



**FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**EFFECTIVIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM EN LA  
IDENTIFICACIÓN DE CAMPYLOBACTER SPP.: UNA  
REVISIÓN SISTEMÁTICA**

**Línea de investigación:**

**Microbiología, parasitología e inmunología**

Tesis para optar el Título profesional de Licenciado en Tecnología Médica en la especialidad  
de Laboratorio y Anatomía Patológica

**Autor:**

Trujillo Loyola, Steven Clanio

**Asesor:**

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique

(ORCID: 0000-0001-9427-9281)

**Jurado:**

Cruz Gonzales, Gloria Esperanza

Lagos Castillo, Moraima Angelica

Lazón Mansilla, David Félix

**Lima – Perú**

**2023**

## Índice de contenido

Índice de tablas .....	4
Índice de figuras.....	5
Resumen.....	6
Abstract.....	7
I. Introducción.....	8
1.1 Descripción y formulación del problema.....	9
1.2 Antecedentes .....	11
1.3 Objetivos .....	15
- Objetivo general .....	15
- Objetivos específicos.....	15
1.4 Justificación.....	15
1.5 Hipótesis.....	17
II. Marco Teórico.....	19
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	19
III. Método .....	29
3.1 Tipo de investigación .....	29
3.2 Ámbito temporal y espacial.....	30
3.3 Variables.....	30
3.4 Población y muestra .....	33
3.5 Instrumentos.....	37
3.6. Procedimientos.....	37

3.8 Consideraciones éticas .....	38
IV. Resultados.....	39
V. Discusión de resultados.....	47
VI. Conclusiones.....	49
VII. Recomendaciones .....	50
VIII. Referencias.....	51
IX. Anexos .....	67

## Índice de tablas

Tabla 1 Operacionalización de las variables.....	32
Tabla 2 Métodos más utilizados en la identificación de <i>Campylobacter</i> spp .....	39
Tabla 3 Resultados de la tinción de Gram y el método Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en la identificación de <i>Campylobacter</i> spp.....	40
Tabla 4 Comparación de los resultados de la Tinción de Gram y el método Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en la identificación de <i>Campylobacter</i> spp .....	41
Tabla 5 Resultados de la tinción de Gram y la prueba de ELISA en la identificación de <i>Campylobacter</i> spp .....	42
Tabla 6 Comparación de los resultados de la tinción de Gram y la prueba de ELISA en la identificación de <i>Campylobacter</i> spp.....	42
Tabla 7 Resultados de la tinción de Gram y la PCR cuantitativa (qPCR) en la identificación de <i>Campylobacter</i> spp .....	43
Tabla 8 Comparación de los resultados de la tinción de Gram y la prueba de qPCR en la identificación de <i>Campylobacter</i> spp.....	44
Tabla 9 Recomendaciones para optimizar el uso de la Tinción de Gram en la identificación de <i>Campylobacter</i> spp .....	45

## Índice de figuras

Figura 1	Típica aparición de <i>Campylobacter spp.</i>	23
Figura 2	Jerarquía de la evidencia.	29
Figura 3	Determinación de la población y muestra.	33
Figura 4	Distribución de la muestra por continente donde se realizó el estudio	34
Figura 5	Distribución de la muestra por año de publicación	35
Figura 6	Distribución de la muestra según idioma por el que fue publicado	36
Figura 7	Distribución de la muestra por país donde se realizó el estudio	36

## Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo general, determinar la efectividad de la tinción de Gram con otras técnicas de laboratorio en la identificación de *Campylobacter spp.* a través de una revisión sistemática. Esta investigación fue de enfoque cualitativo, diseño no experimental y tipo revisión sistemática, siendo la población de 85 artículos científicos que se redujo a muestra de 68 elementos. Los resultados reflejan que los métodos directos son los más utilizados en la identificación de esta bacteria, destacando el uso de PCR con el 61.76%, la tinción de Gram con el 41.18% y el enzimoimmunoanálisis (EIA) con el 7.35%. Al comparar la tinción de Gram con la prueba PCR, se obtuvo una sensibilidad de 87.32, con una especificidad de 99.62, el Valor Predictivo Positivo fue de 92.62 y el Valor Predictivo Negativo fue de 99.33, también se obtuvieron resultados satisfactorios con respecto a ELISA y qPCR. Finalmente, se concluye que se encontró una alta efectividad de la tinción de Gram en la determinación de *Campylobacter spp.* con índice de Kappa de 0.89 con respecto a la prueba PCR, de 1.00 con respecto a la prueba ELISA y de 0.80 al compararla con la qPCR.

**Palabras claves:** *Campylobacter spp.*, tinción de Gram, PCR, efectividad

### Abstract

The general objective of this research was to determine the effectiveness of Gram staining with other laboratory techniques in the identification of *Campylobacter spp.* through a systematic review. This research had a qualitative approach, non-experimental design and systematic review type, with a population of 85 scientific articles that was reduced to a sample of 68 elements. The results show that direct methods are the most used in the identification of this bacterium, highlighting the use of PCR with 61.76%, Gram stain with 41.18% and enzyme immunoassay (EIA) with 7.35%. When comparing the Gram stain with the PCR test, a sensitivity of 87.32 was obtained, with a specificity of 99.62, the Positive Predictive Value was 92.62 and the Negative Predictive Value was 99.33, satisfactory results were also obtained with respect to ELISA and qPCR. Finally, it is concluded that a high effectiveness of the Gram stain was found in the determination of *Campylobacter spp.* with a Kappa index of 0.89 with respect to the PCR test, 1.00 with respect to the ELISA test and 0.80 when compared to the qPCR.

**Keywords:** *Campylobacter spp.*, Gram stain, PCR, effectiveness

## I. Introducción

*Campylobacter spp* es un microorganismo presente en el sistema digestivo de muchos animales salvajes, de granja y de compañía, siendo responsable de la campilobacteriosis, enfermedad infecciosa que se transmite a los humanos por zoonosis. Sin embargo, su identificación, muchas veces es compleja por lo cual se han propuesto diversos métodos de laboratorio, entre ellos: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, PCR cuantitativo en tiempo real (qPCR), Método de genotipificación, Ensayos inmunológicos para *Campylobacter*, y la Tinción de Gram, siendo este último uno de los métodos más empleados por su rapidez y bajo costo.

Gracias al surgimiento de nuevos métodos de identificación que prometen una mayor efectividad, el método de Tinción de Gram se ha visto desplazado, a pesar de su precisión analítica y menor costo por prueba, las cuales han sido comprobadas en investigaciones previas. En este marco, la presente investigación tiene como finalidad evaluar en un contexto global, la efectividad de la tinción de Gram en comparación con otras técnicas de laboratorio en la identificación de *Campylobacter spp*, de modo de tratar de revertir esta tendencia y establecer recomendaciones en dicha técnica que contribuya en su efectividad.

Así, el plan de tesis propuesto brindaría información relevante para el diseño de políticas de salud más eficientes, generando ahorros en tiempo y costos, lo cual es fundamental para evitar las complicaciones de dichas enfermedades infecciosas. Por ello, el documento se organiza en los siguientes capítulos: 1) Introducción que describe el problema de investigación, los antecedentes previos, objetivos y justificación, 2) Marco teórico, 3) Métodos, el cual incluye los procedimientos de investigación empleados para lograr los objetivos y 4) Aspectos administrativos de tiempo y presupuesto.

## 1.1 Descripción y formulación del problema

La Organización Mundial de la Salud (2020) señala que, anualmente, cerca de una de cada diez personas en el mundo experimentan algún tipo de enfermedades que se transmiten por alimentos, lo cual ocasiona la muerte de al menos 33 millones de personas saludables, siendo las enfermedades diarreicas las más frecuentes con 550 millones de casos. Particularmente, en el caso de niños menores de cinco años, las enfermedades diarreicas, originadas por virus, bacterias y parásitos, causan la muerte de al menos 1.3 millones al año (Roy *et al.*, 2015).

*Campylobacter*, la cual se encuentra dentro del grupo de las *Epsilonproteobacterias*, representa una de las primeras causas bacterianas de enfermedades diarreicas que se transmite por el consumo de alimentos a nivel mundial (Dai *et al.*, 2020). La primera evocación de este término, dentro de las infecciones en humanos, se registró en 1886 cuando Escherich reportó haber observado bacterias espirales no cultivables en heces de infantes con cuadros diarreicos, a través de un microscopio óptico y desde entonces su estudio ha constituido innumerables esfuerzos (Leflon-Guibout y Munier, 2016).

Actualmente, el género *Campylobacter* cuenta con 39 especies y 16 subespecies, siendo las especies *C. jejuni* y *C. coli*, las más comunes en humanos y cuya infección obedece principalmente, al consumo de carne de ave y productos derivados de ella; así como al contacto directos con animales (especialmente, pollos, ovejas, perros, gatos, cabras, équidos y cerdos) (Hlashwayo *et al.*, 2020); con un riesgo atribuible de transmisión a humanos de 41% y una presentación clínica variable que va desde diarrea acuosa hasta disentería, que pueden culminar en complicaciones como bacteriemia, hepatitis, abortos y pancreatitis e incluso en artritis reactiva y trastornos neurológicos, como el síndrome de Guillain-Barré (Moya-Salazar *et al.*, 2016).

Aunque, como sugieren Platts-Mills *et al.* (2014) las consecuencias de estas infecciones en el desarrollo infantil no están claras, se ha demostrado que infecciones por *Campylobacter* (tanto sintomática como asintomática) se asocian a un peso deficiente durante la primera infancia en el Perú; en donde anualmente mueren aproximadamente 810 niños con edades inferiores a 5 años por este tipo de enfermedades (Cornejo-Tapia *et al.*, 2017).

El mayor inconveniente para atender esta situación es que, el diagnóstico etiológico de la diarrea en muchos casos no es posible determinarlo con la debida prontitud, esto debido al acceso limitado a instalaciones sanitarias o a la inexistencia de herramientas de diagnósticos apropiadas en la mayoría de los países; especialmente, en las zonas rurales y en aquellos cuyos ingresos son bajos y medios, lo cual refleja gran parte de la dinámica asistencial en nuestro país (Cornejo-Tapia *et al.*, 2017).

En el caso particular del diagnóstico de infección por *Campylobacter*, se requiere poner en práctica diferentes métodos que son variables en cuanto a su rapidez y sensibilidad (Bertholom, 2018). Visto ello, han surgido técnicas de diagnóstico independientes del cultivo, caracterizados por ser más lentos (Ruiz de Alegría-Puig *et al.*, 2016), dentro de las cuales se encuentran los métodos moleculares o los soportados en la detección de antígenos, los cuales permiten no sólo la identificación rápida de este patógeno gastrointestinal, sino la detección oportuna de resultados negativos (Moure *et al.*, 2018).

No obstante, la efectividad en el desempeño de estos métodos alternativos se ha desarrollado en países desarrollados donde la exposición a especies de *Campylobacter*, es esporádica (Platts-Mills *et al.*, 2014). Por otro lado, estos métodos además de costos, siguen requiriendo de los métodos convencionales para la confirmación de la presencia del microorganismo; así como, para la realización de pruebas de susceptibilidad a fármacos y estudios epidemiológicos (Moure *et al.*, 2018; Ruiz de Alegría-Puig *et al.*, 2016).

En este sentido, la presente investigación se centra en resaltar la relevancia de un método de bajo costo, como es la tinción de Gram cuya precisión analítica ha sido comprobada en distintas investigaciones, pero que está siendo desplazado por métodos más novedosos, bajo la creencia de una mayor efectividad.

### **Formulación del problema.**

#### ***-Problema general.***

¿Cuál es la efectividad de la tinción de Gram en comparación con otras técnicas de laboratorio en la identificación de *Campylobacter spp?*

#### ***-Problemas específicos.***

- ¿Cuáles son los métodos más utilizados en la identificación *Campylobacter spp.*?
- ¿Cuáles son las diferencias que se presentan en la sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) de los métodos más utilizados en la identificación *Campylobacter spp?*
- ¿Cuáles propuestas pueden establecerse para la optimización de la efectividad de la tinción de Gram en la identificación *Campylobacter spp.*?

## **1.2 Antecedentes**

### **Antecedentes internacionales.**

Shams *et al.* (2017) desarrollaron el estudio “Evaluation of a multiplex PCR assay for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*”, con el objetivo de diferenciar entre ambas especies contrastando los resultados obtenidos al usar métodos convencionales con el ensayo de PCR. El estudio se desarrolló en uno de los más grandes hospitales de Teherán, Irán con una muestra de 750 casos sospechosos de *Campylobacteriosis*, usándose dos técnicas: i) utilización de tinción

Gram y morfología espiral catalasa y oxidasa positivo, reducción de nitrato positivo y acetato de indoxilo hidrólisis positivo y ii) extracción de ADN y ensayo de PCR multiplex. En función de ello, se identificaron 35 casos positivos, de los cuales 33 (94%) estaban infectados por *Campylobacter jejuni* y solo dos casos (6%) fueron *Campylobacter coli*. Por otra parte, para alcanzar la identificación de *Campylobacter spp.* utilizaron el ensayo PCR multiplex se requiere 400 pb del producto *cadF*, pero para la distinción entre los tipos de especies, éste debe oscilar entre 735 bp y 500 bp usando *hipO* y genes *asp*, respectivamente.

Ruíz de Alegría-Puig *et al.* (2016) realizaron el estudio “Correlación entre el sistema MALDI-TOF Vitek-MS<sup>TM</sup> y los métodos convencionales de identificación de bacterias causantes de infección gastrointestinal”, basado en la determinación del nivel de correlación de estas técnicas para la detección de *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter coli*, *Aeromonas sobria* y *Aeromonas veronii*. El estudio fue realizado en el laboratorio de microbiología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander (España), donde se procesaron 110 muestras de *Campylobacter jejuni* y 12 de *Campylobacter coli*, utilizándose como método de identificación convencional, el cultivo en medios selectivos para *Helicobacter*, la hidrólisis de urea, la prueba de oxidasa y la tinción de Gram, mientras que para la identificación mediante espectrometría de masas de Vitek-MS<sup>TM</sup> (v2 SARAMIS MS-ID, BioMérieux, Marcy-I'Étoile, Francia) y las discrepancias existentes fueron identificadas de manera genotípica, mediante PCR multiplex. Dentro de los resultados destaca que para *Campylobacter spp.*, la correlación entre los métodos utilizados fue del 100%, demostrándose la similitud de ambos métodos en la identificación de este agente bacteriano.

