13 (100%) se recuperaron de filtros de policarbonato de 0,6  $\mu\text{m}$ , lo que sugiere la superioridad de los filtros de PC para la recuperación de *Campylobacter spp.*; de estos aislamientos, 8 correspondieron a *Campylobacter concisus*, siendo este la especie más frecuente. De los resultados encontrados concluyen que se justificarían estudios adicionales en poblaciones de Estados Unidos.

Nielsen et al. (2015) realizaron un estudio cuyo objetivo fue comparar la técnica de filtración optimizada mediante filtros PC con el agar mCCDA para el aislamiento de *C. jejuni/coli* a partir de muestras de heces. El estudio se realizó entre enero de 2013 y diciembre de 2013 en el Departamento de Microbiología Clínica del Hospital Universitario de Aalborg, Dinamarca. Se cultivaron 5963 muestras de heces diarreicas humanas, de 4094 pacientes. Para la técnica filtración optimizada, se colocaron filtros de PC con un diámetro de 47 mm y un tamaño de poro de 0,60  $\mu\text{m}$ , sobre la superficie de una placa de agar sangre enriquecida con levadura al 5 %. Las heces líquidas se usaron directamente, mientras que las heces blandas se homogenizaron agregando solución salina isotónica (1:1). Luego, las heces se colocaron encima de los filtros de PC y se dejaron filtrar pasivamente durante 60 min a 37 °C en una atmósfera ambiente. Después de la filtración, los filtros se retiraron cuidadosamente con pinzas estériles y se desecharon, después las placas se incubaron a 37 °C en una atmósfera microaeróbica hidrógeno-enriquecida (6 % O<sub>2</sub>, 6 % CO<sub>2</sub>, 3 % H<sub>2</sub> y 85 % N<sub>2</sub>) y examinadas después de 48 horas. Se aislaron 385 aislamientos de *C. jejuni/coli*, de los cuales 376 se aislaron tanto con la técnica de filtro PC como con agar mCCDA, 6 se aislaron solo con la técnica de filtro PC y los 3 se aislaron solo con mCCDA. Concluyen que la técnica del filtro de PC no es inferior en comparación con agar mCCDA para el aislamiento de *C. jejuni/coli* a 37 °C.

Nielsen et al. (2013) evaluaron la técnica de filtración mediante la comparación de 2 filtros diferentes, un filtro de PC y un filtro de AC para el aislamiento de *Campylobacter spp.*, especialmente *C. concisus*. El estudio se llevó a cabo desde febrero de 2012 hasta junio de 2012 en el Departamento de Microbiología Clínica del Hospital Universitario de Aalborg, Dinamarca. Se cultivaron 1791 muestras de heces diarreicas de 1377 pacientes, para la detección de bacterias patógenas entéricas, con el uso de métodos de filtrado. Las heces líquidas se usaron directamente, mientras que las blandas se mezclaron agregando solución salina isotónica (generalmente 1:1), y se colocaron 8 gotas de la suspensión fecal sobre la membrana

y se dejó filtrar pasivamente durante 40 minutos a 37 °C bajo atmósfera ambiente. Después de la filtración, los filtros se retiraron cuidadosamente con pinzas estériles y se desecharon, y las placas de cultivo se incubaron a 37 °C en una atmósfera microaeróbica enriquecida con hidrógeno (6 % O<sub>2</sub>, 6 % CO<sub>2</sub>, 3 % H<sub>2</sub> y 85 % N<sub>2</sub>), y se examinaron después de 2 y 4 días. El resultado más saltante fue que encontraron una alta prevalencia de *C. concisus* con el uso del filtro PC (n = 114) en comparación con un filtro de AC (n = 79), concluyendo que el uso del filtro PC es mejor en lugar del filtro AC cuando se cultive esta especie de *Campylobacter*.

Gharst (2013) en una revisión acerca de las metodologías para aislar e identificar *Campylobacter spp.* de alimentos, principalmente productos avícolas, encuentran que, respecto a la temperatura de incubación de muestras recomendada durante todo el procedimiento de aislamiento es de 42°C. Se recomienda también el enriquecimiento de las muestras durante 48h, que puede realizarse en condiciones aeróbicas, para conseguir un número detectable de *Campylobacter*. La transferencia de las muestras enriquecidas en caldos a medios de cultivo en placa mediante filtros de membrana ayuda a obtener colonias puras de *Campylobacter*. El medio de cultivo mCCDA es la mejor opción entre todos los agares en placa. No es necesario agregar sustancias inhibidoras de oxígeno o sangre al caldo de enriquecimiento para el aislamiento de *Campylobacter spp.* Sin embargo, la adición de sangre al agar en placa ayuda en la identificación diferencial de colonias presuntivas de ser *Campylobacter*.

Tilmanne et al. (2009) utilizaron un estudio de tres fases, para optimizar el método de filtración en el aislamiento de especies de *Campylobacter*, a partir de muestras de heces. En la fase I, julio a setiembre 2014, comparan dos medios de cultivo en 1146 muestras de heces (Agar Mueller-Hinton 5% sangre de carnero y Agar Columbia 5% sangre de carnero). En la fase II, julio 2016, comparan dos tipos de filtros en 718 muestras de heces (filtros de PC con poro de 0,60 µm y filtros de AC con poro de 0,45 µm) y en la fase III, enero 2018, adicionaron H<sub>2</sub> a la atmósfera de incubación de 578 muestras de heces. Como resultados encontraron, que en la

fase I hubo mejor crecimiento de *Epsilobacteriaceae*, al usar el Agar Columbia en lugar del Agar Mueller-Hinton (21/22 cepas vs. 11/22,  $p < 0,05$ ); en la fase II, crecieron más cepas con filtro 0,6 de PC (90/91), que con filtro 0,45 AC (44/91) ( $p < 0,05$ ); y en la fase III, las cepas crecieron mejor adicionando 7% de hidrógeno que sin hidrógeno (90/98, 91,8%, vs. 72/98, 73,5%;  $p < 0,05$ ). El estudio concluye que el uso de Agar Columbia 5 % de sangre de carnero, con filtros de PC 0,6  $\mu\text{m}$  e incubados a 37 °C, en una atmósfera enriquecida con un 7 % de hidrógeno producen un aumento de casi cuatro veces la tasa de aislamiento de *Epsilobacteriaceae*.

Baserisalehi et al. (2004) desarrollaron un método compuesto de un procesamiento de muestra (preT) y el uso de un medio de cultivo libre sangre y de antibióticos, para el aislamiento y enumeración de *Campylobacter spp.* de muestras ambientales. El procesamiento preT evaluó el número más probable, mientras que el medio de cultivo propuesto, seleccionó bacterias Gram-negativas y diferenció *Campylobacter* de bacterias competidoras fermentadoras de lactosa. El preT consistió básicamente de centrifugar un volumen de agua residual a 4,500 g por 10 min, luego de reposar por 10 min se tomó una asada del sobrenadante, para ser inoculado en el medio de cultivo propuesto e incubarse a 37°C por 48 h en ambiente microaeróbico. Se muestrearon 106 muestras de heces y 57 de aguas residuales, Los resultados obtenidos para preT de mezcla de cultivos puros de bacterias se encontró que: *Streptococcus faecalis* no pudo migrar del sedimento al sobrenadante después de la sedimentación por centrifugación incluso a los 25 min, *Proteus mirabilis* y *Escherichia coli* se detectaron en el sobrenadante dentro de los 20 minutos de reposo después de la sedimentación. Se detectó *C. coli* en el sobrenadante a los 5 min. Por lo tanto, en el caso de una mezcla de cultivos estándar, preT resultó en la eliminación completa de bacterias competidoras en el sobrenadante hasta 15 min de reposo. Los investigadores concluyen que respecto al preT, es capaz de minimizar la población de

bacterias competidoras, y el medio KB selecciona bacterias Gram-negativas y diferencia a *Campylobacter* de ellas, a partir de muestras ambientales sin usar antibióticos.