### **Antecedentes nacionales.**

Schiaffino *et al.* (2019) elaboraron el estudio “Antibiotic resistance of *Campylobacter spp.* in a Pediatric Cohor Study” enfocado en la determinación de patrones fenotípicos de resistencia a antibióticos de bajo costo; para lo cual se estudiaron muestras de 303 niños menores de 5 años de tres comunidades al sureste de Iquitos, utilizándose para ello las pruebas de oxidasa, catalasa y la tinción de Gram. De esta manera, entre marzo de 2010 y febrero de 2016, se recolectaron 13,204 muestras distribuidas de la siguiente manera: i) 10,008 estudios de vigilancia (asintomáticos), ii) 3,174 muestras de diarreas y iii) 252 de origen indeterminado, demostrándose una prevalencia de *Campylobacter spp.* para 907 casos, de los cuales 664 fueron de muestras de diarreas (prevalencia de 7.9%) y 252 de muestras provenientes de niños asintomáticos (prevalencia de 6.6%). Asimismo, del total de casos, 596 corresponden a *C. jejuni*.

Ocampo (2017) desarrolló la investigación titulada “Correlación entre la Tinción Gram Interrumpida y el cultivo con filtros con la técnica de la *Klebsiella* en la identificación presuntiva de *Campylobacter sp.* en muestras de heces de niños de un Hospital Nacional de Lima en el período julio 2015 a junio 2016”, con el objetivo de determinar la correlación entre estas dos técnicas laboratoriales en la identificación de *Campylobacter sp* en pacientes del referido centro de salud. De esta manera, se desarrolló un estudio de diseño no experimental-transeccional, enfoque cuantitativo y nivel descriptivo-correlacional, en el cual se recolectaron muestras de heces de 414 pacientes, a las cuales se les realizaron dos pruebas de laboratorio: i) tinción Gram interrumpida (en la cual se agregó cristal violeta por dos minutos) y ii) cultivo con filtro con la técnica de la *Klebsiella*, realizando el cultivo de la muestra en agar Mueller Hinton Sangre y se adicionó un filtro de 0.45  $\mu\text{m}$ , el cual se cortó en

cuatro partes para la reducción de costos. Los resultados demuestran que, con el primer método se encontraron 391 muestras con resultados negativos (94.4%) para *Campylobacter sp.*, mientras que con el segundo este número se ubicó en 371 (89.6%); así, al comparar los resultados obtenidos por ambas técnicas, se determinó un nivel de sensibilidad de 46.5% y una especificidad de 99.2%. Igualmente, se obtuvieron valores predictivo positivo (VPP) y predictivo negativo (VPN) altos de la tinción Gram interrumpida con relación al cultivo con filtro con la técnica de la *Klebsiella*, siendo dichos valores 83.4% y 95.5%, respectivamente, indicando la efectividad del primer método en la identificación de la bacteria señalada. Del estudio, se concluye que existe una correlación de nivel medio entre ambos métodos, con un valor Chi-cuadrado de Pearson de 98.401 ( $p\text{-valor} = 0.000 < 0.05$ ) y un coeficiente Phi de Pearson de 0.481 con un grado de concordancia moderado, obtenido a través de la prueba Índice de Kappa ( $k = 0.575$ ). Adicionalmente, siendo la razón de verosimilitud positiva ( $RV+ = 58.1$ ) mayor que diez y negativa ( $RV- = 0.54$ ) menor que uno, se comprueba que el método de la tinción Gram interrumpida dispone de una buena precisión diagnóstica en la identificación presuntiva de *Campylobacter sp.*

Hanco (2017) elaboró el trabajo de investigación “Factores de riesgo en enfermedades diarreicas agudas asociados a la prevalencia de *Campylobacter jejuni* en niños menores de cinco años en el Hospital Carlos Monge Medrano Juliaca 2014”, utilizando heces recolectadas en el laboratorio de dicho establecimiento de salud y aplicando como métodos de detección la coloración de gran y el cultivo de Medio Campi. Así, se elaboró un estudio descriptivo, observacional, analítico y de corte transversal con una muestra de 65 niños, observándose una prevalencia de 20%. De

manera tal, que se concluye que factores como la crianza de aves, el lavado de manos y el tipo de vivienda se encuentran asociados a esa prevalencia.

### 1.3 Objetivos

#### Objetivo general

- Determinar la efectividad de la tinción de Gram con otras técnicas de laboratorio en la identificación de *Campylobacter spp.* a través de una revisión sistemática.

#### Objetivos específicos

- Identificar los métodos más utilizados en la identificación *Campylobacter spp.* en las investigaciones consultadas.
- Calcular la sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) de los métodos más utilizados en la identificación *Campylobacter spp.* en las investigaciones consultadas.
- Establecer propuestas para la optimización del uso de la tinción de Gram en la identificación *Campylobacter spp.*

### 1.4 Justificación

#### 1.4.1 Justificación teórica.

La discusión respecto a la efectividad de la tinción de Gram en la identificación de microorganismos (especialmente en bacterias, aunque es posible la observación de algunos hongos y parásitos) se ha centrado en que, a pesar de su utilidad en el diagnóstico etiológico, su sensibilidad como técnica es variable, siendo este un indicador que depende del tipo de muestra y de la carga bacteriana. Es así que, comúnmente se acompaña de otras técnicas (principalmente, cultivos microbiológicos) de laboratorio que inciden en el costo que deben asumir el paciente

o el Estado; lo cual, en países en vías de desarrollo, donde la prevalencia de este tipo de infecciones no es esporádica, representa una carga significativa.

Por lo tanto, se requiere profundizar en alternativas que permitan mejorar su rendimiento, siendo por ello necesario revisar la forma en la cual ha sido empleada generando nuevo conocimiento sobre su uso, en cuanto a la higiene dentro del laboratorio, el tipo de colorante, los tiempos del cristal, la contratinción y el procedimiento de decoloración previo a ésta. Sobre la necesidad de continuar enriqueciendo esta discusión científica, se justifica teóricamente la presente investigación.

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

Desde una perspectiva práctica, la investigación contribuyó a establecer una estandarización de la tinción de Gram como técnica en la identificación de *Campylobacter spp.*, basada en las mejores praxis empleadas en estudios previos, con la finalidad de mejorar su rendimiento. Esto sin lugar a dudas, generó ahorros económicos importantes para los involucrados; así como en el tiempo de detección de la infección, lo cual es importante para evitar las complicaciones que se han descrito; particularmente, en niños menores de cinco años y personas inmunodeprimidas.

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

La utilización de experiencias pasadas como fuentes primarias para la construcción de una investigación ha cobrado una vigencia importancia en el área sanitaria; en especial, en la elaboración de guías de atención y procedimentales; sin embargo, es fundamental el uso de una metodología apropiada que permita entre otras cosas la selección de estudios homogéneos entre sí, el aseguramiento de la calidad de los mismos y la valoración de las limitaciones presentes. Visto esto, la

propuesta de revisión sistemática que se empleó se fundamentó en la declaración *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA), lo cual evitó reducir el sesgo presente en dichas fuentes primarias y establecer recomendaciones con cierto nivel de validez; al tiempo que la selección de las fuentes de primarias se realizó de las dos principales bases de datos mundiales de referencias bibliográficas como *Web of Science* (WoS) y Scopus, eligiéndose revistas de alto factor o índice de impacto.

## 1.5 Hipótesis

### Hipótesis general.

**Ha:** La tinción de Gram es la técnica más efectiva en la identificación de *Campylobacter spp.*

**Ho:** La tinción de Gram no es la técnica más efectiva en la identificación de *Campylobacter spp.*

### Hipótesis específicas.

**Ha:** Los métodos directos donde se usa la tinción de Gram son los más utilizados en la identificación *Campylobacter spp.*

**Ho:** Los métodos directos donde se usa la tinción de Gram no son los más utilizados en la identificación *Campylobacter spp.*

**Ha:** Los indicadores de sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) de los métodos convencionales donde se usa la tinción de Gram presentan el mejor desempeño en la identificación.

**Ho:** Los indicadores de sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) de

los métodos convencionales donde se usa la tinción de Gram no presentan el mejor desempeño en la identificación.

**Ha:** Es posible la optimización del uso de la tinción de Gram en la identificación *Campylobacter spp.*

**Ho:** No es posible la optimización del uso de la tinción de Gram en la identificación *Campylobacter spp.*

## II. Marco Teórico

### 2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

#### 2.1.1 *Campylobacter spp.*

Se cree que el primer informe sobre el *Campylobacter* fue en 1886 por Theodore Escherich, quien observó y describió bacterias no cultivables en forma de espiral. Desde su inicio, la estructura taxonómica del género *Campylobacter* ha experimentado extensos cambios, más recientemente, Fernández *et al.* (2008) afirmaron que el género comprende 20 especies y subespecies. Además, se conoce que los *Campylobacter* son la causa de enfermedades en los animales desde 1909, pero se han reconocido generalmente como una causa de enfermedad humana, sólo desde aproximadamente 1980. La familia *Campylobacteraceae* consiste en dos géneros, *Campylobacter* y *Arcobacter*, y ocurren principalmente como comensales en humanos y animales domésticos.

En cuanto a su morfología, el género *Campylobacter* posee pequeñas ( $0.2-0.8\mu\text{m} \times 0.5-5\mu\text{m}$ ) varillas delgadas, curvadas en espiral, y son Gramnegativo. Cuando se agrupan dos o más bacterias las células forman una "V" o una "S". Gran parte de las especies poseen un movimiento como de sacacorchos, por tener un solo flagelo polar sin funda en uno o ambos extremos de la célula. Las únicas particularidades son el *Campylobacter gracilis* que es no móvil y *Campylobacter showae* que tiene múltiples flagelos (Silva *et al.*, 2011).

La actividad de la oxidasa se produce en todas las especies excepto *Campylobacter gracilis*, no se fermentan ni se oxidan carbohidratos; en su lugar obtienen energía de los aminoácidos, o intermedios del ciclo del ácido tricarbóxico. El *Campylobacter jejuni* hidroliza el hipurato, el acetato de indoxilo y reduce Nitrato. Gran parte de las cepas son resistentes a la cefalotina; así como, a las fluoroquinolonas. En condiciones de crecimiento

desfavorables, estos microorganismos poseen la capacidad de formar células viables, pero no cultivables (Silva et al., 2011).

La especie *Campylobacter* es capaz de crecer a un pH entre 6,5 y 7,5 y a temperaturas entre 37° y 42° C. Por esta razón es definida, como termotolerante, pero son incapaces de crecer a temperaturas iguales o superiores a 55° C, y a temperaturas inferiores a 30° C, por la ausencia de los genes que codifican la proteína de choque térmico que desempeñan un papel en la adaptación a las bajas temperaturas (Silva et al., 2011).

### ***Campylobacter spp en humanos.***

En los últimos años, el *Campylobacter spp* se ha transformado en uno de los patógenos de origen alimentario más relevantes, inclusive en los países de altos ingresos. El *Campylobacter spp* es un microorganismo comensal del tracto gastrointestinal de muchos animales salvajes (aves como gaviotas y patos), animales de granja (cerdos y ganado) y animales de compañía (como gatos y perros) y es responsable de las zoonosis. Uno de los mayores riesgos de contaminación radica en manipular o comer carne de pollo cruda o poco cocinada. De hecho, se ha visto que las heces de las aves infectadas pueden contener hasta 105-108 UFC/g estos altos niveles permiten que las bacterias se propaguen fácilmente en el medio ambiente, permitiendo así la contaminación (Facciola et al., 2017).

La transmisión se produce por vía fecal-oral mediante la ingestión de agua y alimentos contaminados. La enfermedad varía desde una diarrea acuosa hasta una diarrea inflamatoria severa con dolor abdominal y fiebre, incluso puede tener algunas complicaciones importantes, como el Síndrome de Guillain-Barré, Síndrome del Intestino Irritable y la Artritis Reactiva (Facciola et al., 2017).

Recientemente, muchos casos de *Campylobacter spp* aislados de infecciones humanas, mostraron una importante resistencia a varios antibióticos como las tetraciclinas y las fluoroquinolonas. Por estas razones, la prevención de esta infección juega un papel

esencial. Existen muchas medidas preventivas para limitar la transmisión de los patógenos y la enfermedad subsiguiente, como la vigilancia sanitaria, la vacunación de las aves de corral y la correcta higiene de los alimentos a lo largo de toda la cadena de producción (Facciolà et al., 2017).

### **2.1.2. Tinción de Gram**

Se considera como una técnica de tinción de laboratorio que distingue entre os grupos de bacterias, mediante la identificación de diferencias en la estructura de sus paredes celulares, por lo que constituye una importante herramienta para la detección bacteriana en cuanto a grupos de Gram-positivos y Gram-negativos; así como, en su identificación morfológica. La técnica de tinción implica una serie de pasos, que se describen a continuación (Sandle, 2004).

- 1- ) Teñir las células bacterianas con cristal violeta. Implica tomar colonias simples (puras) de una placa de agar de bacterias en crecimiento, generalmente con unas 18 a 24 horas y teñir las células con un colorante básico, el cristal violeta, que tiñe todas las células bacterianas azul.
- 2- ) Fijar la tinción. Consiste en añadir una solución de yoduro de potasio: la solución de yodo entra en las células y forma un complejo insoluble en agua con el tinte violeta cristalino.
- 3- ) Usar un disolvente para eliminar la tinción de algunos tipos de bacterias. Las células son tratadas con alcohol o disolvente de acetona donde el complejo yodo-cristalino violeta es soluble; aquí después de la tinción sólo las células Gram-positivas permanecerán teñidas.
- 4- ) Usar una contra tinción. Es el procedimiento, donde las células son tratadas con un contra colorante; es decir, un colorante ácido rojo como safranina, para hacer visibles las células Gram-negativas (decoloradas). Las células Gram-

negativas contrarrestadas aparecen rojas, y las células Gram-positivas permanecen azul. El portaobjetos se examina entonces microscópicamente.

Esta tinción, originalmente fue desarrollada por Christian Gram en 1884 para ayudar a diferenciar las bacterias de las células huéspedes en los tejidos, ha evolucionado como una herramienta para ayudar a los clínicos a decidir la conducta médica y qué antibióticos deben utilizarse para el tratamiento de las infecciones, tomando en cuenta que, los organismos Gram-positivos y Gram-negativos tienen distintas respuestas a algunas clases de agentes antimicrobianos. Aunque la tinción o mancha de Gram no proporciona información filogenética, refleja las relaciones entre muchos microbios clínicamente relevantes (O'Toole, 2016).

Desde su desarrollo, se han acopiado pruebas de que la tinción de Gram, diferencia entre las bacterias en función de su ultra estructura atribuido a la gruesa pared celular de los organismos Gram-positivos, el haber ayudado a retener el Púrpura cristal violeta-yodo al tratarlos con etanol, esto fue confirmado por un trabajo publicado en 1983 en el Journal of Bacteriology, por Beveridge y Davies, donde se demostró la retención diferencial del precipitado de cristal violeta, ayudando a establecer el mecanismo del método (Beveridge y Davies, 1983).