Karmali y Fleming (1979) aplicaron el principio de Fortner para el aislamiento de *Campylobacter* en muestras de heces. Treinta muestras de heces que se sabían eran positivas para *C. jejuni*, se cultivaron en paralelo mediante el método de la bolsa y el método convencional, el cual reemplazaba el aire por dióxido de carbono para lograr una tensión de oxígeno reducida. Después de 48 h de incubación a 42 °C, se encontró que *C. jejuni* se aisló de las 30 muestras de heces por ambos métodos. Encontraron útil agregar un trozo de algodón húmedo a la bolsa antes de la incubación. Todos los aislamientos de las heces eran organismos gramnegativos curvos o en espiral, que mostraban una motilidad en dardo similar a un sacacorchos, cuando se observaban con un microscopio de contraste de fase. Todos los aislamientos fueron microaerófilos estrictos, oxidasa, catalasa y nitrato positivo, e inertes a los carbohidratos. Crecieron a 42°C pero no a 25°C y fueron sensibles a 30 µg de ácido nalidíxico por ml. Se concluyó que la atmósfera generada por el uso del principio de Fortner es adecuada para el crecimiento de *C. jejuni*. Es probable que tal atmósfera tenga una tensión de oxígeno reducida y una tensión de dióxido de carbono aumentada como resultado del metabolismo del organismo anaeróbico facultativo.

### **1.2.2. A nivel nacional**

Moya et al. (2018) comunican una alta resistencia antimicrobiana a fluoroquinolonas en menores de dos años, donde la especie más frecuentemente aislada fue *C. coli*. En dicho estudio analizaron 150 aislamientos de *Campylobacter* de muestras fecales de niños, atendidos en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé en dos periodos, comprendidos entre noviembre de 2012 a febrero de 2013, y diciembre de 2014 a julio de 2015. Encuentran que la especie con mayor frecuencia fue *C. coli* con 51%, seguido por 29,3% (44 cepas) de

*Campylobacter spp.*, y 30% (44 cepas) fueron aislamientos de *C. jejuni*. El procesamiento de las muestras consistió en cultivarlas en siete medios de cultivo, pero solo para el aislamiento de *Campylobacter* se usó agar Karmali, y agar sangre de carnero 5% con filtro de membrana con poro de 0,45µm. Los aislamientos se verificaron por microscopia con tinción Gram interrumpido, y los agares se incubaron a 42±1 °C por 72 horas en microaerofilia.

Moya et al. (2016) evalúan el rendimiento diagnóstico del agar sangre con filtro (ASF) versus agar karmali (AK) para el diagnóstico de *Campylobacter* en coprocultivo. Se recolectaron un total de 287 muestra positivas de muestras fecales de niños, atendidos en el Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé. El aislamiento de *Campylobacter* en ASF y AK fue de 78,3% y 21,7%, respectivamente. La sensibilidad fue de 90,9% para ASF. El tiempo de crecimiento promedio fue de 32,7 ± 11 horas y la contaminación de medios de cultivo de pacientes positivos fue de 61,7% para AK. Se aislaron un 74,8% de especies de *Campylobacter* no *jejuni*.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Aislar especies de *Campylobacter* en muestras de heces de niños con diarrea, mediante metodología combinada, Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

Determinar la sensibilidad y especificidad de la metodología combinada para la detección de especies de *Campylobacter* en muestras de heces.

Determinar la sensibilidad y especificidad de la coloración Vago para la detección microscópica de *Campylobacter* en muestras de heces.

Determinar la frecuencia de las diferentes especies de *Campylobacter* en las muestras de heces de niños con diarrea que acuden al instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023

Determinar la frecuencia de especies *Campylobacter* según grupos etarios en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023

#### **1.4. Justificación**

##### ***1.4.1. Justificación teórica***

Es importante el aislamiento e identificación de especies de *Campylobacter*, la cual continúa siendo aún bastante problemática, sumado a la gran variabilidad de factores involucrados en su aislamiento, se hacen necesarios la implementación de metodologías, que aseguren su aislamiento de esta bacteria productora de diarrea en niños.

##### ***1.4.2. Justificación práctica***

Los medios de cultivo empleados para el aislamiento selectivo de *Campylobacter spp.*, generalmente son suplementados con antimicrobianos, los mismos que pueden llegar a inhibir el crecimiento del mismo *Campylobacter*. Por otro lado, el uso indiscriminado de antibióticos por la población, hacen que se seleccionen bacterias resistentes a diversos antibacterianos ubicados en el lumen intestinal, por lo tanto, estas bacterias pueden crecer como contaminantes en los medios de cultivo de aislamiento primario, enmascarando o desplazando a *Campylobacter*; ambos escenarios terminan en un resultado falso negativo para el cultivo de *Campylobacter spp.*, por ello se hace necesario una metodología libre de suplementos para el aislamiento de *Campylobacter* como la de filtración.

##### ***1.4.3. Justificación metodológica***

La metodología combinada propuesta para el aislamiento de *Campylobacter spp.*, utiliza el método de filtración, donde la muestra previamente diluida y centrifugada, logra no solo aislar selectivamente a *Campylobacter spp.*, sino que además una mayor producción de colonias haciendo innecesarios subcultivos adicionales, con pérdida de tiempo y recursos, para la realización de otras pruebas como las de identificación y de susceptibilidad antimicrobiana.

Estas razones nos llevaron a investigar y proponer, una metodología combinada libre de antibióticos, simple y de bajo costo, para el aislamiento de especies de *Campylobacter*, a partir de muestras de heces de niños con diarrea, atendidos en el Instituto Nacional de Salud del Niño Breña, periodo de enero a marzo del 2023.

### **1.5. Hipótesis**

Por ser un estudio Observacional, descriptivo y transversal, no requiere hipótesis

## II. MARCO TEORICO

### 2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

#### 2.1.1. *Campylobacteriosis y Genero Campylobacter*

**2.1.1.1. Historia taxonómica de *Campylobacter*.** Escherich (1886), observó microscópicamente por primera vez organismos no cultivables, similares a espirales, en las heces del colon de niños que murieron y él denominó “*Cholera infantum*”. Todos los intentos de cultivar el organismo sobre medio sólido fueron infructuosos, describiéndolos como “espirales” en casos parecidos a la enfermedad del cólera y disentérica. Todos estos casos, reportados en general en lengua alemana, apuntan a que el microorganismo descrito probablemente era *Campylobacter*. Estos artículos fueron desconocidos hasta 1985, en que Kist reportó los hallazgos de Escherich en el Tercer Taller Internacional de *Campylobacter* realizado en Ottawa. McFadyean y Stockman en 1913, reportaron la asociación de infertilidad infecciosa y aborto en vacas y ovejas, con una bacteria microaerofílica “semejantes a vibrio”. Esta asociación fue confirmada años más tarde por Smith y Taylor en 1919, cuando encontraron similares hallazgos en tejido de bovino abortado, proponiendo como *Vibrio fetus* a la bacteria. Jones y col. en 1931 implicaron a otro grupo de vibrios microaerófilos como causante de brotes disentéricos en terneras y los denominaron *Vibrio jejuni*, ahora conocido como *C. jejuni*. En 1944, Doyle atribuyó la disentería del cerdo a un organismo similar al cual denominaron *Vibrio coli*. La primera descripción documentada de infección en humanos por *Campylobacter*, fue descrita por Levy en 1946, proviene del estudio de un brote, asociado a organismos transmitidos por la leche que se parecían a *Vibrio jejuni*, en 151 reclusos de dos cárceles en EEUU en 1938, estas personas experimentaron diversos síntomas como, vómitos, calambres abdominales, diarrea, fiebre y dolor de cabeza. La denominación de “*Campylobacter*” (Del griego *kampulos*:

curvado y *bacter*: bastón) fue propuesta por Sebald y Véron en 1963. (Ingresa Capaccioni, 2017; Yubero-Delgado, s. f.)