#### ***Tinción de Gram en la identificación de Campylobacter spp.***

El método de tinción de Gram directa es el método más empleado para la identificación de *Campylobacter spp*, logrando suministrar un resultado presunto a los 30 minutos subsiguientes de la recepción de la muestra de heces, a bajo costo y con una alta sensibilidad (Platts-Mills *et al.*, 2014).

En la tinción de Gram, la *Campylobacter spp* no se tiñe adecuadamente con la safranina, de tal manera que ésta se reemplaza por fucsina fenicada, con la cual, se pueden observar bacilos pequeños, monotricos bipolares, curvados en forma de S o de C (Devi,

2019). En la figura 1 se muestra la típica aparición de *Campylobacter spp* posterior a la tinción de Gram observada bajo un microscopio de luz (x100).

### Figura 1

Típica aparición de *Campylobacter spp*.



*Nota.* Tomado de Devi (2019).

Como se mencionó anteriormente, no solamente la tinción de Gram es una excelente opción para la identificación de *Campylobacter spp* por ser un método económico y sencillo, sino que además posee una alta sensibilidad, especificidad, y valor de predicción, como lo indican muchos estudios, como el de Wang y Murdoch (2004), quienes en una de 842 muestras fecales diarreicas de niños, en el método de tinción de Gram una sensibilidad del 89%, una especificidad del 99,7%, un valor predictivo positivo del 97% y un valor predictivo negativo del 99%.

Asimismo, Chanqueo, García, León y Blu (2005) corroboran que la tinción de Gram posee una sensibilidad de 89%, especificidad de 99,7% y valor predictor positivo de 97%. Lo que indica que posee una excelente eficacia en la identificación de *Campylobacter spp*.

Esto debido a que todos parámetros presentados miden la eficacia real de una prueba diagnóstica, a continuación, se presenta una descripción de cada uno, para tener un mayor acercamiento a su significado en el contexto del estudio (Struthers, 2018).

- **Sensibilidad:** es la posibilidad de catalogar de forma correcta a una persona enferma, es decir, de que para una persona enferma se consiga en una prueba diagnóstica con resultado positivo. Midiendo la capacidad que posee la prueba para detectar la patología, cuando este valor supera el 80%, se toma como alta sensibilidad; es decir, que el método o prueba es bueno.
- **Especificidad:** es la posibilidad de que una persona sana tenga un resultado negativo en una prueba; es decir que, con la especificidad lo que se manifiesta son las personas sanas. En el diagnóstico clínico, cuando el valor de especificidad supera el 80%, se considera buena.
- **Valor de predicción positivo (VPP):** posibilidad de poseer la enfermedad si el resultado de la prueba es positivo. Los valores dependen de si la incidencia de una enfermedad determinada en una población es baja, entonces el VPP tiende a ser bajo, porque a mayor número de individuos sanos, se aumenta el número de falsos positivos.
- **Valor de predicción negativo (VPN):** posibilidad de no poseer la enfermedad si el resultado de la prueba es negativo. Los valores dependen de la incidencia de una enfermedad determinada, si es elevada el valor predictivo negativo tiende a bajar porque si hay un gran número de individuos enfermos, se acrecienta el número de falsos negativos.

### 2.1.3 Otros métodos utilizados en la identificación *Campylobacter spp.*

#### *Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional*

Se concibe como una técnica de la biología molecular, que permite la obtención de una gran cantidad de copias de un fragmento de ADN particular, a raíz de un fragmento original. La PCR tiene como utilidad la identificación con una probabilidad elevada de microorganismos causantes de enfermedades, entre otros; por lo que se considera como una técnica muy empleada, pero sobre todo a nivel forense (Ricke et al., 2019).

Por otra parte, numerosos enfoques asentados en la PCR han tenido éxito para la detección de especies de *Campylobacter spp.*, siendo un objetivo central de los ensayos de PCR diferencial el 16S gen del ADNr. Los primeros esfuerzos de Giesendorf (1992) se concentraron en primeros PCR que apuntaban a las regiones variables del 16S genes de ARNr de tres especies de *Campylobacter*: *C. jejuni*, *coli*, y *Lari*. Los estudios se centraron en la PCR oligonucleótidos para cada epíteto de especie junto con un oligonucleótido de *Campylobacter* específico de género, que fueron creados y validados.

A lo largo del tiempo, también se han empleado otras dianas genéticas, que explotan el transporte de las diferencias específicas de los genes en estrechas especies de *Campylobacter* relacionadas. Oyoyo (1992) desarrolló los ensayos de PCR asentados en las regiones aguas arriba específicas de la especie de los genes flagelinos *flaA* y *flaB* para diferenciar *C. jejuni* y *C. coli*. Los géneros de *Campylobacter spp.* y no *Campylobacter* fueron incluido en el análisis para evaluar la especificidad de la detección. Utilizando una plantilla purificada, el ensayo logró una detección general sensibilidad del 98,5%.

Aunque la PCR representa una mejora en comparación con los métodos de cultivo tradicionales apoyados en la microbiología, la identificación específica de *Campylobacter* en matrices mixtas sigue siendo un reto. Esta variabilidad está influenciada por varios factores, como inhibidores de la polimerasa, la presencia de bacterias, material fecal, y bajas cantidades

de células existentes en un gran volumen de muestra. Innovaciones en la PCR han abordado muchas de esas limitaciones, tales como como inhibidores de la reducción, incluyendo un paso de enriquecimiento antes de la PCR, y acoplar el ensayo de PCR con otros ensayos como ELISA para mejorar la sensibilidad del ensayo (Park et al., 2014).

On et al. (2013) destacaron que como nuevos *Campylobacter spp.* son descubiertos, es crítico revalidar la PCR existente ensayos para *C. jejuni* y *C. coli* para reconfirmar la especificidad de la especie y evitar los resultados falsos positivos. Múltiples laboratorios clínicos evaluaron 31 ensayos diferentes de PCR de *Campylobacter* para detectar y diferencian las especies de *Campylobacter*. Los resultados generales de sensibilidad oscilaban entre el 0 y el 100% y la especificidad oscilaban entre el 55 y el 100%.

#### ***PCR cuantitativo en tiempo real (qPCR).***

La qPCR cuantitativa en tiempo real es una variante de la PCR empleada para amplificar y a la vez cuantificar de manera absoluta el producto de la amplificación del ADN. Se considera una metodología moderna para estudiar la expresión génica, de patógenos y secuencias de ácido nucleico intercalando tintes fluorescentes que podrían ser detectados con sistemas especializados de imágenes de láser. Los tintes se acumulan con cada ciclo con una intensidad, que es directamente proporcional a la cantidad de ADN de la plantilla objetivo (Kralik y Ricchi, 2017).

Una mayor sensibilidad de la detección de fluorescencia y la implementación de cámaras especializadas reduce el tiempo que toma para detectar un segmento genético específico. La velocidad y la especificidad de la qPCR permitieron la aplicación generalizada de su uso para la rápida detección y cuantificación de los patógenos transmitidos por los alimentos, como la *Campylobacter spp* (Ricke et al., 2019). Un estudio realizado por do Nascimento et al (2016) denominado “Combination of different methods for detection of

*Campylobacter spp.* in young children with moderate to severe diarrhea” encontró una sensibilidad de 90% y una especificidad de 90%.

#### ***Método de genotipificación.***

Es un proceso que se emplea para establecer diferencias en la estructura genética de una persona examinando la secuencia de ADN mediante ensayos biológicos, se aplica también a los microorganismos como las bacterias y virus para contribuir a controlar la propagación de patógenos, conociéndose como epidemiología molecular. La genotipificación se considera métodos precisos para identificar y clasificar el *Campylobacter* en corto tiempo, permitiendo identificar la fuente de la infección, el vehículo de transmisión, y la incidencia de la campilobacteriosis (Ricke et al., 2019).

La identificación temprana basada en la genética de *Campylobacter spp* se centró en la aplicación de comparaciones de homología de ADN para clasificar y tipificar los aislamientos de *Campylobacter*. A principios de la década de 2000, varios enfoques diferentes de genotipado están disponibles para el *Campylobacter*, incluida la flagelina tipificación de genes, electroforesis en gel de campo pulsado, ribotipado, ADN polimórfico amplificado al azar, amplificado polimorfismo de longitud de fragmentos, análisis PCR-RFLP múltiple y la tipificación de secuencias multilocales (Ricke et al. ,2019).

#### ***Ensayos inmunológicos para Campylobacter.***

Son un conjunto de técnicas inmunoquímicas analíticas de laboratorio que emplean complejos inmunes, para medir una molécula como marcador que forma parte de la reacción con el complejo inmune en el ensayo químico. Su gran especificidad y sensibilidad permite cuantificar los compuestos presentes en líquidos orgánicos en concentraciones reducidas, del orden de picogramos/ml o de nanogramos/ml. El desarrollo del inmunoensayo ha tenido gran relevancia en el diagnóstico médico a través de pruebas de laboratorio (Ricke et al., 2019).

Cabe destacar que, la metodología basada en la inmunidad para la identificación de la transmisión de patógenos incluye ensayos inmunoenzimáticos (ELISA), citometría de flujo e inmunofluorescencia cuantitativa, entre otros, fabricados específicamente para detectar patógenos específicos. Además, los anticuerpos pueden ser modificados, lo que incluye comúnmente la conjugación de varias detecciones como la peroxidasa del rábano, para mejorar la sensibilidad de detección y especificidad de los diversos epítomos objetivo (Alahi y Mukhopadhyay, 2017).

Los métodos inmunológicos dedicados a la detección y la cuantificación de *Campylobacter spp* son un relevante aporte. Gran parte de las primeras investigaciones se centraron en el descubrimiento de antígenos de *Campylobacter* conservados y no específicos de la especie que son atacados por anticuerpos monoclonales, como los lipopolisacáridos, flagelina, y otros antígenos proteicos para la detección de inmunoensayos (Oyarzabal y Battie, 2012).

Desde el desarrollo de los métodos basados en la inmunología, hasta detectar la *Campylobacter*, varios inmunoensayos comerciales han salido al mercado y han sido comparados con métodos de detección no inmunológicos (Ricke et al., 2019). El método de ELISA es el más empleado, un estudio realizado por do Nascimento et al (2016) denominado “Combination of different methods for detection of *Campylobacter spp*. in young children with moderate to severe diarrhea” encontró una sensibilidad de 97% y una especificidad de 80%.

### III. Método

#### 3.1 Tipo de investigación

La presente investigación se enmarcó dentro del enfoque cualitativo, ya que buscó comprender y profundizar en los fenómenos, en este caso mediante una revisión sistémica. Para Hernández *et al.* (2014), la investigación cualitativa “busca comprender la perspectiva de los participantes acerca de los fenómenos que los rodean, profundizar en sus experiencias, perspectivas, opiniones y significados, es decir, la forma en que los participantes perciben subjetivamente su realidad” (p. 364).

Sobre la revisión sistémica, según Moreno *et al.* (2018) constituyen resúmenes estructurados y claros de la información que está disponible direccionada a responder una específica pregunta clínica. Debido a que están compuestas por múltiples fuentes de información y artículos, constituyen el más alto nivel de evidencia en la jerarquía de la evidencia, como se muestra en la figura 2.

#### Figura 2

*Jerarquía de la evidencia*



*Nota.* Tomado de Moreno et al. (2018)

Las revisiones sistemáticas describen el proceso de elaboración comprensible para la recolección, selección, evaluación crítica y resumen de toda la evidencia disponible (Moreno et al., 2018).

Asimismo, es importante destacar, que la investigación contó con un nivel descriptivo y un diseño no experimental, porque no considera la manipulación de variables, fue de corte transversal (Carrasco, 2017).

### **3.2 Ámbito temporal y espacial**

#### **3.2.1 Ámbito temporal**

Temporalmente, el presente estudio tuvo como ámbito los correspondientes a las fuentes de información con años desde el 2012 hasta el 2022.

#### **3.2.2 Ámbito espacial**

En referencia a la delimitación espacial, se tomó en cuenta estudios publicados en inglés o español, realizado en cualquier país.

### **3.3 Variables**

#### **Variables independientes.**

**Tinción de gram:** se consideraron como una técnica de tinción de laboratorio que distingue entre dos grupos de bacterias mediante la identificación de diferencias en la estructura de sus paredes celulares, por lo que constituye una importante herramienta para la identificación bacteriana en cuanto a grupos de Gram-positivos y Gram-negativos, asimismo, como su morfología (Sandle, 2004).

**Otras técnicas de laboratorio:** Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, PCR cuantitativo en tiempo real (qPCR), Método de genotipificación y ensayos inmunológicos para *Campylobacter*

**Variable dependiente. Identificación de *Campylobacter spp.*:** el *Campylobacter spp* es un microorganismo comensal del tracto gastrointestinal de muchos animales salvajes (aves

como gaviotas y patos), animales de granja (cerdos y ganado) y animales de compañía (como gatos y perros) y es responsable de la campilobacteriosis. Su identificación, muchas veces es compleja por lo que se han creado gran cantidad de métodos de laboratorio que brindan opciones para para poder identificar estas bacterias Gramnegativas (Silva et al., 2011). Aquí se incluyen los métodos: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, PCR cuantitativo en tiempo real (qPCR), Método de genotipificación y Ensayos inmunológicos para *Campylobacter*.

**Tabla 1***Operacionalización de las variables*

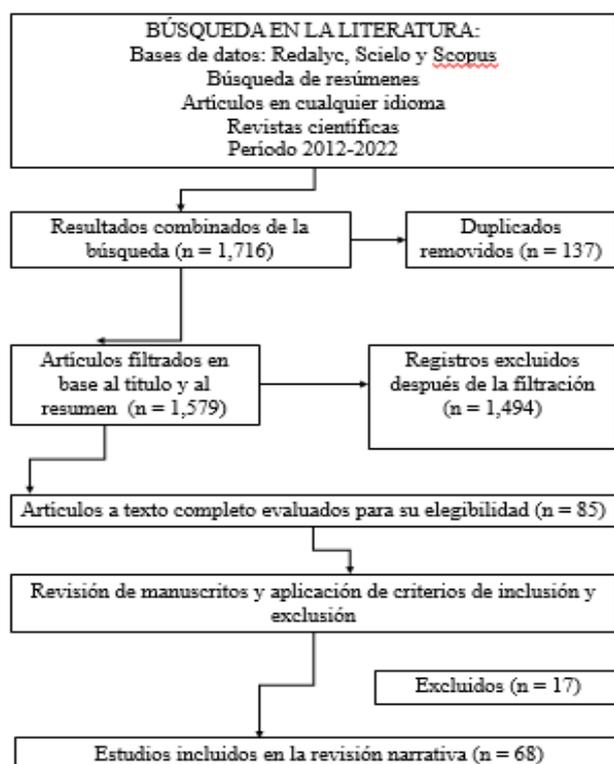
VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTO
<b>Variable independiente</b>		Sensibilidad	- Nivel de sensibilidad bueno (>80%) - Nivel de sensibilidad inadecuado ( $\leq$ 80%)	
Tinción de Gram	Se considera como una técnica de tinción de laboratorio que distingue entre dos grupos de bacterias mediante la identificación de diferencias en la estructura de sus paredes celulares, por lo que constituye una importante herramienta para la identificación bacteriana en cuanto a grupos de Gram-positivos y Gram-negativos, asimismo, como su morfología (Sandle, 2004).	Especificidad	-Nivel de especificidad bueno (>80%) -Nivel de especificidad inadecuado ( $\leq$ 80%)	
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) Convencional		Valor de predicción positivo (VPP)	-Resultados positivos en enfermos. -Total de resultados positivos.	
PCR cuantitativo en tiempo real (qPCR)		Valor de predicción negativo (VPN)	-Resultados negativos en sanos. -Total de resultados negativos.	Ficha de recolección
Método de genotipificación				
Ensayos inmunológicos para <i>Campylobacter</i>				
<b>Variable dependiente</b>		Casos negativos	Porcentaje de casos (%)	
Identificación de <i>Campylobacter spp</i>	El <i>Campylobacter spp</i> es un microorganismo comensal del tracto gastrointestinal de muchos animales salvajes (aves como gaviotas y patos), animales de granja (cerdos y ganado) y animales de compañía (como gatos y perros) y es responsable de la campilobacteriosis. Su identificación, muchas veces es compleja por lo que se han creado gran cantidad de métodos de laboratorio que brindan opciones para poder identificar estas bacterias Gramnegativas (Silva et al., 2011). Aquí se incluyen los métodos: Reacción en cadena de la polimerasa	Casos positivos	Porcentaje de casos (%)	

### 3.4 Población y muestra

Según Hernández *et al.* (2014), la población se define como el conjunto de elementos a los cuales atiende un trabajo de investigación y que permiten generar los resultados. Para definir la población se utilizó una estrategia de búsqueda en Scopus, Scielo y Redalyc, considerando como palabra clave: *Campylobacter spp.* La revisión abarcó estudios publicados en español e inglés publicados entre el 01-01-2012 y el 28/02/2022, lo cual arrojó una cantidad de artículos científicos de 1,716, de los cuales 137 estaban duplicados y redujo la cantidad a 1,579. De esta cantidad de investigaciones, se excluyeron 1,494 al revisarse el resumen y el título, considerándose que el propósito del estudio no se enmarcaba en la identificación de *Campylobacter spp.*; por lo tanto, la población fue de 85 artículos como se muestra en la figura 3.

**Figura 3**

*Determinación de la población y muestra*



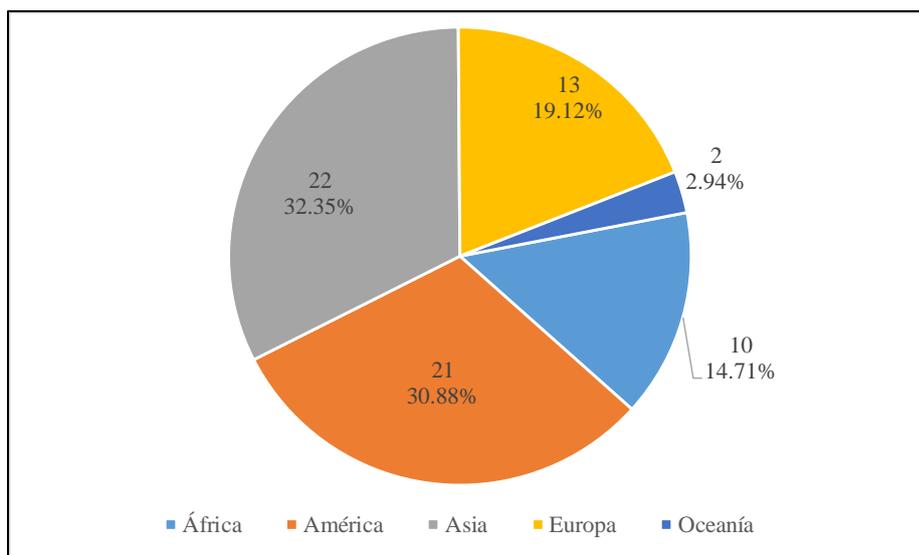
Luego, para el cálculo de la muestra, se aplicaron los siguientes criterios:

- Criterios de inclusión. (i) Artículos científicos que identifiquen frecuencia de positividad de *Campylobacter spp.* para una población humana, (ii) artículos científicos que expliquen el método de detección y (iii) artículos científicos que demuestren coherencia metodológica en la determinación de resultados.
- Criterios de exclusión. (i) Artículos científicos correspondientes a revisiones sistemáticas, reseñas y editoriales y (ii) artículos científicos cuyas cifras se basan en fuentes externas oficiales, como base de datos de sistemas públicos.

De esta manera, al incorporar estos criterios, se excluyeron 17 estudios, tal como se indica en la figura 3, finalizándose con una muestra de 68 artículos, los cuales se distribuyen según origen (continente), año, idioma y base de datos donde se encontró según lo expresado en las figuras 4, 5, 6 y 7.

#### Figura 4

*Distribución de la muestra por continente donde se realizó el estudio*

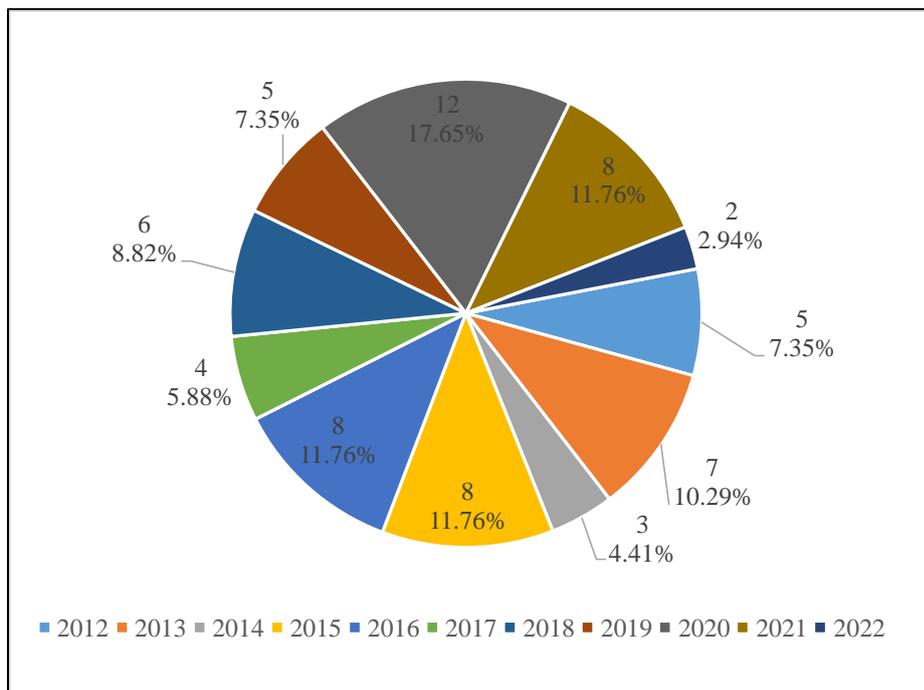


Según lo expresado en la figura 4, el 32.35% (n = 22) de los estudios fueron realizados en Asia (destacando China con 5 y Bangladesh e India con 3), el 30.88% (n = 21) se desarrollaron en América (destacando Estados Unidos con 5 y Brasil con 3), el 19.12% (n =

13) en Europa (destacando España con 3), el 14.71% (n = 10) en África (destacando Etiopía con 3) y el 2.94% (n = 2) en Oceanía (ambos en Papua Nueva Guinea).

### Figura 5

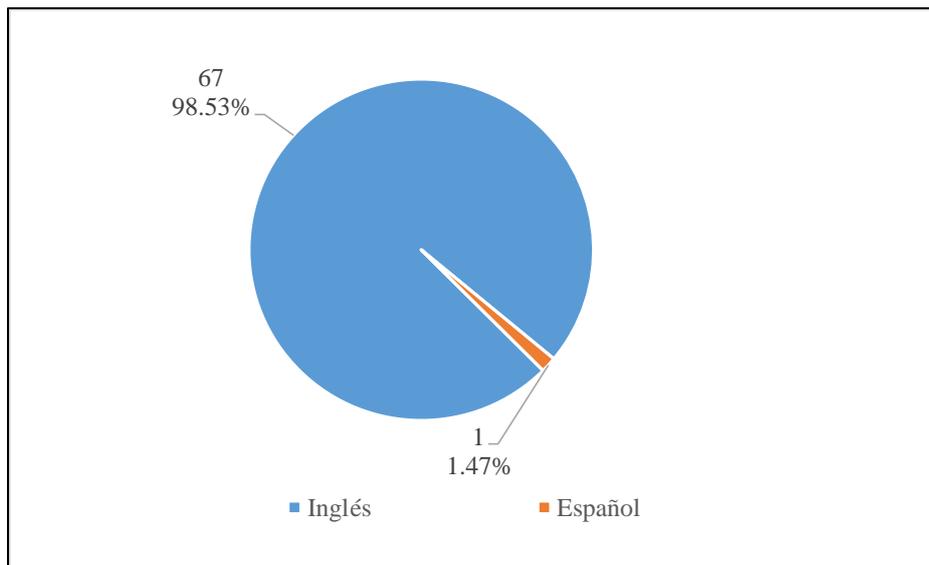
*Distribución de la muestra por año de publicación*



Con base a lo reflejado en la figura 5, el 17.65% (n = 12) de los estudios se publicaron en 2020, mientras que un 11.76% (n = 8) fueron publicados en 2015, 2016 y 2021. El 10.29% (n = 7) correspondieron al año 2013, el 8.82% (n = 6) al año 2018 y el 7.35% (n = 5) tanto para el 2012 como el 2020. Finalmente, en el año 2017 se publicó el 5.88% (n = 4) de los artículos analizados, el 4.41% (n = 3) en el 2014 y el 2.94% (n = 2) en el 2022.

**Figura 6**

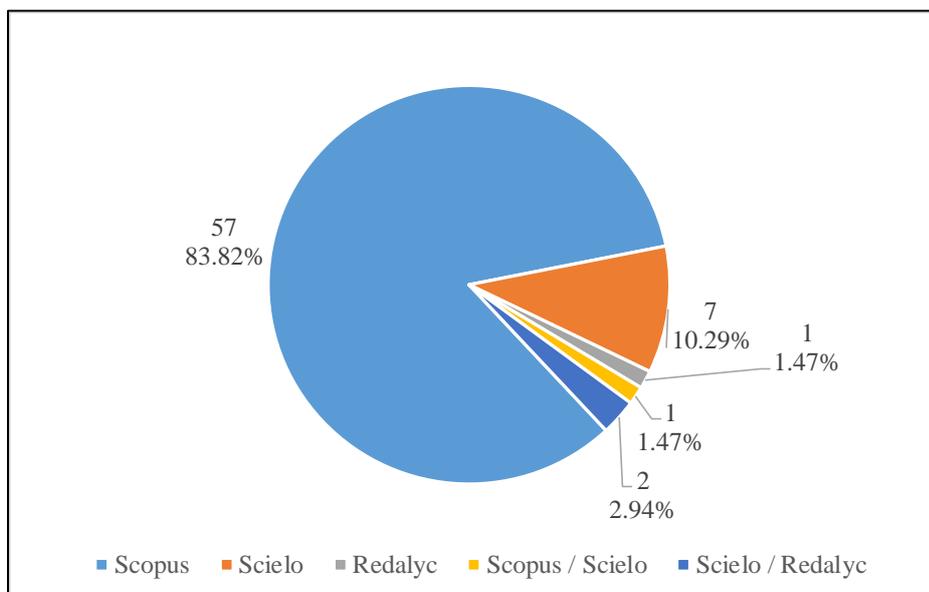
*Distribución de la muestra según idioma por el que fue publicado*



De acuerdo a la figura 6, el 98.53% (n = 67) de los artículos científicos analizados fueron publicados en idioma inglés, mientras que el 1.47% (n = 1) se publicaron en idioma español.

**Figura 7**

*Distribución de la muestra por país donde se realizó el estudio*



De la figura 7, se aprecia que el 83.82% (n = 57) fueron publicados en Scopus, el 10.29% (n = 7) se publicaron en Scielo, el 2.94% (n = 2) se publicaron en Scielo / Redalyc y el 1.47% (n = 1) se encontraron en Redalyc y el restante 1.47% en Scopus y Scielo.

### **3.5 Instrumentos**

Debido a la naturaleza cualitativa de la investigación, se empleó la técnica de la revisión documental y como instrumento, una ficha de recolección de datos del artículo que permitió conocer aspectos claves como: título, autores, año de publicación, métodos de identificación de *Campylobacter Spp* utilizados, sensibilidad, especificidad, valor de predicción positivo (VPP), valor de predicción negativo (VPN), recomendaciones para optimizar los métodos de detección y referencia bibliográfica.

### **3.6. Procedimientos**

Los procedimientos empleados en la revisión sistemática se basaron en los siguientes pasos:

Paso 1: Enmarcar las preguntas claves

Es decir, se definieron los problemas en forma de preguntas claras sin ambigüedades y estructuradas antes de comenzar la labor de revisión.

Paso 2: Identificación de los estudios

Consistió en la búsqueda de artículos científicos aplicando los términos claves definidos en la población, así como también los criterios de inclusión y exclusión.

Paso 3: Evaluación de la calidad de los estudios

Residió en inspeccionar la calidad de los estudios en conformidad al nivel de información extraída y la heterogeneidad del contenido.

Paso 4: Resumir las pruebas

Radicó en la tabulación de las características, y las implicaciones de efectividad de los métodos en los estudios, así como también en la utilización de procedimientos

estadísticos descriptivos explorando las diferencias y semejanzas entre los artículos evaluados.

#### Paso 5: Interpretar los hallazgos

Consistió en reflexionar sobre los hallazgos encontrados y la posibilidad de utilizarse para generalizarse. Asimismo, se generaron las recomendaciones de optimización de la Tinción de Gram en función de los puntos fuertes y débiles de los métodos evaluados.

### **3.7 Análisis de datos**

Se efectuó mediante tablas de resultados descriptivos y diagramas de relaciones para demostrar la efectividad de los métodos estudiados. Incluyó también el análisis de los datos en relación con la variación entre los estudios (heterogeneidad).

### **3.8 Consideraciones éticas**

Dada la naturaleza documental la investigación, no implicó riesgos éticos de consideración, asimismo, se respetó el derecho de autor y los métodos de citación respectivos.

#### IV. Resultados

En esta sección se presentan los hallazgos obtenidos que serán presentados por cada objetivo, debe destacarse que los resultados alcanzados provienen del análisis de los artículos científicos seleccionados.