Entre 1909 y 1944, hubo un número creciente de informes de organismos similares "similares a *Vibrio*" aislados de fuentes bovinas y ovinas, pero no fueron aislado de humanos hasta 1938, en asociación con un brote de gastroenteritis transmitido por la leche en el que los hemocultivos fueron positivos para organismos parecidos a "*Vibrio jejuni*", brote que citamos anteriormente. Los vibrios microaeróbicos se asignaron al nuevo género *Campylobacter* en 1963 e incluían solo dos especies: *Campylobacter fetus* y *Campylobacter bubulus* (ahora *Campylobacter sputorum*). Los *Campylobacter* se aislaron con éxito por primera vez de las heces a fines de la década de 1960, mediante una técnica de filtración. Más tarde, el desarrollo de medios selectivos llevó el aislamiento rutinario de *Campylobacter* al ámbito de la microbiología clínica y *Campylobacter spp.* rápidamente se reconoció como una causa común de gastroenteritis bacteriana en humanos. La estructura taxonómica de *Campylobacter* ha cambiado sustancialmente desde su inicio en 1963, primero con un estudio completo de la taxonomía del género en 1973. A fines de la década de 1980, hubo un rápido aumento en la clasificación a nivel de especie y se habían identificado 14 especies. En 2008 se publicó una revisión detallada de la taxonomía de *Campylobacteraceae*. Actualmente, se describen 33 especies de *Campylobacter* dentro de la familia *Campylobacteraceae*. El espectro de enfermedades de este género varía desde el bien establecido para *C. jejuni* hasta especies emergentes como *C. fetus ssp. fetus*, o los especulativos para especies como *C. concisus*. La especie de *Campylobacter* más comúnmente reconocida, *C. jejuni*, es la principal causa de casos de enteritis por *Campylobacter* en humanos; varias otras especies de *Campylobacter*, incluidas *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. lari* y *C. fetus*, también se han relacionado con la enteritis. La verdadera proporción de enfermedad atribuible a cada una de estas especies no está clara porque los *Campylobacter* son difíciles de diferenciar y muchos laboratorios clínicos no

identifican las cepas de *Campylobacter* a nivel de especie. *C. jejuni* se divide en dos subespecies: *C. jejuni ssp. jejuni* (referido como *C. jejuni*) y *C. jejuni ssp. doylei* (rara vez se encuentra como la causa de la enfermedad humana). *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* y *C. helveticus* forman un grupo genéticamente cercano, como lo demuestra el análisis de ARNr 16S, y se conocen como *Campylobacter* termotolerantes o termófilos porque todos crecen de manera óptima a 42 °C. (Green y Goldman, s. f.)

**2.1.1.2. Características generales.** Las especies de *Campylobacter* son bacilos gramnegativos que no forman esporas. Por lo general, son bacilos curvos, en forma de S o en espiral, también conocidos como “vuelo de gaviotas”, de 0,2 a 0,9 µm de ancho y 0,5 a 5 µm de largo. Algunas especies, como *C. hominis* y *C. gracilis*, forman bacilos rectos. Los organismos suelen ser móviles por medio de un flagelo único, polar en uno o ambos extremos. Las células de algunas especies son inmóviles (*C. gracilis*) o tienen múltiples flagelos (*C. showae*). La mayoría de las especies requieren una atmósfera microaeróbica para un crecimiento óptimo; sin embargo, algunas especies crecen de forma aeróbica o anaeróbica. Una atmósfera que contiene más hidrógeno parece ser un requisito de crecimiento para otras especies como *C. sputorum*, *C. concisus*, *C. mucosalis*, *C. curvus*, *C. showae*, *C. rectus*, *C. gracilis* y *C. hominis*. (Green y Goldman, s. f.)

**2.1.1.3. Epidemiología.** *Campylobacter* es la principal causa de enteritis bacteriana en todo el mundo y causan aproximadamente 1,3 millones de enfermedades al año en los Estados Unidos. Se puede transmitir directamente de un animal a una persona, a través de la ingestión de agua o alimentos contaminados con heces, o por contacto directo con heces de animales o superficies ambientales contaminadas. Las especies de *Campylobacter* son principalmente zoonóticas, con una variedad de animales implicados como reservorios de infección, incluida una amplia gama de animales y aves domésticos y salvajes. Además, el agua y el medio ambiente juegan un papel importante pero poco conocido en la epidemiología de la

campilobacteriosis. En Europa la incidencia de campilobacteriosis humana está estimada en aproximadamente en 9 millones de casos por año. (Green y Goldman, s. f.)

**2.1.1.4. Campilobacteriosis.** Enteritis producida por especies de *Campylobacter*, enfermedad transmitida por alimentos, caracterizada por ser una diarrea autolimitada de acuosa a sanguinolenta, que dura en promedio de 5 a 7 días y no requiere tratamiento antimicrobiano. (Fonseca et al., 2016)

**2.1.1.5. Diagnóstico de laboratorio.** Involucra a todos los procedimientos preanalíticos, analíticos y posanalíticos para el diagnóstico microbiológico de una Campilobacteriosis. (Green y Goldman, s. f.; Leber, 2016; Tille, 2017)

**A. Recolección, transporte y procesamiento de muestras.** Es deseable que el paciente no este con tratamiento antibacteriano previo al análisis; dos muestras clínicas más comunes son las heces y sangre. Las muestras deben procesarse lo antes posible. Los retrasos de más de 2 horas requieren que la muestra de heces se coloque en medio Cary Blair u otro medio de transporte. Las muestras recibidas en medio de transporte deben procesarse inmediatamente o almacenarse a 4 °C hasta que se procesen.

**B. Examen directo de especímenes – Microscopía.** El diagnóstico presuntivo de una infección por *Campylobacter* se puede hacer directamente mediante la detección microscópica del organismo en una muestra de heces frescas de pacientes con enteritis aguda. La microscopía de campo oscuro revela la morfología característica y la motilidad de las campilobacterias, pero es poco utilizada; por el contrario, el uso de tinción de Gram, coloración Vago o Gram interrumpido, de muestras de heces en busca de organismos con morfología tipo *Campylobacter*, son cada vez más utilizadas y además altamente sensibles y específicas para el diagnóstico preliminar rápido de la infección por *Campylobacter*.

**C. Aislamiento Primario.** El aislamiento de *Campylobacter spp.* a partir de muestras de heces requiere medios selectivos y condiciones óptimas de incubación. La inoculación recomendada de dos agares selectivos se asocia con una mayor recuperación de los organismos. La temperatura óptima de incubación es 42°C en condiciones microaerófilas. Es posible que se requiera una incubación prolongada (48 a 72 horas) antes de que haya evidencia de crecimiento visible.

Los medios de cultivo para *Campylobacter* se pueden dividir en, a base de sangre, a base de carbón y otros. El agar mCCDA es el medio de cultivo selectivo más utilizado en todo el mundo. Sobre el agar mCCDA, incubado a 42 °C durante 36–48 h, *Campylobacter spp.* generalmente aparecen como colonias grises y planas.

También se puede utilizar un método de filtración junto con un medio no selectivo para mejorar la recuperación de *Campylobacter*. Se coloca un filtro (AC con un tamaño de poro de 0,65 mm) sobre la superficie del agar y se coloca una gota de heces sobre el filtro. La placa se incuba en posición horizontal. Después de 60 minutos a 37°C, se retira el filtro y las placas se vuelven a incubar en una atmósfera microaeróbica. *Campylobacter* es móvil y capaz de migrar a través del filtro, produciendo colonias aisladas en la superficie del agar y eliminando eficazmente la microbiota contaminante de las heces.