#### **Objetivo específico N° 1: Identificar los métodos más utilizados en la identificación *Campylobacter spp.* en las investigaciones consultadas**

**Tabla 2**

*Métodos más utilizados en la identificación de Campylobacter spp*

N°	Método	Cantidad de artículos donde se emplea	%
1	PCR	42	61.76%
2	Tinción de Gram	28	41.18%
3	EIA (ELISA)	5	7.35%
4	FilmArray	3	4.41%
5	Coprocultivo en agar sangre mediante el método de filtración	1	1.47%
6	Ensayo diagnóstico molecular (multiplex xTAG Gastrointestinal Panel)	1	1.47%
7	Ensayo EntericBio Gastro Panel I en tiempo real	1	1.47%
8	EntericBio Panel II (DNA y PCR)	1	1.47%
9	Método de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP)	1	1.47%
10	Método de difusión en disco en agar sangre	1	1.47%
11	Método de filtro de membrana	1	1.47%
12	Prueba de hemaglutinación	1	1.47%
13	Secuenciación de ARN meta-total	1	1.47%
14	Pruebas bioquímicas convencionales (Oxidasa-Catalasa)	1	1.47%
15	Skirrow	1	1.47%

De acuerdo a lo presentado en la tabla 2, se observa que en los 68 artículos científicos consultados se emplearon (individual o conjuntamente) un total de 15 métodos distintos. Así, se aprecia que en el 61.76% (n = 42) de los artículos consultados se utilizó el método PCR para la identificación de *Campylobacter spp.*, mientras que el 41.18% (n = 28) se usó la tinción de Gram, el 7.35% (n = 5) se empleó el enzimoimmunoanálisis (EIA) y en el 4.41% (n = 3) la prueba FilmArray.

**Objetivo específico N° 2: Calcular la sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) de los métodos más utilizados en la identificación *Campylobacter spp.* en las investigaciones consultadas.**

**Tabla 3**

*Resultados de la tinción de Gram y el método Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en la identificación de Campylobacter spp*

N°	Autor	Tinción de Gram		PCR		Total
		Total positivo n (%)	Total negativo n (%)	Total positivo n (%)	Total negativo n (%)	
1	Lowenstein <i>et al.</i> (2020)	11 (3.59%)	295 (96.41%)	11 (3.59%)	295 (96.41%)	306
2	Metreveli <i>et al.</i> (2022)	45 (11.78%)	337 (38.22%)	26 (6.81%)	356 (93.19%)	382
3	Kellner <i>et al.</i> (2019)	23 (0.74%)	3,066 (99.26%)	22 (0.71%)	3,067 (99.29%)	3,089
4	Kawase <i>et al.</i> (2016)	12 (25.53%)	35 (74.47%)	20 (42.55%)	27 (57.45%)	47
5	Fitzgerald <i>et al.</i> (2015)	86 (3.11%)	2,681 (96.89%)	95 (3.43%)	2,672 (96,57%)	2,767
6	Sinha <i>et al.</i> (2013)	8 (6.56%)	114 (93.44%)	11 (9.02%)	111 (90.78%)	122
7	de Boer <i>et al.</i> (2012)	20 (4.06%)	473 (45.94%)	28 (5.68%)	465 (94.32%)	493
8	Fiedoruk <i>et al.</i> (2015)	13 (11.40%)	101 (88.60%)	13 (11.40%)	101 (88.60%)	114
9	Rahman <i>et al.</i> (2021)	104 (31.52%)	226 (68.48%)	104 (31.52%)	226 (68.48%)	330
10	Khalaf y Abdulrahman (2020)	34 (17.00%)	166 (83.00%)	26 (13.00%)	174 (87.00%)	200
11	Barati <i>et al.</i> (2021)	19 (6.71%)	264 (93.29%)	42 (14.84%)	241 (85.16%)	283
12	Do Nascimento <i>et al.</i> (2016)	20 (13.07%)	133 (86.93%)	18 (11.76%)	135 (88.24%)	153
Total		395 (4.77%)	7,891 (95.23%)	416 (5.02%)	7,870 (94.98%)	8,286

De acuerdo a lo presentado en la tabla 3, se aprecia que en 12 artículos científicos comparan los resultados de positividad obtenidos entre la tinción de Gram en la identificación de *Campylobacter spp.* con lo determinado por la prueba PCR, esto engloba la cifra de 8,286 individuos que fueron sometidos conjuntamente a dicha evaluación. Así, de acuerdo a la tinción de Gram, se aprecia un porcentaje de positividad de 4.77% con 395 casos, mientras que se

evidenció un total de 7,891 casos negativos (95.23%). Por otra parte, con el empleo del PCR se obtuvo una positividad de 5.02% (n = 416) y un total de 7,870 casos negativos (94.98%).

Se aprecia que en tres estudios analizados no se apreciaron diferencias, siendo ellos los realizados por Lowenstein *et al.* (2020) con niños de una comunidad rural del Ecuador, Fiedoruk *et al.* (2015) con niños de hasta 15 años admitidos en hospitales públicos por diarrea en Polonia y Rahman *et al.* (2021) con pacientes admitidos en un hospital por diferentes síntomas de gastroenteritis aguda en Bangladesh.

**Tabla 4**

*Comparación de los resultados de la Tinción de Gram y el método Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en la identificación de Campylobacter spp*

Resultados	PCR		Total	
	Positivos	Negativos		
Tinción de Gram	Positivos	VP = 365	FP = 30	VP + FP = 395
	Negativos	FN = 53	VN = 7,838	FN + VN = 7,891
Total	VP + FN = 418	FP + VN = 7,868	N = 8,266	

- Sensibilidad diagnóstica =  $\frac{VP}{VP+FN} * 100 = \frac{365}{418} * 100 = 87.32$
- Especificidad diagnóstica =  $\frac{VN}{VN+FP} * 100 = \frac{7,838}{7,868} * 100 = 99.62$
- Cálculo del Valor Predictivo Positivo =  $100 * \frac{VP}{VP+FP} = 100 * \frac{365}{395} = 92.41$
- Cálculo del Valor Predictivo Negativo =  $100 * \frac{VN}{VN+FN} = 100 * \frac{7,838}{7,891} = 99.33$

De la tabla 4, se puede apreciar que la sensibilidad de la tinción de Gram en la determinación de *Campylobacter spp.* fue de 87.32, con una especificidad de 99.62. Además, el Valor Predictivo Positivo fue de 92.41 y el Valor Predictivo Negativo fue de 99.33.

**Tabla 5**

*Resultados de la tinción de Gram y la prueba de ELISA en la identificación de Campylobacter spp*

Autor	Tinción de Gram		ELISA		Total
	Total positivo	Total negativo	Total positivo	Total negativo	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Do Nascimento <i>et al.</i> (2016)	20 (13.07%)	133 (86.93%)	20 (13.07%)	133 (86.93%)	153
Total	20 (13.07%)	133 (86.93%)	20 (13.07%)	133 (86.93%)	153

De acuerdo a lo presentado en la tabla 5, se aprecia que un solo artículo científico compara los resultados de positividad obtenidos entre la tinción de Gram con lo determinado por la prueba de ELISA en la identificación de *Campylobacter spp.*, esto engloba la cifra de 153 individuos que fueron sometidos conjuntamente a dicha evaluación y se refiere al artículo científico elaborado por Do Nascimento *et al.* (2016) con niños de 0 a 36 meses que asisten por diarrea a un hospital de Brasil.

Se aprecia que en ambos estudios la positividad en la identificación de *Campylobacter spp.* se ubicó en 13.07% con 20 casos de un total de 153 pacientes evaluados por dichos autores, así la cantidad de casos negativos fue de 86.93% (n = 133).

**Tabla 6**

*Comparación de los resultados de la tinción de Gram y la prueba de ELISA en la identificación de Campylobacter spp*

Resultados	ELISA		Total
	Positivos	Negativos	
Tinción de Gram	Positivos	VP = 20	VP + FP = 20
	Negativos	FN = 0	FN + VN = 133
Total	VP + FN = 20	FP + VN = 133	N = 153

- Sensibilidad diagnóstica =  $\frac{VP}{VP+FN} * 100 = \frac{20}{20} * 100 = 100.00$
- Especificidad diagnóstica =  $\frac{VN}{VN+FP} * 100 = \frac{133}{133} * 100 = 100.00$
- Cálculo del Valor Predictivo Positivo =  $100 * \frac{VP}{VP+FP} = 100 * \frac{20}{20} = 100.00$

- Cálculo del Valor Predictivo Negativo =  $100 * \frac{VN}{VN+FN} = 100 * \frac{133}{133} = 100.00$

De la tabla 6, se puede apreciar que la sensibilidad, la especificidad, el Valor Predictivo Positivo y el Valor Predictivo Negativo fue de 100.00 de la tinción de Gram en la determinación de *Campylobacter spp.*

### Tabla 7

*Resultados de la tinción de Gram y la PCR cuantitativa (qPCR) en la identificación de Campylobacter spp*

Autor	Tinción de Gram		qPCR		Total
	Total positivo n (%)	Total negativo n (%)	Total positivo n (%)	Total negativo n (%)	
Do Nascimento <i>et al.</i> (2016)	20 (13.07%)	133 (86.93%)	14 (9.15%)	139 (90.83%)	153
Total	20 (13.07%)	133 (86.93%)	14 (9.15%)	139 (90.83%)	153

De acuerdo a lo presentado en la tabla 7, se aprecia que un solo artículo científico compara los resultados de positividad obtenidos entre la tinción de Gram con lo determinado por la PCR cuantitativa (qPCR) en la identificación de *Campylobacter spp.*, esto engloba la cifra de 153 individuos que fueron sometidos conjuntamente a dicha evaluación y se refiere al artículo científico elaborado por Do Nascimento *et al.* (2016) con niños de 0 a 36 meses que asisten por diarrea a un hospital de Brasil.

Se aprecia que, conforme a la tinción de Gram, la positividad en la identificación de *Campylobacter spp.* se ubicó en 13.07% con 20 casos de un total de 153 pacientes evaluados por dichos autores, así la cantidad de casos negativos fue de 86.93% (n = 133), mientras que, con la qPCR, la positividad se ubicó en 9.15% (n = 14) y los casos negativos en 139 (90.83%).

**Tabla 8**

*Comparación de los resultados de la tinción de Gram y la prueba de qPCR en la identificación de Campylobacter spp*

Resultados	qPCR		Total	
	Positivos	Negativos		
Tinción de Gram	Positivos	VP = 14	FP = 6	VP + FP = 20
	Negativos	FN = 0	VN = 133	FN + VN = 133
Total	VP + FN = 14	FP + VN = 139	N = 153	

- Sensibilidad diagnóstica =  $\frac{VP}{VP+FN} * 100 = \frac{14}{14} * 100 = 100.00$
- Especificidad diagnóstica =  $\frac{VN}{VN+FP} * 100 = \frac{133}{139} * 100 = 95.68$
- Cálculo del Valor Predictivo Positivo =  $100 * \frac{VP}{VP+FP} = 100 * \frac{14}{20} = 70.00$
- Cálculo del Valor Predictivo Negativo =  $100 * \frac{VN}{VN+FN} = 100 * \frac{133}{133} = 100.00$

De la tabla 8, se puede apreciar que la sensibilidad de la tinción de Gram en la determinación de *Campylobacter spp.* fue de 100.00, con una especificidad de 95.68. Además, el Valor Predictivo Positivo fue de 70.00 y el Valor Predictivo Negativo fue de 100.00.

**Objetivo específico N° 3: Establecer propuestas para la optimización del uso de la tinción de Gram en la identificación *Campylobacter spp.***

En la tabla 9, se observa que la principal recomendación en el uso de la tinción de Gram para la identificación de *Campylobacter spp.* se refiere a la necesidad de confirmar la presencia y el tipo de especie a través de PCR, tal como señalan Lowenstein *et al.* (2015), Li *et al.* (2018) y Barati *et al.* (2021). Sin embargo, del estudio de Metreveli *et al.* (2015) queda claro que es necesario identificar el estado de la *Campylobacter spp.*, para identificar el método más eficaz en la detección.

**Tabla 9**

*Recomendaciones para optimizar el uso de la Tinción de Gram en la identificación de Campylobacter spp*

Autor	Recomendación
Lowenstein <i>et al.</i> (2015)	Se debe confirmar la presencia y tipo de especie a través de PCR
Metreveli <i>et al.</i> (2015)	Considerando, la microbiota de fondo y del estado de la <i>Campylobacter spp.</i> , es bien sabido que la elección de medios selectivos puede influir en la eficacia de detección
Kawase <i>et al.</i> (2016)	Cebadores utilizados para RFBS24 ver. 5: para mejorar la RFBS24, se rediseñaron 13 pares de cebadores y se combinación apropiada de pares de cebadores fue cuidadosamente dispuestos en 8 juegos.
Li <i>et al.</i> (2018)	Las colonias sospechosas fueron recogidas e identificadas por tinción de Gram y pruebas bioquímicas. Se utilizaron múltiples pruebas de PCR para confirmar e identificar la especie según el estudio anterior
Barati <i>et al.</i> (2021)	También se realizaron exámenes moleculares para evaluar e identificar con precisión las especies de <i>Campylobacter</i> .

**Objetivo general: Determinar la efectividad de la tinción de Gram con otras técnicas de laboratorio en la identificación de *Campylobacter spp.* a través de una revisión sistemática.**

Para la determinación de la efectividad de la tinción de Gram con otras técnicas de laboratorio en la identificación de *Campylobacter spp.*, se aplicó el índice Kappa encontrándose que al comparar los resultados de tinción de Gram con lo hallado a través de la prueba PCR se aprecia un valor de 0.89, que lo ubica en el nivel casi perfecto.

- Índice Kappa =  $\frac{P_0 - P_e}{1 - P_e} = \frac{0.99 - 0.91}{1 - 0.91} = 0.89$

$$P_0 = \frac{a + d}{N} = \frac{347 + 7,705}{8,133} = 0.99$$

$$P_e = \frac{t * r + u * s}{n * n} = \frac{400 * 375 + 7,733 * 7,758}{8,133 * 8,133} = 0.91$$

Obviamente, dada la similitud en la positividad en la identificación de *Campylobacter spp.*, entre la tinción de Gram y la prueba de ELISA, el índice Kappa resultante será de 1, lo que refleja un nivel perfecto.

Por otra parte, el índice Kappa al comparar los resultados de tinción de Gram con lo hallado a través de la prueba PCR se ubicó en 0.80, que lo ubica en el nivel casi perfecto.

- Índice Kappa =  $\frac{P_0 - P_e}{1 - P_e} = \frac{0.96 - 0.80}{1 - 0.80} = 0.80$

$$P_0 = \frac{a + d}{N} = \frac{14 + 133}{153} = 0.96$$

$$P_e = \frac{t * r + u * s}{n * n} = \frac{14 * 20 + 139 * 133}{153 * 153} = 0.80$$

## V. Discusión de resultados

Con base al primer objetivo específico N° 1, se observa que, de acuerdo a la consulta de los 68 artículos científicos, los métodos PCR con una frecuencia de 61.76%, la tinción de Gram con 41.18% y el inmunoensayo enzimático con 7.35% fueron las técnicas más utilizadas en la detección de *Campylobacter spp.*, lo cual permite confirmar la hipótesis relativa a que los métodos directos donde se usa la tinción de Gram son los más utilizados en la identificación *Campylobacter spp.*

Este resultado también fue confirmado en los trabajos de Shams *et al.* (2017) quienes utilizaron el ensayo PCR y la tinción de Gram en la identificación de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*; así como, el de Schaffino *et al.* (2019), donde se emplearon las pruebas de oxidasa, catalasa y la tinción de Gram. Adicionalmente, en los estudios de Ruíz de Alegría-Puig *et al.* (2016) y de Ocampo (2017) también se comprueba el uso de la prueba PCR, la prueba de oxidasa y la tinción de Gram. Incluso, en el estudio de Hanco (2017) solo se empleó la tinción de Gram en la identificación de esta bacteria.

En lo que respecta al segundo objetivo específico, se determinó que al comparar la tinción de Gram con la prueba PCR en la identificación de *Campylobacter spp.*, la sensibilidad diagnóstica fue de 87.32, con una especificidad de 99.62. Además, el Valor Predictivo Positivo fue de 92.62 y el Valor Predictivo Negativo fue de 99.33. No obstante, al compararla con la prueba ELISA, los valores de la sensibilidad, la especificidad, el Valor Predictivo Positivo y el Valor Predictivo Negativo fue de 100.00 y con respecto a la prueba qPCR se obtuvo una sensibilidad diagnóstica de 100.00, con una especificidad de 95.68. Además, el Valor Predictivo Positivo fue de 70.00 y el Valor Predictivo Negativo fue de 100.00.

En relación a lo anterior, se comprueba la segunda hipótesis del estudio, en relación a que los indicadores de sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) de los métodos convencionales donde se usa la tinción de

Gram presentan el mejor desempeño en la identificación. Esto se encuentra perfectamente alineado a los resultados de Shams *et al.* (2017) y Ruíz de Alegría-Puig *et al.* (2016) donde la prueba PCR confirmó todos los casos sospechosos de la presencia de dicha bacteria que se obtuvieron con la tinción de Gram.

Por otra parte, estos resultados son superiores a los que obtuvo Ocampo (2017), cuyo estudio centrado en comparar la tinción de Gram con el cultivo de la muestra en agar Mueller Hinton Sangre y se adicionó un filtro de 0.45  $\mu\text{m}$ , obtuvo sensibilidad de 46.5% y una especificidad de 99.2%. Además, determinó valores predictivo positivo (VPP) y predictivo negativo (VPN) altos de la tinción Gram interrumpida con relación al cultivo con filtro con la técnica de la *Klebsiella*, siendo dichos valores 83.4% y 95.5%.

En cuanto al tercer objetivo específico, se encontró que la principal recomendación en el uso de la tinción de Gram para la identificación de *Campylobacter spp.* se refiere a la necesidad de confirmar la presencia y el tipo de especie a través de PCR, esto permite rechazar la tercera hipótesis específica del estudio en relación a que no es posible la optimización del uso de la tinción de Gram en la identificación *Campylobacter spp.*, siendo lo mejor acompañarla con otras técnicas como se aprecia en todos los estudios que sirvieron de antecedentes.

Finalmente, se encontró una alta efectividad de la tinción de Gram en la determinación de *Campylobacter spp.* con índice de Kappa de 0.89 con respecto a la prueba PCR, de 1.00 con respecto a la prueba ELISA y de 0.80 al compararla con la qPCR; no obstante, si bien estos valores se ubican en el nivel casi perfecto, no es posible confirmar la hipótesis general que a tinción de Gram es la técnica más efectiva en la identificación de *Campylobacter spp.* A pesar de ello, se obtuvo un valor mayor al calculado por Ocampo (2017), en la comparación de la tinción de Gram con el cultivo de la muestra en agar Mueller Hinton Sangre, donde obtuvo un valor del índice de 0.575.

## VI. Conclusiones

- Se concluye que la tinción de Gram no es la técnica más efectiva en la identificación de *Campylobacter spp.*, visto que se obtuvo valores de índice Kappa de 0.89 con respecto a la prueba PCR, de 1.00 con respecto a la prueba ELISA y de 0.80 al compararla con la qPCR, los cuales no son todos iguales a uno, a pesar de ello se ubican en el nivel casi perfecto.
- Asimismo, se concluye que los métodos directos son los más utilizados en los estudios en la identificación de *Campylobacter spp.*, destacando la frecuencia de uso de la prueba PCR con 61.76%, la tinción de Gram con 41.18% y el inmunoensayo enzimático con 7.35.
- Por otro lado, se concluye que los indicadores de sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) de los métodos convencionales donde se usa la tinción de Gram presentan un buen desempeño en la identificación.
- Se concluye que no es posible recomendar técnicas que permitan optimizar el empleo de la tinción de Gram en la identificación de *Campylobacter spp.*; no obstante, su alta efectividad hace que pueda acompañarse con otras pruebas para determinar solamente el tipo de especie.

## VII. Recomendaciones

- A los próximos investigadores, se les recomienda profundizar en el uso de las revisiones sistemáticas como alternativa para compilar datos de otras investigaciones y generar nuevo conocimiento en el área de tecnología médica; en particular, en cuanto a la especialidad de laboratorio y anatomía patológica.
- A las autoridades sanitarias, se les recomienda diseñar estrategias para la indagación de mejores técnicas en la identificación de *Campylobacter spp.*, que permitan el ahorro de costos y de tiempo de confirmación de resultados; para lo cual, partiendo de los hallazgos del presente estudio, las opciones más viables es emplear la tinción de Gram con una prueba confirmatoria.
- A los laboratorios, seguir innovando en la minimización de los errores por parte del operador que pueden comprometer los resultados de la tinción de Gram en la identificación de *Campylobacter spp.*

### VIII. Referencias

- Abdad, M., Soli, K., Pham, B., Bande, G., Maure, T., Jonduo, M., . . . Greenhill, A. (2020). Diarrhoeal disease surveillance in Papua New Guinea: findings and challenges. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 11(1). <https://doi.org/10.5365/wpsar.2018.9.2.006>
- Alejo-Cancho, I., Fernández, F., Capón, A., Rodríguez, C., Barrachina, J., Salvador, P., . . . Marcos, M. (2017). Evaluation of a multiplex panel for the diagnosis of acute infectious diarrhea in immunocompromised hematologic patients. *PLoS ONE*, 12(11), 1-10. doi:0.1371/journal.pone.0187458
- Alahi, M., & Mukhopadhyay, S. (2017). Detection methodologies for pathogen and toxins: a review. *Sensors* 17 (1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/s17081885>
- Barakat, A., El-Razik, K., Elfadaly, H., Rabie, N., Sadek, S., & Almuzaini, A. (2020). Prevalence, molecular detection, and virulence gene profiles of *Campylobacter* species in humans and foods of animal origin. *Veterinary World*, 13(7), 1430-1438. doi:10.14202/vetworld.2020.1430-1438
- Barati, M., Taghipour, A., Bakhshi, B., Shams, S., & Pirestani, M. (2021). Prevalence of intestinal parasitic infections and *Campylobacter* spp. among children with gastrointestinal disorders in Tehran, Iran. *Parasite Epidemiology and Control*, 13(207), 1-7. doi:10.1016/j.parepi.2021.e00207
- Bertholom, C. (2018). Évaluation de 2 tests immunochromatographiques rapides pour la détection de *Campylobacter* sp. dans les selles. *OptionBio*(573-574), 22.
- Borkakoty, B., Jakharia, A., Sarmah, M., Hazarika, R., Baruah, P., & Bora, C. (2020). Prevalence of *Campylobacter* Enteritis in Children under 5 Years Hospitalised for

- Diarrhoea in Two Cities of Northeast India. *Indian Journal of Medical Microbiology* (38), 32-36. doi:10.4103/ijmm.IJMM\_19\_498
- Beveridge, J. & Davies, J. (1983). Cellular responses of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* to the Gram stain. *J Bacteriol*, 1(156), 846–858.
- Buchan, B., Olson, W., Pezewski, M., Marcon, M., Novicki, T., Uphoff, T., . . . Ledebøer, N. (2013). Clinical Evaluation of a Real-Time PCR Assay for Identification of *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni* and *C. coli*), and Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolates in Stool Specimen. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(12), 4001-4007. <https://doi.org/10.1128/JCM.02056-13>
- Budge, S., Barnett, M., Hutchings, P., Parker, A., Tyrrel, S., Hassard, F., . . . Jemal, M. (2020). Risk factors and transmission pathways associated with infant *Campylobacter* spp. prevalence and malnutrition: A formative study in rural Ethiopia. *PLoS ONE*, 15(5), 5-30. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232541>
- Buss, J., Cresse, M., Doyle, S., Buchan, B., Craft, D., & Young, S. (2019). *Campylobacter* culture fails to correctly detect *Campylobacter* in 30% of positive patient stool specimens compared to non-cultural methods. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*(38), 1087-1093. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03499-x>
- Chang, H., Guo, J., Wei, Z., Huang, Z., Wang, C., Qiu, Y., . . . Zeng, M. (2021). Aetiology of acute diarrhoea in children in Shanghai, 2015–2018. *PLoS ONE*, 16(4), 1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249888>
- Chanqueo C., García C., León C. y Blu F. (2005). Evaluación de la tinción de Hucker para la búsqueda rutinaria de *Campylobacter* sp en el estudio de un síndrome diarreico agudo.

- Revista chilena de infectología*, 22(3), 242-246. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182005000300004>
- Chau, M., Pahm, S., Yap, M., Lin, J., Aung, K., Alikiteaga, R., . . . Barkham, T. (2016). Diarrheagenic pathogens in adults attending a hospital in Singapore. *BMC Infectious Diseases*, 16(32), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1354-0>
- Chen, D., McKune, S., Singh, N., Hassen, J., Gebreyes, W., Manary, M., . . . Havelaar, A. (2021). Campylobacter Colonization, Environmental Enteric Dysfunction, Stunting, and Associated Risk Factors Among Young Children in Rural Ethiopia: A Cross-Sectional Study From the Campylobacter Genomics and Environmental Enteric Dysfunction (CAGED) Project. *Frontiers in Microbiology*, 8(615793), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.615793>
- Cornejo-Tapia, A., Orellana-Peralta, F., Weilg, P., Bazán-Mayra, J., Cornejo-Pacherres, H., Ulloa-Urizar, G., . . . Del Valle-Mendoza, J. (2017). Etiology, epidemiology and clinical characteristics of acute diarrhea in hospitalized children in rural Peru. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 11(11), 826-832.
- Dai, L., Sahin, O., Grover, M., & Zhang, Q. (2020). New and alternative strategies for te prevention, control, and treatment of antibiotic-resistant Campylobacter. *Translational Research*, 223, 76-88.
- Davies, B. J. (1983). Cellular responses of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* to the Gram stain. *J Bacteriol*, 1(156), 846–858.
- de Boer, R., Ott, A., Guren, P., van Zanten, E., van Belkum, A., & Kooistra-Smid, A. (2013). Detection of Campylobacter species and *Arcobacter butzleri* in stool samples by use of real-time multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(1), 253-259. <https://doi.org/10.1128/JCM.01716-12>

- Deogratias, A., Mushi, M., Paterno, L., Tappe, D., Seni, J., Kabymera, R., . . . Mshana, S. (2014). Prevalence and determinants of *Campylobacter* infection among under five children with acute watery diarrhea in Mwanza, North Tanzania. *Archives of Public Health*, 72(17), 1-6.
- Devis, A. (2019). Prevalence of *campylobacter* spp. in human clinical samples. Tesis de doctorado. Charles Sturt University. Recuperado de: <https://researchoutput.csu.edu.au/en/publications/prevalence-of-campylobacter-spp-in-human-clinical-samples>
- Do Nascimento, H., Da Silva, J., Nunes, I., Silva, T., Havt, A., Rey, L., . . . Moreira, A. (2016). Combination of different methods for detection of *Campylobacter* spp. in young children with moderate to severe diarrhea. *Journal of Microbiological Methods*, 128, 7-9.
- do Nascimento, H., da Silva, J., Nunes, I., Silva, T., Havt, A., Rey, L., . . . Moreira, A. (2016). Combination of different methods for detection of *Campylobacter* spp. in young children with moderate to severe diarrhea. *Journal of Microbiological Methods*(128), 7-9. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.06.026>
- Facciolà, A., Riso, R., Avventuroso, E., Visalli, G., Delia, S. & Laganà, P. (2017). *Campylobacter*: from microbiology to prevention. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 58(2), 79–92.
- Fang-Ju, L., Yi-Chuan, H., Yhu-Chering, H., Li-Ming, H., Ching-Chuan, L., Hsin, C., . . . Shu-Man, S. (2022). Clinical and epidemiological features in hospitalized young children with acute gastroenteritis in Taiwan: A multicentered surveillance through 2014-2017. *Journal of the Formosan Medical Association*, 121(2), 519-528. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2021.06.001>

- Fernández, H., Vera, F., Villanueva, M. P., & García, A. (2008). Occurrence of *Campylobacter* species in healthy well-nourished and malnourished children. *Braz. J. Microbiol.* 39 (1) 1–3.
- Fiedoruk, K., Daniluk, T., Rozkiewicz, D., Zaremba, M., Oldak, E., Sciepek, M., & Lesczynska, K. (2015). Conventional and molecular methods in diagnosis of community-acquired diarrhoea in children under 5-years-old from the north-eastern region of Poland. *International Journal of Infectious Diseases*, 37, 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.06.028>
- Fitzgerald, C., Patrick, M., Gonzalez, A., Akin, J., Polage, C., Wymore, K., . . . Nachamkin, I. (2016). Multicenter Evaluation of Clinical Diagnostic Methods for Detection and Isolation of *Campylobacter* spp. from Stool. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(4), 1-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.01567-17>
- Franco, J., Bénejat, L., Ducournau, A., Mégraud, F., Lehours, P., & Bessede, E. (2021). Evaluation of CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ rapid membrane enzyme immunoassay to detect *Campylobacter* spp. antigen in stool samples. *Gut Pathogens*, 13(4), 1-6. <https://doi.org/10.1186/s13099-021-00400-0>
- George, C., Burrowes, V., Perin, J., Oldja, L., Biswas, S., Sack, D., . . . Stien, O. (2018). Enteric Infections in Young Children are Associated with Environmental Enteropathy and Impaired. *Tropical Medicine & International Health*, 23(1), 26-33. <https://doi.org/10.1111/tmi.13002>
- Ghoneim, N., Abdel-Moein, K., Barakat, A., Hegazi, A., Abd El-Razik, K., & Sadek, S. (2021). Isolation and molecular characterization of *Campylobacter jejuni* from chicken and human stool samples in Egypt. *Food Science and Technology*, 41(1), 1-8. <https://doi.org/10.1590/fst.01620>