**D. Identificación.** Una vez aislado *Campylobacter*, la identificación presuntiva del género se realiza fácilmente en función de la morfología y la motilidad de la bacteria. Una mayor diferenciación a nivel de especie es difícil debido a la taxonomía compleja y en rápida evolución y la inercia bioquímica de estas bacterias. Estos problemas han resultado en una proliferación de métodos fenotípicos y genotípicos para identificar miembros de este grupo bacteriano. Sin embargo, las colonias de apariencia sospechosa observadas en medios selectivos incubados a 42 °C pueden identificarse presuntivamente como *Campylobacter spp.*,

correspondiendo generalmente *C. jejuni* o *C. coli*, con algunas pruebas mínimas. Se puede examinar un montaje húmedo en caldo para determinar la motilidad característica, ya sea en dardo o en “hojas que se caen”, y la morfología curva o espiral a la tinción de Gram. *Campylobacter fetus* es incapaz de crecer a 42 °C y el crecimiento óptimo es a 37 °C. Casi todas las *Campylobacter spp.* patógenas. son oxidasa y catalasa positivas. Comúnmente se reportan los aislamientos de heces como “se aísla *Campylobacter spp.*” La mayoría de *Campylobacter spp.* son asacarolíticos, incapaces de crecer en NaCl al 3,5%. Otras pruebas útiles para identificar estas especies son la prueba rápida de hidrólisis del hipurato, producción de hidrógeno sulfurado (H<sub>2</sub>S) en agar TSI, reducción de nitrato e hidrólisis de indoxilacetato.

**E. Prevención.** Para que se produzca una infección por *Campylobacter spp.* se requiere ingerir alimentos o agua contaminados. La preparación y cocción adecuadas de los alimentos derivados de fuentes animales, en particular aves de corral, disminuirán el riesgo de transmisión de la enfermedad. La leche debe ser pasteurizada y el agua potable clorada. Se debe tener cuidado durante la preparación de los alimentos para evitar la contaminación cruzada de las aves crudas con otros alimentos. Actualmente no se cuenta con vacunas para *Campylobacter spp.*

### **2.1.2. Aislamiento de *Campylobacter* por Metodología Combinada**

A lo largo del tiempo se han ido incorporando modificaciones y adaptaciones para el aislamiento de *Campylobacter spp.*, sin embargo, aún sigue siendo problemático, dichos aportes resaltamos a continuación:

**2.1.2.1. Concentración de *Campylobacter* para el cultivo.** Baserisalei (2004), demuestra que el procedimiento propuesto elimina las bacterias competidoras utilizando dos características propias de *Campylobacter*, es decir, su motilidad y el tipo de movimiento en dardo. Durante la centrifugación a 4,500 g *Campylobacter* sedimenta con otras bacterias.

Dentro de un período corto de incubación en reposo (10 a 15 min.), *Campylobacter* migra relativamente más rápido del sedimento al sobrenadante debido a su motilidad característica, mientras que las otras bacterias competidoras tardan más tiempo en migrar al sobrenadante. Probablemente debido a la motilidad tipo en dardo de *Campylobacter* y su movimiento solo en una dirección, ayudan a recorrer mayor distancia en menos tiempo. Mientras que el tiempo sería mayor para recorrer la misma distancia por las otras bacterias competidoras móviles, como *Proteus*, esto es más como resultado de su movimiento en diferentes direcciones.

#### **2.1.2.2. Generación de la atmósfera microaerófila para cultivo de *Campylobacter*.**

Zerpa et al. (1984) describen un método biológico (variante del principio de Fortner) para el cultivo de *C. jejuni*. El mayor aporte de esta comunicación es, la inoculación en un tercio del agar selectivo de *Klebsiella pneumoniae* como generadora de CO<sub>2</sub>, necesario para el crecimiento de *Campylobacter*. Adicionalmente emplearon una banda de jebe, de aproximadamente 2 cm., obtenida de cortar la parte terminal abierta de un guante de latex descartable, con el objetivo de sellar por los bordes de la placa. Ambas adaptaciones constituyen una alternativa simple y de bajo costo para el aislamiento de especies de *Campylobacter*.

#### **2.1.2.3. Cultivo con Agar selectivo o por Filtración.**

El uso de agar selectivo para el aislamiento de especies de *Campylobacter*, el cual emplea suplemento antibiótico, pueden inhibir a algunas especies de *Campylobacter* como *C. lari* y *C. coli* entre otros. Una alternativa para evitar este inconveniente es usar la técnica del filtro. Este consiste en la colocación de unas gotas de heces sobre un filtro de membrana, cuyo tamaño de poro puede oscilar entre 0,45 y 0,85 µm, para el aislamiento de *Campylobacter*. Luego, después de estar el filtro colocado sobre la superficie de un agar sangre, se retira para su posterior incubación. Mientras que los microorganismos más grandes y gruesos quedan atrapados en el filtro, la alta motilidad y la

forma delgada de *Campylobacter spp.* ayudan en el paso de la bacteria a través de los pequeños poros del filtro de membrana. (Steele y McDermott, 1984).

### III. MÉTODO

#### 3.1. Tipo de investigación.

Investigación de tipo cuantitativa, prospectiva, de diseño observacional, descriptivo, transversal.

#### 3.2. Ámbito temporal y espacial.

##### 3.2.1. *Ámbito espacial.*

La investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Salud del Niño.

##### 3.2.2. *Ámbito temporal.*

La investigación se realizó durante el periodo comprendido desde enero a marzo de 2023.

#### 3.3. Variables

Sus definiciones, dimensiones e indicadores a evaluar entre otras características de las variables en el anexo A (cuadro de operacionalización de variables).

##### 3.3.1. *Variable 1.*

Especies de *Campylobacter*

##### 3.3.2. *Variable 2.*

Aislamientos mediante metodología combinada de *Campylobacter*

Sensibilidad y especificidad de la metodología combinada para la detección de especies de *Campylobacter*

Sensibilidad y especificidad de la coloración Vago para la detección microscópica de *Campylobacter*

Frecuencia de las especies de *Campylobacter*

Frecuencia de especies *Campylobacter* según grupos etarios

### 3.4. Población y muestra.

La población estuvo conformada por todos los niños menores de 18 años, provenientes de la atención de hospitalización y ambulatoria del Instituto Nacional de Salud del Niño – Breña, de enero a marzo de 2023.

Para el cálculo de muestra se tomaron dos datos importantes provenientes del servicio de microbiología, la población de estudio (N) correspondiente a la suma de los meses de enero, febrero y marzo del 2022 fue 317, y la prevalencia de la campilobacteriosis del 2021 fue de 42%. Aplicando la fórmula del cálculo del tamaño de muestra para una proporción, necesitamos 191 muestras, por lo cual redondeamos a 290 muestras de heces como cálculo de muestra a procesar. (García et al., 2013).

**Criterios de inclusión**, se incluyeron heces de niños para estudio de coprocultivo de la atención de hospitalización y ambulatoria del Instituto Nacional de Salud del Niño – Breña durante el periodo de estudio.

**Criterios de exclusión**, se excluyeron muestras mal conservadas y con retraso de más de tres horas para su procesamiento. Se excluyeron muestras mal identificadas o derramadas.

### 3.5. Instrumentos.

El Instrumento empleado fue una Ficha de Recolección de Datos, que proviene de una matriz inicial en Excel.

La recolección de datos se realizó por la técnica de documentación y la observación directa. Por lo cual los datos de la investigación fueron registrados en la ficha de recolección de datos, donde se consignaron a los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión (Anexo B). La información demográfica (edad, sexo, procedencia) se documentó de las solicitudes de exámenes microbiológicos. Asimismo, en la ficha de recolección de datos se recolectaron los registros obtenidos del estudio microbiológico del agente aislado, los resultados de la prueba de identificación para cada unidad de estudio.

### **3.6. Procedimientos.**

**3.6.1. Obtención de la muestra para cultivo.** *(Resolución Directoral N°208-2016-INSN-DG. Por la cual se aprueba Manual de Procesos y Procedimientos del Servicio de Microbiología, que consta de 207 folios (CCVII) presentado por Departamento de Investigación Docencia y Atención en Patología del Instituto Nacional de Salud del Niño. 10 de mayo del 2016, s. f.)*

El paciente debió estar sin tratamiento antimicrobiano, antidiarreicos (sales de bismuto), sustancias de contraste (Bario) enemas o laxantes por lo menos de 3 a 5 días antes de hacer el cultivo.

La muestra debió ser fresca (no más de 3 horas de emitida) y no contaminada con orina, cremas y/o talco. Fueron colectarse en frascos descartables tapa rosca. Si la deposición fue diarreica se enviaron no menos de 2 a 5 ml; si fue pastosa no menos de 3 a 5 gr. En niños pequeños con diarrea se colocó el pañal al revés (por la zona no absorbente) y un colector de orina para no contaminar la muestra. Se colocó la muestra en medio de transporte (Cary Blair) en caso de no poder entregarla dentro de las primeras 3 horas.

**3.6.2. Examen macroscópico.**

Se consideraron las siguientes características físicas de las heces, forma, consistencia, color y presencia de moco y/o sangre.

### ***3.6.3. Examen microscópico directo de las heces (Tinción Gram interrumpido-Vago).***

Sobre un portaobjetos se hizo un frotis de las heces, procurando coger material con moco, luego se fijó al mechero antes de ser coloreadas. Las muestras de materia fecal fueron examinadas a través de una tinción de Gram, utilizando solo cristal violeta y lugol como colorantes, para identificar leucocitos y formas bacilares curvas tipo *Campylobacter*.

### ***3.6.4. Cultivo en medios selectivos, Método directo.***

Estas muestras fueron procesadas rutinariamente como un coprocultivo por el Laboratorio de Microbiología, cuyos resultados fueron tomados como gold estándar. Las placas se sembraron en forma directa con hisopo o con 2-3 gotas de deposiciones acuosas, diseminándolas por estría. Se incubaron por 72 horas con una atmósfera microaerófila con 5-10% de oxígeno y 3 a 10% de dióxido de carbono.

### ***3.6.5. Cultivo por Metodología Combinada, propuesta para el estudio.***

Se procesaron 290 muestras de heces de niños con diarrea menores de 18 años, provenientes de la atención de hospitalización y ambulatoria del Instituto Nacional de Salud del Niño – Breña, de enero a marzo de 2023. Una asada de cada muestra fecal fueron emulsionadas en 1.5 ml de solución fisiológica estéril, luego cada suspensión fue centrifugada a 3,500 rpm por 10 minutos. Luego de reposadas por 10 minutos las muestras centrifugadas, del sobrenadante, justo por debajo de la superficie se tomará 50 µl y depositada sobre un cuarto de un filtro estéril, de AC de 0,45 µm de porosidad, el cual previamente fue colocado sobre los dos tercios de una placa de agar sangre, tratando que no se derrame sobre el medio de cultivo, seguidamente fue estriado el filtrado con un asa. En el tercio restante de la placa de agar sangre, se estrió un pesado inóculo de una cepa de *Klebsiella pneumoniae*, la cual, tras el tiempo de

incubación de la muestra, generó la microaerofilia necesaria para el desarrollo de *Campylobacter*. Se dejaron reposar 60 minutos en aerobiosis a 35°C, tiempo en que solo *Campylobacter* atravesó los poros para alcanzar el agar sangre, luego se levantó y descartó cuidadosamente el filtro con la ayuda de una pinza estéril. Posteriormente las placas fueron selladas herméticamente por el borde, con una banda de jebe proveniente de guantes quirúrgicos, previamente lavados y secados, cortados de 2-3 cm a partir del extremo abierto del guante. Las placas inoculadas fueron incubadas a 42 °C por 48 h.

### **3.6.6. Identificación**

Todas las colonias sospechosas crecidas sobre el agar, en ambos procedimientos, luego de la incubación por 48 hs, fueron confirmadas por su motilidad y morfología típica por coloración Vago y Gram, oxidasa y catalasa, hidrólisis del hipurato, resistencia al ácido nalidíxico (disco 30 ug) y cefalotina (disco 30 ug). Además de identificación por sistema comercial Vitek Compact 2.

### **3.7. Análisis de datos.**

Los datos obtenidos de las variables se ordenaron e ingresados a una base de datos electrónica en una hoja de cálculo en el programa Microsoft Excel donde se realizó el control de calidad de la información. La base de datos depurada fue exportada al programa SPSS para el correspondiente análisis. Se realizaron los análisis de las variables con el programa SPSS con aplicación de estadística descriptiva de los datos obtenidos.

### **3.8. Consideraciones éticas.**

El estudio involucra la participación de muestras biológicas que fueron procesadas en paralelo al estudio de coprocultivo rutinario realizado en el laboratorio de microbiología. El estudio por su diseño no requiere de consentimiento informado. Se garantizó la confidencialidad de los datos que se obtuvieron, utilizando un registro de codificación de cada

unidad muestral. Los datos obtenidos del estudio se almacenaron en una base de datos digital, y se asignaron un código a cada muestra a fin de mantener la confidencialidad de la información, la cual se alimentó por medio magnético. Solo el investigador tuvo acceso a la información que identificó a las cepas aisladas y no existió algún otro acceso a esta información. En todos los procedimientos del estudio se trató de preservar la integridad y los derechos fundamentales de los pacientes en la investigación, de acuerdo con los lineamientos de buenas prácticas de laboratorio y de ética en investigación biomédica. Se garantizó la confidencialidad de los datos obtenidos. Este protocolo también fue enviado a la oficina ejecutiva de apoyo a la investigación y docencia especializada para su revisión metodológica y aprobación por comité de ética en investigación del Instituto Nacional de Salud del Niño-Breña.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Aislamiento de especies de *Campylobacter* mediante metodología combinada.

Se procesaron 290 muestras de heces de niños con diarrea menores de 18 años, provenientes de la atención de hospitalización y ambulatoria del Instituto Nacional de Salud del Niño – Breña, de enero a marzo de 2023. Mediante la metodología combinada propuesta se aislaron 11 especies de *Campylobacter*, representando el 35% de los patógenos entéricos aislados en el mencionado periodo (Tabla 1). De los 11 pacientes con aislamiento positivo para *Campylobacter*, la distribución según sexo mostro un predominio del sexo masculino (82%) respecto del sexo femenino (18%). La distribución según los servicios de procedencia de los pacientes con aislamiento de *Campylobacter*, provienen de la consulta externa de Gastroenterología 9%, Emergencia 55%, y de las salas de hospitalización correspondieron a Infectología y Pediatría con 18% cada uno.

**Tabla 1**

*Distribución de los patógenos entéricos y especies de Campylobacter aislados mediante metodología combinada en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023*

<b>Microorganismo</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<i>Salmonella enterica</i>	12	39%
<i>Campylobacter spp.</i>	11	35%
<i>Shigella spp.</i>	8	26%
<b>TOTAL</b>	<b>31</b>	<b>100%</b>

#### **4.2. Sensibilidad y especificidad de la metodología combinada para la detección de especies de *Campylobacter*.**

De las 290 muestras procesadas, 11 fueron positivo para *Campylobacter* por cultivo con medio selectivo, mientras que por la metodología combinada propuesta 10 fueron positivos. Hubo un cultivo que logró aislar a *Campylobacter* con la metodología combinada propuesta, siendo para el cultivo con medio selectivo negativo. Por lo tanto, con respecto del cultivo de *Campylobacter* sobre medio selectivo, usado como gold estándar, la metodología combinada propuesta para la detección de especies de *Campylobacter* alcanza una sensibilidad del 91% y una especificidad del 100%.

#### **4.3. Sensibilidad y especificidad de la coloración Vago para la detección microscópica de *Campylobacter*.**

Se hicieron 290 exámenes microscópicos directos para detección de *Campylobacter* mediante tinción Gram interrumpido-Vago. Se logró observar a gérmenes con morfología de *Campylobacter* y cultivo positivo en 7 muestras, mientras que 4 muestras tuvieron cultivo positivo, pero al examen microscópico directo fueron negativos. De los 279 cultivos negativos para *Campylobacter*, 7 muestras dieron positivo al examen microscópico directo. Por lo tanto, con respecto del cultivo de *Campylobacter* sobre medio selectivo, usado como gold estándar, la tinción Gram interrumpido-Vago para la detección microscópica de especies de *Campylobacter*, alcanza una sensibilidad del 64% y una especificidad del 97%.

#### **4.4. Frecuencia de las especies de *Campylobacter*.**

De los 11 cultivos positivos para el aislamiento de especies de *Campylobacter*, las distribuciones de las especies aisladas fueron de 8 (73%) para *Campylobacter jejuni* y 3 (27%) para *Campylobacter coli* (Tabla 2).

**Tabla 2**

*Distribución de las especies de Campylobacter aislados en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023.*

<b>Especies de <i>Campylobacter</i></b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b><i>Campylobacter jejuni</i></b>	8	73%
<b><i>Campylobacter coli</i></b>	3	27%
<b>TOTAL</b>	11	100%

#### 4.5. Frecuencia de especies *Campylobacter* según grupos etarios

Los 11 pacientes con cultivo positivo estuvieron comprendidos entre los 3-39 meses de edad. La distribución en menores de 12 meses fué para *C. jejuni* de 4 (80%) y para *C. coli* 1 (20%). En mayores de 12 meses, *C. jejuni* tuvo 4 (67%) y para *C. coli* 2 (33%) (Tabla 3).

**Tabla 3**

*Distribución de las especies de Campylobacter según grupos de edad aislados en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023.*

<b>EDAD</b>	<b>&lt; 12 MESES</b>	<b>&gt; 12 MESES</b>
<b><i>C. jejuni</i></b>	4 (80%)	4 (67%)
<b><i>C. coli</i></b>	1 (20%)	2 (33%)
<b>TOTAL</b>	5 (100%)	6 (100%)

## V. DISCUSION DE RESULTADOS

El genero *Campylobacter* consta de especies microaerobias, termófilas y gramnegativas, siendo *C. jejuni* y *C. coli* las más frecuentemente aisladas a partir de heces de pacientes con gastroenteritis en todo el mundo.

A lo largo del tiempo se han descrito numerosos medios de cultivo selectivos para el aislamiento de *Campylobacter*, todos suplementados con antimicrobianos para darle selectividad a los medios de cultivo. Infelizmente, algunas cepas de *Campylobacter* son sensibles a estos antimicrobianos, motivo por el cual se recurrió al uso de filtros de membrana, los cuales permitían el paso de la bacteria y alcanzar el medio de cultivo libre de antimicrobianos permitiendo su desarrollo.

Existen otros aportes importantes, pero poco difundidos, *Campylobacter* es capaz de migrar relativamente más rápido desde el sedimento hasta el sobrenadante, después de la sedimentación por centrifugación. Se puede proporcionar la microaerofilia necesaria para su desarrollo utilizando el principio de Fortner y sellando las placas con bandas de jebe, evitando el uso de generadores de microaerofilia y campanas para cultivo.

En nuestra investigación el objetivo principal fue el de aislar especies de *Campylobacter* en muestras de heces de niños con diarrea, mediante una metodología combinada, utilizando cada uno de estos procedimientos que antes fueron usados aisladamente. De las 290 muestras estudiadas de niños con gastroenteritis se aislaron 11 (4%) especies de *Campylobacter*, este resultado es similar a los obtenidos por Nielsen *et al.* (2015) con 6% de aislamientos para *C. jejuni/coli*, Chang *et al.* (2021) con 3,6% y Benoit *et al.* (2014) con 6%. Sin embargo, nuestros resultados son discordantes con otros estudios como el de Samie *et al.* (2022) quienes encuentran un 13,2% y Mero *et al.* (2021) 53.2%, estos resultados podrían estar influenciados

por la metodología empleada para la detección de especies de *Campylobacter*, quienes en ambos estudios emplearon técnicas por ELISA y moleculares respectivamente.

Al tratar de determinar la sensibilidad y especificidad de la metodología combinada para la detección de especies de *Campylobacter*, en nuestra investigación encontramos una sensibilidad del 91% y especificidad del 100%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Moya *et al.* (2016), quienes encuentran una sensibilidad del 90,9% para agar sangre con filtro, sin embargo, encuentran una alta contaminación del medio selectivo de Karmali (61.7%) el cual también compararon. En nuestro estudio encontramos un 100% de contaminación de bacterias competitivas sobre el medio selectivo rutinariamente empleado, lo que podría estar indicando una alta presencia de resistencia de estas bacterias que no son inhibidas por el suplemento. En contraste con el uso de la metodología combinada propuesta para el aislamiento de *Campylobacter* se logra aislar a la bacteria libre de bacterias competitivas.

Respecto a la sensibilidad y especificidad de la coloración Vago para la detección microscópica de *Campylobacter* en muestras de heces, en nuestra investigación encontramos una sensibilidad del 64% y una especificidad del 97%. Dichos hallazgos concuerdan con Fitzgerald y Nachamkin (2015), donde comunican que, para un examen directo con coloración de Gram a partir de muestras de heces, la sensibilidad puede variar entre 66 al 94% y la especificidad puede ser superior al 95%. Park *et al.* (2016), encuentran respecto a nuestro estudio, una sensibilidad discordante del 94% pero una especificidad muy parecida del 99.5%, donde utilizaron una solución acuosa de fucsina básica al 1%. Estas variaciones en la sensibilidad podrían explicarse por los diferentes factores que afectan a la prueba, como son la experiencia del microbiólogo en la visualización microscópica del microorganismo o el método de coloración entre otros.

La frecuencia de las diferentes especies de *Campylobacter* encontradas en nuestro estudio, fueron de 8 (73%) para *Campylobacter jejuni* y 3 (27%) para *Campylobacter coli*, estos resultados concuerdan con Benoit *et al.* (2014), donde encuentran que la principal especie de *Campylobacter* fue *C. jejuni* (67,7%), lastimosamente no indica a las restantes especies encontradas en su estudio. En otro estudio, Sainato *et al.* (2018), encuentran a *C. jejuni* con el 59% y a *C. coli* con 39% y 2% no tipadas. En otro estudio, Pollett *et al.* (2012), encuentran que, de todos sus aislamientos, el 82,9% fueron *C. jejuni*, seguido de *C. coli*, 11,9%, y otras especies relacionadas o no identificadas 7%, incluidas *C. lari* y *C. laridis*, el mayor grado de presencia de *C. jejuni* (82.7%) contrasta con el encontrado en la misma especie en nuestro estudio (67.7%). Como es de esperar la distribución de las especies de *Campylobacter* no solo a nivel regional sino mundial son relativamente diferentes, pero es notorio el predominio de *C. jejuni* como la principal especie productora de diarrea.

Respecto a la frecuencia de especies *Campylobacter* según grupos etarios en nuestra investigación encontramos que, *C. jejuni* fue la especie aislada más prevalente, tanto en menores de 12 meses con 4(80%) y mayores de 12 meses con 4(67%). Esta alta prevalencia en nuestro estudio, también coincide con Samie *et al.* (2022), donde ellos encuentran una prevalencia del 90%, pero en niños menores de 11 meses, luego la prevalencia disminuyo con la edad. Chang *et al.* (2021) encuentran que los niños menores de 36 meses tenían menos probabilidad de tener Campilobacteriosis que los mayores de 36 meses, lo cual es un hallazgo totalmente diferente al encontrado por nosotros.

## VI. CONCLUSIONES

6.1. Se aislaron especies de *Campylobacter* mediante metodología combinada, representando el 35% de los patógenos entéricos en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Lima-Perú 2023.

6.2. La metodología combinada para la detección de especies de *Campylobacter* alcanza una sensibilidad del 91% y una especificidad del 100%.

6.3. La coloración Vago para la detección microscópica de especies de *Campylobacter*, alcanza una sensibilidad del 64% y una especificidad del 97%.

6.4. La frecuencia de las especies de *Campylobacter* aisladas, fueron de 8 (73%) para *C. jejuni* y 3 (27%) para *C. coli*.

6.5. La frecuencia de las especies de *Campylobacter* según grupos estarios en menores de 12 meses, fué para *C. jejuni* 4 (80%) y para *C. coli* 1 (20%). En mayores de 12 meses, *C. jejuni* tuvo 4 (67%) y para *C. coli* 2 (33%).

## VII. RECOMENDACIONES

7.1. Es importante realizar la vigilancia laboratorial de las enfermedades diarreicas agudas por las especies de *Campylobacter*, sobre todo en hospitales que tienen atención pediátrica.

7.2. Los resultados de esta investigación contribuyen en la mejora del aislamiento por el método de filtración, de donde se pueden obtener mayor número de colonias aisladas que pueden satisfacer el realizar pruebas de identificación y susceptibilidad, sin necesidad de reaislamientos posteriores con el consiguiente retraso de los resultados de laboratorio.

7.3. El uso de la metodología combinada propuesta para el aislamiento de especies de *Campylobacter*, evita el uso de suplementos agregados a los medios de cultivo de aislamiento primario, los cuales son costosos y a veces no tan fáciles de adquirir.

7.4. Es necesario implementar en los laboratorios de nuestro país, en especial los de atención pediátrica, pruebas de identificación de especies de *Campylobacter*, las cuales requieren de materiales y reactivos para su uso, evitando así saturar el laboratorio de referencia que identifican a nivel de especies al género *Campylobacter*.

7.5. Es necesario desarrollar más estudios sobre este tema ya que cada día se van conociendo otros factores que afecta el aislamiento de esta bacteria productora de diarrea en niños.

## VIII. REFERENCIAS

- Asuming-Bediako et al., (2019). *Campylobacter* at the Human–Food Interface: The African Perspective. *Pathogens*, 8(2), 87. <https://doi.org/10.3390/pathogens8020087>
- Backert, S. (2021). *Fighting Campylobacter Infections: Towards a One Health Approach*. Springer Nature.
- Baserisalehi, M. et al., (2004). A novel method for isolation of *Campylobacter spp.* From environmental samples, involving sample processing, and blood- and antibiotic-free medium. *Journal of Applied Microbiology*, 97(4), 853-860. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02375.x>
- Benoit, S. R. et al., (2014). Burden of laboratory-confirmed *Campylobacter* infections in Guatemala 2008-2012: Results from a facility-based surveillance system. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 4(1), 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.jegh.2013.10.001>
- Burnham, P. M., y Hendrixson, D. R. (2018). *Campylobacter jejuni*: Collective components promoting a successful enteric lifestyle. *Nature Reviews. Microbiology*, 16(9), 551-565. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0037-9>
- Chang, H. et al., (2021). Aetiology of acute diarrhoea in children in Shanghai, 2015-2018. *PloS One*, 16(4), e0249888. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249888>
- Chlebicz, A. y Śliżewska, K. (2018). *Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: A Review*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(5), 863. <https://doi.org/10.3390/ijerph15050863>

- Fitzgerald, C. y Nachamkin, I. (2015). *Campylobacter* and *arcobacter*. En Jorgensen J. H. et al., (11 Edición), *Manual of clinical microbiology*, 998-1012.
- Fonseca, B. B. et al., (2016). *Campylobacter spp. And Related Organisms in Poultry*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-29907-5>
- García-Sánchez, L. et al., (2018). *Campylobacter* in the Food Chain. *Advances in Food and Nutrition Research*, 86, 215-252. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2018.04.005>
- García-García, J. A. et al., (2013). Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Investigación en educación médica*, 2(8), 217-224. [https://doi.org/10.1016/S2007-5057\(13\)72715-7](https://doi.org/10.1016/S2007-5057(13)72715-7)
- Gharst, G. et al., (2013). Review of current methodologies to isolate and identify *Campylobacter spp.* From foods. *Journal of Microbiological Methods*, 95(1), 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.07.014>
- Green, L. H. y Goldman, E. (s. f.). *Practical Handbook of Microbiology*. Routledge & CRC Press. Recuperado 15 de diciembre de 2022, de <https://www.routledge.com/Practical-Handbook-of-Microbiology/Green-Goldman/p/book/9780367567637>
- Hagos, Y. et al., (2021). Isolation, identification, and antimicrobial susceptibility pattern of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from cattle, goat, and chicken meats in Mekelle, Ethiopia. *PloS One*, 16(2), e0246755. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246755>
- Hou, S. et al., (2018). Use of syringe filters to isolate *Campylobacter* species from stool samples. *Journal of Microbiological Methods*, 155, 78-81. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.11.012>

- Hsieh, Y.-H. et al., (2018). A Comparative Evaluation Study of Growth Conditions for Culturing the Isolates of *Campylobacter* spp. *Current Microbiology*, 75(1), 71-78. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1351-6>
- Ingrasa Capaccioni, S. (2017). «*Campylobacter*» epidemiology in broiler production in Eastern Spain. <https://repositorioinstitucional.ceu.es/handle/10637/8580>
- Jeffs, E. et al., (2019). Epidemiology of *Campylobacter* Gastroenteritis in New Zealand Children and the Effect of The *Campylobacter* Strategy: A 20-year Observational Study. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 38(6), 569-576. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000002228>
- Kaakoush, N. O. et al., (2015). Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 687-720. <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-15>
- Karmali, M. A. y Fleming, P. C. (1979). Application of the Fortner principle to isolation of *Campylobacter* from stools. *Journal of Clinical Microbiology*, 10(2), 245-247. <https://doi.org/10.1128/jcm.10.2.245-247.1979>
- Kuhn, K. G. et al., (2018). Epidemiology of campylobacteriosis in Denmark 2000-2015. *Zoonoses and Public Health*, 65(1), 59-66. <https://doi.org/10.1111/zph.12367>
- Larrosa-Haro, A. et al., (2010). Seasonal variation of enteropathogens in infants and preschoolers with acute diarrhea in western Mexico. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 51(4), 534-536. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181df5b66>
- Leber, A. L. (2016). *Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3 Volume Set, 4th Edition* / Wiley. Wiley.Com. <https://www.wiley.com/en->

us/Clinical+Microbiology+Procedures+Handbook%2C+3+Volume+Set%2C+4th+Edition-p-9781683673255

- Mero, S. et al., (2021). Prevalence of diarrhoeal pathogens among children under five years of age with and without diarrhoea in Guinea-Bissau. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(9), e0009709. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009709>
- Moffatt, C. R. M. et al., (2020). Characteristics of *Campylobacter* Gastroenteritis Outbreaks in Australia, 2001 to 2016. *Foodborne Pathogens and Disease*, 17(5), 308-315. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2731>
- Moffatt, C. R. M. et al., (2021). *Campylobacter*-associated hospitalisations in an Australian provincial setting. *BMC Infectious Diseases*, 21(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-05694-0>
- Moya-Salazar, J. et al., (2016). Rendimiento diagnóstico del agar sangre con filtro versus agar karmali para el diagnóstico de *Campylobacter* en coprocultivo. *Horizonte Médico (Lima)*, 16(3), 58-65.
- Moya-Salazar, J. et al., (2018). [High-Antimicrobial Resistance to Fluoroquinolones by *Campylobacter* in Pediatric Patients in a Peruvian Hospital]. *Revista peruana de medicina experimental y salud publica*, 35(1), 156-158. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3607>
- Nachamkin, I. y Nguyen, P. (2017). Isolation of *Campylobacter* Species from Stool Samples by Use of a Filtration Method: Assessment from a United States-Based Population. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(7), 2204-2207. <https://doi.org/10.1128/JCM.00332-17>

Nielsen, H. L. et al., (2015). Polycarbonate filtration technique is noninferior to mCCDA for isolation of *Campylobacter* species from stool samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 83(1), 11-12. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.05.008>

Nielsen, H. L. et al., (2013). Comparison of polycarbonate and cellulose acetate membrane filters for isolation of *Campylobacter concisus* from stool samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 76(4), 549-550. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.05.002>

O'Connor, L. et al., (2020). Epidemiology of *Campylobacter* infections in Ireland 2004-2016: What has changed? *Zoonoses and Public Health*, 67(4), 362-369. <https://doi.org/10.1111/zph.12695>

Park, C. H. et al., (1983). A rapid diagnosis of *Campylobacter* enteritis by direct smear examination. *American journal of clinical pathology*, 80(3), 388-390. <https://doi.org/10.1093/ajcp/80.3.388>

Pollett, S. et al., (2012). *Campylobacter* antimicrobial resistance in Peru: A ten-year observational study. *BMC Infectious Diseases*, 12, 193. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-193>

*Resolución Directoral N°208-2016-INSN-DG. Por la cual se aprueba Manual de Procesos y Procedimientos del Servicio de Microbiología, que consta de 207 folios (CCVII) presentado por Departamento de Investigación Docencia y Atención en Patología del Instituto Nacional de Salud del Niño. 10 de mayo del 2016. (s. f.).*

Resolución Ministerial N°830-2022/MINSA. Por la cual se aprueba la Directiva Sanitaria N° 146-MINSA/CDC-2022, “Directiva Sanitaria para la Vigilancia Epidemiológica de la Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) por *Campylobacter spp.* en hospitales centinelas” (14 de octubre del 2022). Normas legales N° 16861. Diario Oficial El Peruano. (s. f.).

*Resolución Ministerial N°830-2022/MINSA. Por la cual se aprueba la Directiva Sanitaria N° 146-MINSA/CDC-2022, “Directiva Sanitaria para la Vigilancia Epidemiológica de la Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) por Campylobacter spp. En hospitales centinelas” (14 de octubre del 2022). Normas legales N° 16861. Diario Oficial El Peruano.*

Sainato, R. et al., (2018). Epidemiology of *Campylobacter* Infections among Children in Egypt. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98(2), 581-585. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0469>

Samie, A. et al., (2022). Epidemiology of *Campylobacter* infections among children of 0-24 months of age in South Africa. *Archives of Public Health = Archives Belges De Sante Publique*, 80(1), 107. <https://doi.org/10.1186/s13690-022-00850-1>

Schreyer, M. E. et al., (2022). Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* identified in a slaughterhouse in Argentina. *Current Research in Food Science*, 5, 590-597. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.03.005>

Steele, T. W. y McDermott, S. N. (1984). The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of campylobacter *jejuni* from feces. *Pathology*, 16(3), 263-265. <https://doi.org/10.3109/00313028409068535>

Strakova, N. et al., (2021). A Rapid Culture Method for the Detection of *Campylobacter* from Water Environments. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11), 6098. <https://doi.org/10.3390/ijerph18116098>

Tille, P. M. (2017). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. Elsevier. <https://books.google.com.pe/books?id=Rh65jwEACAAJ>

- Tilmanne, A. et al., (2019). Multi-step optimization of the filtration method for the isolation of *Campylobacter* species from stool samples. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 38(5), 859-864. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03479-1>
- Yubero-Delgado, S. (s. f.). *Estudio de los caracteres epidemiológicos y control experimental de "Campylobacter jejuni" en el entorno de la producción de pollos para carne = Study of the epidemiological characteristics and experimental control of "Campylobacter jejuni" in the area of poultry for meat production.* Recuperado 15 de diciembre de 2022, de [https://www.academia.edu/78195884/Estudio\\_de\\_los\\_caracteres\\_epidemiol%C3%B3gicos\\_y\\_control\\_experimental\\_de\\_Campylobacter\\_jejuni\\_en\\_el\\_entorno\\_de\\_la\\_producci%C3%B3n\\_de\\_pollos\\_para\\_carne\\_Study\\_of\\_the\\_epidemiological\\_characteristics\\_and\\_experimental\\_control\\_of\\_Campylobacter\\_jejuni\\_in\\_the\\_area\\_of\\_poultry\\_for\\_meat\\_production](https://www.academia.edu/78195884/Estudio_de_los_caracteres_epidemiol%C3%B3gicos_y_control_experimental_de_Campylobacter_jejuni_en_el_entorno_de_la_producci%C3%B3n_de_pollos_para_carne_Study_of_the_epidemiological_characteristics_and_experimental_control_of_Campylobacter_jejuni_in_the_area_of_poultry_for_meat_production)
- Zerpa, R. et al., (1984). (4-9 de noviembre de 1984). Método práctico y de bajo costo para el cultivo de *Campylobacter jejuni*. 6° Congreso Peruano de Microbiología y Parasitología, Cusco-Perú. 6° Congreso Peruano de Microbiología y Parasitología, Cusco-Perú.
- Zerpa, R. et al., (2004). *Campylobacter lari* en el Instituto Especializado de Salud del Niño. *Anales de la Facultad de Medicina*, 65 (Sup, 2004).

## IX. ANEXOS

## ANEXO A. Matriz de consistencia

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICION	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADOR	VALOR	UNIDAD DE MEDIDA	INSTRUMENTO DE RECOLECCION
Especies de <i>Campylobacter</i>	Cuantitativa	Razón	Número de <i>Campylobacter</i> aislados	Identificación de especie de <i>Campylobacter</i>	Pruebas de Oxidasa, catalasa, hidrólisis del hipurato y examen microscópico de colonias aisladas	Resultado del sistema comercial Vitek2 Compact	Frecuencia y Porcentaje	Resultado de Cultivo de <i>Campylobacter</i> por Servicio de Microbiología
Aislamientos mediante metodología combinada de <i>Campylobacter</i>	Cualitativa	Nominal	Crecimiento de una cepa de <i>Campylobacter</i>	Identificación de especie de <i>Campylobacter</i>	Cepa de <i>Campylobacter</i> aislada por metodología combinada	Aislamiento positivo. Aislamiento negativo	Frecuencia y Porcentaje	Ficha de recolección de datos

## ANEXO B. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE VARIABLE	VALOR FINAL DE LA VARIABLE	INSTRUMENTO DE RECOLECCION
Especies de <i>Campylobacter</i>	Conjunto de especies de <i>Campylobacter</i> aisladas de las heces de niños que acuden al INSN.	Tipo de bacteria según las pruebas de Oxidasa, catalasa, hidrólisis del hipurato y examen microscópico de colonias aisladas	Cuantitativa	De razón	Resultado del sistema comercial Vitek2 Compact: valor >=0	Resultado de Cultivo de <i>Campylobacter</i> por Servicio de Microbiología
Aislamientos mediante metodología combinada de <i>Campylobacter</i>	Delimitación en el crecimiento de una cepa de <i>Campylobacter</i> lograda con la metodología combinada	Cepa observada de la coloración Vago y Gram de <i>Campylobacter</i> aislada por metodología combinada	Cualitativa dicotómica	Nominal	-Aislamiento positivo. -Aislamiento negativo	Ficha de recolección de datos
Aislamientos mediante metodología directa de <i>Campylobacter</i>	Delimitación en el crecimiento de una cepa de <i>Campylobacter</i> lograda con la metodología directa	Cepa de <i>Campylobacter</i> aislada por metodología directa	Cualitativa dicotómica	Nominal	-Aislamiento positivo. -Aislamiento negativo	Ficha de recolección de datos
Sexo	Característica obtenida mediante los datos registrados en la historia clínica de cada paciente.	Sexo tomado de la historia clínica	Cualitativa dicotómica	Nominal	-Masculino -Femenino	Historia clínica
Edad	Valor numérico entero obtenido mediante los datos registrados en la historia clínica de cada paciente.	Valor en números enteros reportado en la historia clínica	Cualitativa dicotómica	ordinal	<5 años >=5 años	Historia clínica
Procedencia	Región obtenida mediante los datos registrados en la historia clínica de cada paciente.	Región de residencia tomada de la historia clínica	Cualitativa politómica	Nominal	Regiones políticas del Perú	Historia clínica
Servicio	Lugar de atención del paciente, obtenida mediante los datos registrados en la historia clínica de cada paciente.	Servicio de atención del paciente, tomada de la historia clínica	Cualitativa dicotómica	ordinal	-Ambulatorio -Hospitalizado	Historia clínica