- Ghorbani, E., Ahmadi, A., Arjomandzadegan, M., Akbari, M., & Karamghoshchi, A. (2020). Molecular Detection of Campylobacter Species: Comparison of 16SrRNA with slyD, cadF, rpoA, and dnaJ Sequencing. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, 9(3), 257-263. Obtenido de <http://rbmb.net/article-1-501-en.html>
- Giesendorf, B., Quint, W., Henkens, M., Stegeman, H., Huf, F. & Hiesters, H. (1992). Rapid and sensitive detection of Campylobacter spp. in chicken products using the polymerase chain reaction. *Appl. Environ Microbiol.* 58(1), 3804–3808.
- Goldfarb, D., Dixon, B., Moldovan, I., Barrowman, N., Mattison, K., Zentner, C., . . . Slinger, R. (2013). Nanolitre real-time PCR detection of bacterial, parasitic, and viral agents from patients with diarrhoea in Nunavut, Canada. *International Journal of Circumpolar Health*, 72(1), 1-9. <https://doi.org/10.3402/ijch.v72i0.19903>
- Hanco, R. (2017). Factores de riesgo en enfermedades diarreicas agudas asociados a la prevalencia de Campylobacter jejuni en niños menores de cinco años en el Hospital Carlos Monge Medrano Juliaca 2014. *Tesis de grado*. Puno, Perú.
- Harb, A., Abraham, S., Rusdi, B., Laird, T., O'Dea, M., & Habib, I. (2019). Molecular Detection and Epidemiological Features of Selected Bacterial, Viral, and Parasitic Enteropathogens in Stool Specimens Children with Acute Diarrhea in Thi-Qar Governorate, Iraq. *International Journal Environmental Research and Public Health*, 16(1573), 1-16. <https://doi.org/10.3390/ijerph16091573>
- Harrington, S., Buchan, B., Doern, C., Fader, R., Ferrano, M., Pillai, D., . . . Mortensen, J. (2015). Multicenter Evaluation of the BD Max Enteric Bacterial Panel PCR Assay for Rapid Detection of Salmonella spp., Shigella spp., Campylobacter spp. (C. jejuni and C. coli), and Shiga Toxin 1 and 2 Genes. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(5), 1639-1647. <https://doi.org/10.1128/JCM.03480-14>

- Hlashwayo, D., Sigaúque, B., & Bila, C. (2020). Epidemiology and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. in animals in Sub-Saharan Africa: A systematic review. *Heliyon*, 6(3), 1-11.
- Huber, C., Orrego, M., Ortiz, F., Álvarez, M., & Weiler, N. (2019). Prevalencia de patógenos causantes de enfermedad diarreica aguda en el área Metropolitana de Asunción y Central. *Revista de Salud Pública del Paraguay*, 9(2), 41-45. <https://doi.org/10.8004/rspp.2019.diciembre.41-45>
- Ibrahim, J., Eghnatos, E., Roz, A., Fardoun, T., & Ghssein, G. (2019). Prevalence, antimicrobial resistance and risk factors for campylobacteriosis in Lebanon. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 13(1), 11-20. <https://doi.org/10.3855/jidc.10729>
- Ipanaque-Chozo, J., Seclen-Bernabe, E., Bustamante-Canelo, O., Aguilar-Gamboa, F., Mera-Villasis, K., Vergara-Espinoza, M., & Silva-Díaz, H. (2017). Enteropatógenos predominantes en diarreas agudas y variables asociadas en niños atendidos en el Hospital Regional Lambayeque, Perú. *Horizonte Médico*, 17(1), 38-44. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371650379007>
- Kann, S., Bruennert, D., Hansen, J., Concha, G., Crespo, J., Armenta, C., . . . Frickmann, H. (2020). High Prevalence of Intestinal Pathogens in Indigenous in Colombia. *Journal of Clinical Medicine*, 9(2786), 1-15. doi:10.3390/jcm9092786
- Kawase, J., Etoh, Y., Ikeda, T., Yamaguchi, K., Watahiki, M., Shima, T., . . . Shirabe, K. (2016). An Improved Multiplex Real-Time SYBR Green PCR Assay for Analysis of 24 Target Genes from 16 Bacterial Species in Fecal DNA Samples from Patients with Foodborne Illnesses. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 69(3), 191-201. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2015.027>

- Kellner, T., Parsons, B., Chui, L., Berenger, B., Xie, J., Burnham, C., . . . Freedman, S. (2019). Comparative Evaluation of Enteric Bacterial Culture and a Molecular Multiplex Syndromic Panel in Children with Acute Gastroenteritis. *Journal of Clinical Microbiology*, *57*(6), 1-11. <https://doi.org/10.1128/JCM.00205-19>
- Khalaf, G., & Abdulrahman, T. (2020). Prevalence of Campylobacter Species in Diarrheal Samples of Children Less than 10 Years. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, *14*(4), 1-8. <https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i4.11869>
- Kim, N., Jung, S., Na, H., Chung, G., Yoo, C., Seong, W., & Hong, S. (2015). Enteric Bacteria Isolated from Diarrheal Patients in Korea in 2014. *Osong Public Health and Research Perspectives*, *6*(4), 233-240. <https://doi.org/10.1016/j.phrp.2015.07.005>
- Koziel, M., Kiely, R., Blake, L., O'Callaghan, I., Corcoran, G., Lucey, B., & Sleator, R. (2013). Improved Detection of Bacterial Pathogens in Patients Presenting with Gastroenteritis by Use of the EntericBio Real-Time Gastro Panel I Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, *51*(8), 2679-2685. <https://doi.org/10.1128/JCM.00809-13>
- Laín, E., Ruiz, S., Trapero, M., & Revillo, M. (2015). Bacterial gastroenteritis in a Zaragoza health care area (Spain). *Revista Pediatría Atención Primaria*(17), 29-35. Obtenido de <https://pap.es/article/12109/bacterial-gastroenteritis-in-a-zaragoza-health-care-area-spain>
- Langendorf, C., Le Hello, S., Moumoni, A., Gouali, M., Mamaty, A., Grais, R., . . . Page, A. (2015). Enteric bacterial pathogens in children with diarrhea in Niger: diversity and antimicrobial resistance. *PLoS ONE*, *10*(3), 1-18. doi:10.1371/journal.pone.0120275
- Leflon-Guibout, V. (2016). Infection a Campylobacter: epidemiologie, facteurs de virulence, resistance aux antibiotiques. *Journal des Anti-infectieux*, *18*, 160-168.

- Li, Y., Zhang, S., He, M., Zhang, Y., Fu, Y., Liang, H., . . . Zhang, M. (2018). Prevalence and Molecular Characterization of *Campylobacter* spp. Isolated from Patients with Diarrhea in Shunyi, Beijing. *Frontiers in Microbiology*, 9(52), 1-8. doi:10.3389/fmicb.2018.00052
- Liang, H., Wen, Z., Li, Y., Duan, Y., Gu, Y., & Zhang, M. (2018). Comparison of the Filtration Culture and Multiple Real-Time PCR Examination for *Campylobacter* spp. From Stool Specimens in Diarrheal Patients. *Frontiers in Microbiology*, 9(2995). doi:10.3389/fmicb.2018.02995
- Lima, A., Oliveira, D., Quetz, S., Hayt, A., Prata, M., Lima, I., . . . Guerrant, R. (2019). Etiology and severity of diarrheal diseases in infants at the semiarid region of Brazil: A case control study. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(2), 1-14. doi:10.1371/journal.pntd.0007154
- Lowenstein, C., Vasco, K., Sarzosa, S., Salinas, L., Torres, A., Perry, M., . . . Graham, J. (2020). Determinants of Childhood Zoonotic Enteric Infections in a Semirural Community of Quito, Ecuador. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(6), 1269-1278. doi:10.4269/ajtmh.19-0690
- M'ikanatha, N., Dettinger, L., Perry, A., Rogers, P., Reynolds, S., & Nachamkin, I. (2012). Culturing Stool Specimens for *Campylobacter* spp., Pennsylvania, USA. *Emerging Infectious Diseases*, 18(3). <https://doi.org/10.3201/eid1803.111266>
- Mengelle, C., Mansuy, J., Grouteau, E., Claudet, I., Kamar, C., Huynh, A., . . . Izopet, J. (2013). Simultaneous detection of gastrointestinal pathogens with a multiplex Luminex-based molecular assay in stool samples from diarrhoeic patients. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(10), 58-65. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12255>

- Metreveli, M., Bulia, S., Shalamberidze, I., Tevzadze, L., Tsanova, S., Goenaga, J., . . .  
Innadze, P. (2022). Campylobacteriosis, Shigellosis and Salmonellosis in Hospitalized  
Children with Acute Inflammatory Diarrhea in Georgia. *Pathogens*, *11*(2), 232-243.  
doi:10.3390/pathogens11020232
- Moreno, X., Santamaría, G., Sánchez, R., De La Torre, B., Garcés, F., Hernández, C., . . .  
López, K. (2015). Microbiota gastrointestinal aeróbica en niños con trastorno del  
espectro autista. Estudio preliminar. *Revista Gen*, *69*(2), 36-44. Obtenido de  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0016-35032015000200004](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-35032015000200004)
- Moure, Z., Rando-Segura, A., Gimferrer, L., Roig, G., Pumarola, T., & Rodríguez-Garrido, V.  
(2018). Evaluation of the novel DiaSorin LIAISON® rapid detection of *Campylobacter*  
*spp.* *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *36*(5), 293-295.
- Moya-Salazar, J., Pio-Dávila, L., Terán-Vásquez, A., & Olivo-López, J. (2016). Rendimiento  
diagnóstico del agar sangre con filtro versus agar karmali para el diagnóstico de  
*Campylobacter* en coprocultivo. *Horizonte Médico*, *16*(3), 58-65.
- Notejane, M., Pandolfo, S., García, L., Parada, M., Coedo, V., Betancort, L., . . . Pérez, W.  
(2015). Gastroenteritis aguda: formas de presentación clínica y etiología en niños  
hospitalizados en el Hospital Pediátrico, Centro Hospitalario Pereira Rossell, año 2012.  
*Archivos de Pediatría de Uruguay*, *86*(2), 91-97. Obtenido de  
[http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1688-  
12492015000200002](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-12492015000200002)
- Ocampo, L. (2017). Correlación entre la Tinción Gram Interrumpida y el cultivo con filtros  
con la técnica de la Klebsiella en la identificación presuntiva de *Campylobacter* sp. en  
muestras de heces de niños de un Hospital Nacional de Lima en el período julio 2015 a  
junio 201. *Tesis de grado*. Lima, Perú.

- On, S. et al. (2013). PCR revisited: a case for revalidation of PCR assays for microorganisms using identification of *Campylobacter* species as an example. *Qual. Assurance Safety Crops Foods* 5 (1), 49–62. doi: 10.3920/QAS2012.0158
- Organización Mundial de la Salud - OMS. (2020 de mayo de 01). *Campylobacter*. Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>
- O'Toole, G. (2016). Classic Spotlight: How the Gram Stain Works. *Journal of bacteriology*, 198(23), 3128. <https://doi.org/10.1128/JB.00726-16>
- Oyarzabal, O., & Battie, C. (2012). Chapter 13. Immunological methods for the detection of *Campylobacter* spp.–current applications and potential use in biosensors. in Trends in immunolabelled and related techniques. ed. Abuelzein, E. (Rijeka, Croatia: InTech), 203–226.
- Oyofe, B., Thornton, S., Burr, D., Trust, T., Pavlovskis, O., & Guerry, P. (1992). Specific detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 30 (1) 2613–2619.
- Park, S., Aydin, M., Khatiwara, A., Dolan, M., Gilmore, D., Bouldin, J., et al. (2014). Current and emerging technologies for rapid detection and characterization of *Salmonella* in poultry and poultry products. *Food Microbiol.* 38 (1) 250–262. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.10.002>
- Platts-Mills, J., Liu, J., Mduma, E., Amour, C., Swai, N., Taniuchi, M., . . . Houpt, E. (104). Detection of *Campylobacter* in Stool and Determination of Significance by Culture, Enzyme Immunoassay, and PCR in Developing Countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(4), 1074-1080.
- Pavlova, M., Alexandrova, E., Donkov, G., Mitova-Mineva, Y., Kantardjiev, T., & Velez, V. (2020). *Campylobacter* infections among Bulgarian children: molecular characterization and children antimicrobial susceptibility. *Biotechnology &*

*Biotechnological Equipment*, 34(1), 1038-1042.

<https://doi.org/10.1080/13102818.2020.1817783>

Pavlova, M., Dobрева, E., Ivanova, K., Asseva, G., Ivanov, I., Petrov, P., . . . Kantardjiev, T.

(2016). Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Isolates. *Folia Medica*, 58(21), 95-100.

<https://doi.org/10.1515/folmed-2016-0016>

Platts-Mills, J., Liu, J., Mduma, E., Amour, C., Swai, N., Taniuchi, M., . . . Houpt, E. (104).

Detection of *Campylobacter* in Stool and Determination of Significance by Culture, Enzyme Immunoassay, and PCR in Developing Countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(4), 1074-1080.

Platts-Mills, J., Taniuchi, M., Uddin, J., Uddin, S., Mahfuz, M., Gaffar, A., . . . Ahmed, T.

(2017). Association between enteropathogens and malnutrition in children aged 6–23 mo in Bangladesh: a case-control study. *The American Journal of Clinical Nutrition*,

105(5), 1132-1138. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.138800>

Porte, L., Varela, C., Haecker, T., Morales, S., & Weitzel, T. (2016). Impact of changing from

staining to culture techniques on detection rates of *Campylobacter* spp. in routine stool samples in Chile. *BMC Infectious Diseases*, 16(196), 1-6.

<https://doi.org/10.1186/s12879-016-1546-7>

Poulain, C., Galeno, H., Loayza, S., Vergara, N., Valdivieso, F., Coria, P., . . . Fardán, M.

(2021). Detección molecular de patógenos entéricos en niños con diarrea en un hospital centinela de vigilancia de rotavirus en Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 38(1),

54-60. Obtenido de <https://www.revinf.cl/index.php/revinf/article/view/94>

Rahman, A., Rani, P., Hoque, N., Islam, S., Haque, A., Sikder, M., . . . Luftul, S. (2021).

Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Campylobacter* Species in Diarrheal

- Patients in Mymensingh, Bangladesh. *Hindawi - BioMed Research International*(9229485 ). <https://doi.org/10.1155/2021/9229485>
- Rajendran, P., Babji, S., George, A., Rajan, D., Kang, G., & Ajjampur, S. (2012). Detection and species identification of *Campylobacter* in stool samples of children and animals from Vellore, south India. *Indian Journal of Medical Microbiology*,, 30(1), 85-88. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.93049>
- Randremanana, R., Randrianirina, F., Gousseff, M., Dubois, N., Razafindratsimandresy, R., Hariniana, E., . . . Richard, V. (2012). Case-Control Study of the Etiology of Infant Diarrheal Disease in 14 Districts in Madagascar. *PLoS ONE*, 7(9), 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044533>
- Ricke, S., Feye, K., Chaney, W., Shi, Z., Pavlidis, H. & Yang ,Y. (2019) Developments in Rapid Detection Methods for the Detection of Foodborne *Campylobacter* in the United States. *Front. Microbiol.* 9 (3) 1-19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03280>
- Rodrigues, C., Melo, R., Fonseca, B., Martins, P., Ferreira, F., Araújo, M., & Rossi, D. (2015). Occurrence and characterization of *Campylobacter* spp. isolates in dogs, cats and children. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 35(4), 365-370. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2015000400009>
- Roy, S., Shamsuzzaman, S., Mamun, K., Uddin, M., & Halder, S. (2015). Cultural isolation and PCR based assay for detection of *flaA* gene of *Campylobacter jejuni* from acute diarrheic patients in Tertiary Care Hospital at Dhaka, Bangladesh. *British Microbiology Research Journal*, 10(4), 1-9.
- Ruiz de Alegría-Puiz, C., Aguirre-Quñonero, A., Agüero-Balbín, J., Roiz-Mesones, M., & Martínez-Martínez, L. (s.f.). Correlación entre el sistema MALDI-TOF Vitek-MSTM

- y los métodos convencionales de identificación de bacterias causantes de infección gastrointestinal. *Revista Española de Quimioterapia*, 29(5), 265-268.
- Sandle, T. (2004). Gram's Stain: History and Explanation of the Fundamental. *IST Science and Technology Journal*, 1(54), 1-4.
- Schaumburg, F., Frobose, N., & Kock, R. (2021). A comparison of two multiplex-PCR assays for the diagnosis of traveller's diarrhoea. *BMC Infectious Diseases*, 21(181), 1-5. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-05885-3>
- Schiaffino, F., Colston, J., Paredes, M., Francois, R., Pisanic, N., Burga, R., . . . Kosek, M. (2019). Antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. in a Pediatric Cohort Study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(2), 1-18.
- Shams, S., Ghorbanalizadgan, M., Haj, S., & Piccirillo, A. (2017). Evaluation of a multiplex PCR assay for the identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *Infection Epidemiology and Medicine*, 3(1), 6-8.
- Shiramaru, S., Asakura, M., Inque, H., Nagita, A., Matsuhisa, A., & Yamasaki, S. (2012). A Cytotoxic Distending Toxin Gene-Based Multiplex PCR Assay for Detection of *Campylobacter* spp. in Stool Specimens and Comparison with Culture Method. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(7), 857-862. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0574>
- Silva et al. (2011). *Campylobacter* spp.: a review. *Microbio.200* (2) 1-12
- Simaluiza, R., Toledo, Z., & Fernández, H. (2018). Prevalencia y caracterización del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en niños con diarrea de la ciudad de Loja, Ecuador. *Revista chilena de infectología*, 35(2), 213-215. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000200213>
- Singh, A., Ashburn, J., Kochhar, G., Lopez, R., Hull, T., & Shen, B. (2018). Value of routine stool testing for pathogenic bacteria in the evaluation of symptomatic patients with ileal

pouches. *Gastroenterology Report*, 6(2), 93-100.  
<https://doi.org/10.1093/gastro/gox037>

Sinha, A., SenGupta, S., Guin, S., Dutta, G., Ghosh, S., Mukherjee, P., . . . Nandy, R. (2012). Culture-independent real-time PCR reveals extensive polymicrobial infections in hospitalized diarrhoea cases in Kolkata, India. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(2), 173-180. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03746.x>

Soli, K., Maure, T., Kas, M., Bande, G., Bebes, S., Luang-Suarkia, D., . . . Horwood, P. (2014). Detection of enteric viral and bacterial pathogens associated with paediatric diarrhoea in Goroka, Papua New Guinea. *International Journal of Infectious Diseases*, 27, 54-58. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.02.023>

Struthers, K. (2018). *Microbiología clínica*. México:Medical.

Tamborini, A., Casabona, L., Viñas, M., Asato, V., Hoffer, A., Farace, M., . . . Pichel, M. (2012). *Campylobacter* spp.: prevalencia y caracterización fenotípica de aislamientos de pacientes con diarrea y de sus mascotas en la provincia de La Pampa, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*(44), 266-271. Obtenido de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-75412012000400005](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412012000400005)

Terefe, Y., Deblais, L., Ghanem, M., Helmy, Y., Mummed, B., Chen, D., . . . Rajashekara, G. (2020). Co-occurrence of *Campylobacter* Species in Children From Eastern Ethiopia, and Their Association With Environmental Enteric Dysfunction, Diarrhea, and Host Microbiome. *Frontiers in Public Health*, 8(99), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00099>

Thobela, M., Smith, A., Moonsamy, S., du Plessis, H., Govender, N., & Keddy, K. (2018). Detection of *Campylobacter* species in stool specimens from patients with symptoms

- of acute flaccid paralysis in South Africa. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 12(7), 542-549. <https://doi.org/10.3855/jidc.9795>
- Tian, L., Zhu, X., Chen, Z., Liu, W., Li, S., Yu, W., . . . Sun, Z. (2016). Characteristics of bacterial pathogens associated with acute diarrhea in children under 5 years of age: a hospital-based cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*, 16(253), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1603-2>
- Toledo, Z., Simaluiza, R., Astudillo, X., & Fernández, H. (2017). Occurrence and antimicrobial susceptibility of thermophilic *Campylobacter* species isolated from healthy children attending municipal care centers in Southern Ecuador. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 59(e77), 1-5. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201759077>
- Ushijima, H., Nishimura, S., Trongprachum, A., Shimizu-Onda, Y., Nguyen, D., Kim, T., . . . Hayakawa, S. (2014). Sensitive and Rapid Detection of *Campylobacter* Species from Stools of Children with Diarrhea in Japan by the Loop-Mediated Isothermal Amplification Method. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 67(5), 374-378. <https://doi.org/10.7883/yoken.67.374>
- Valledor, S., Valledor, L., & Gil-Rodríguez, M. (2020). Comparison of several Real-Time PCR Kits versus a Culture-dependent Algorithm to Identify Enteropathogens in Stool Samples. *Scientific Reports*, 10(4301), 1-8. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61202-z>
- Wang, H., & Murdoch, D. (2004). Detection of *Campylobacter* species in faecal samples by direct Gram stain microscopy. *Pathology*, 36(4), 343-344.
- Wohlwend, N., Tiermann, S., Risch, L., Risch, M., & Bodmer, T. (2016). Evaluation of a multiplex real-time PCR assay for detecting major bacterial enteric pathogens in fecal specimens: intestinal inflammation and bacterial load are correlated in *Campylobacter*

infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(9), 2262-2266.  
<https://doi.org/10.1128/JCM.00558-16>

Zhang, L., Li, Y., Shao, Y., Hu, Y., Lou, H., Chen, X., . . . Zhang, Y. (2020). Molecular Characterization and Antibiotic Resistant Profiles of *Campylobacter* Species Isolated From Poultry and Diarrheal Patients in Southeastern China 2017–2019. *Frontiers in Microbiology*, 11(1244). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01244>

## IX. Anexos

## Anexo A: Matriz de consistencia

<b>Título:</b> EFECTIVIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM EN LA IDENTIFICACIÓN DE <i>CAMPYLOBACTER SPP.</i> : UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA				
<b>Preguntas de investigación</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Variabes</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Métodos</b>
<p><b>Problema General</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>¿Cuál es la efectividad de la tinción de Gram en comparación con otras técnicas de laboratorio en la identificación de <i>Campylobacter spp.</i>?</li> </ul>	<p><b>Objetivo General</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la efectividad de la tinción de Gram con otras técnicas de laboratorio en la identificación de <i>Campylobacter spp.</i> a través de una revisión sistemática.</li> </ul>	<p><b>Variabes Independientes</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Tinción de Gram</li> <li>Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional</li> <li>PCR cuantitativo en tiempo real (qPCR)</li> <li>Método de genotipificación</li> <li>Ensayos inmunológicos para <i>Campylobacter</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sensibilidad</li> <li>Especificidad</li> <li>Valor de predicción positivo (VPP)</li> <li>Valor de predicción negativo (VPN)</li> </ul>	<p><b>Tipo de investigación</b></p> <p>Cualitativa</p> <p><b>Población:</b> 25600 registros</p> <p><b>Instrumentos</b></p> <p>Ficha de recolección de datos</p>
<p><b>Problemas Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>¿Cuáles son los métodos más utilizados en la identificación <i>Campylobacter spp.</i>?</li> <li>¿Cuáles son las diferencias que se presentan en la sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) de los métodos más utilizados en la identificación <i>Campylobacter spp.</i>?</li> <li>¿Cuáles propuestas pueden establecerse para la optimización de la efectividad de la tinción de Gram en la identificación <i>Campylobacter spp.</i>?</li> </ul>	<p><b>Objetivos Específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Identificar los métodos más utilizados en la identificación <i>Campylobacter spp.</i> en las investigaciones consultadas.</li> <li>Calcular la sensibilidad, la especificidad, el valor de predicción positivo (VPP) y el valor de predicción negativo (VPN) de los métodos más utilizados en la identificación <i>Campylobacter spp.</i> en las investigaciones consultadas.</li> <li>Establecer propuestas para la optimización del uso de la tinción de Gram en la identificación <i>Campylobacter spp.</i></li> </ul>	<p><b>Variable Dependiente</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Identificación de <i>Campylobacter spp.</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Casos negativos</li> <li>Casos positivos</li> </ul>	

## Anexo B: Instrumento

### Ficha de recolección de datos de los artículos científicos

N°	Título	Autores	Año de publicación	Métodos de identificación de <i>Campylobacter Spp</i> utilizados	Sensibilidad	Especificidad	Valor de predicción positivo	Valor de predicción negativo	Recomendaciones para optimizar los métodos de detección
1	Determinants of Childhood Zoonotic Enteric Infections in a Semirural Community of Quito, Ecuador	Lowenstein <i>et al.</i>	2020	Tinción de Gram que fue confirmada con fueron confirmados por PCR de genes de hipuricasa y aspartoquinasa	100.00	100.00	100.00	100.00	Se debe confirmar la presencia y tipo de especie a través de PCR
2	Campylobacteriosis, Shigellosis and Salmonellosis in Hospitalized Children with Acute Inflammatory Diarrhea in Georgia	Metreveli <i>et al.</i>	2022	Tinción de Gram con Agar mCCD (Desoxicolato-Cefoperazona-Carbón modificado) y CHROmagar	100.00	94.66	57.78	100.00	La microbiota de fondo y del estado de la <i>Campylobacter spp.</i> , es bien sabido que la elección de medios selectivos puede influir en la eficacia de detección
3	Prevalence of <i>Campylobacter</i> Enteritis in Children under 5 Years Hospitalised for Diarrhoea in Two Cities of Northeast India	Borkakoty <i>et al.</i>	2020	PCR					-
4	Clinical and epidemiological features in hospitalized young children with acute gastroenteritis in Taiwan: A multicentered surveillance through 2014-2017	Fang-Ju <i>et al.</i>	2022	PCR					-
5	Detection of enteric viral and bacterial pathogens associated with paediatric diarrhoea in Goroka, Papua New Guinea	Soli <i>et al.</i>	2014	PCR					-
6	Comparative Evaluation of Enteric Bacterial Culture and a Molecular Multiplex Syndromic Panel in Children with Acute Gastroenteritis	Kellner <i>et al.</i>	2019	Tinción de Gram y PCR Luminex xTAG(R) GPP	100.00	99.97	95.65	100.00	-
7	Diarrhoeal disease surveillance in Papua New Guinea: findings and challenges	Abdad <i>et al.</i>	2020	PCR					-
8	A comparison of two multiplex-PCR assays for the diagnosis of traveller's diarrhoea	Schaumburg <i>et al.</i>	2021	Dos tipos de PCR: GI-EB Screening assay and BioFire® FilmArray® Gastrointestinal Pane					El ensayo de detección de GI-EB no es adecuado para los análisis de DT, ya que no se incluyen las bacterias diana relevantes. en el ensayo y los incluidos en el ensayo muestran muy pobre asociación con casos de DT.
9	A Cytolethal Distending Toxin Gene-Based Multiplex PCR Assay for Detection of	Shiramaru <i>et al.</i>	2012	PCR, método de Skirrow y Filter					-

	Campylobacter spp. in Stool Specimens and Comparison with Culture Method								
10	Aetiology of acute diarrhoea in children in Shanghai, 2015–2018	Chang <i>et al.</i>	2021	PCR					-
11	An Improved Multiplex Real-Time SYBR Green PCR Assay for Analysis of 24 Target Genes from 16 Bacterial Species in Fecal DNA Samples from Patients with Foodborne Illnesses	Kawase <i>et al.</i>	2016	PCR	60.00	100.00	100.00	77.14	Cebadores utilizados para RFBS24 ver. 5: Para mejorar la RFBS24, se rediseñaron 13 pares de cebadores y se combinación apropiada de pares de cebadores fue cuidadosamente dispuestos en 8 juegos.
12	Multicenter Evaluation of Clinical Diagnostic Methods for Detection and Isolation of Campylobacter spp. from Stool	Fitzgerald <i>et al.</i>	2016	PCR y antígeno en heces CIDT	90.53	100.00	100.00	99.66	-
13	Enteric bacterial pathogens in children with diarrhea in Niger: diversity and antimicrobial resistance	Langendorf <i>et al.</i>	2015	Tinción de Gram					-
14	Nanolitre real-time PCR detection of bacterial, parasitic, and viral agents from patients with diarrhoea in Nunavut, Canada	Goldfarb <i>et al.</i>	2013	Nanolitre PCR					-
15	Culture-independent real-time PCR reveals extensive polymicrobial infections in hospitalized diarrhoea cases in Kolkata, India	Sinha <i>et al.</i>	2013	PCR	72.73	100.00	100.00	97.37	-
16	Detection of Campylobacter species and Arcobacter butzleri in stool samples by use of real-time multiplex PCR	de Boer <i>et al.</i>	2013	PCR real-time	71.43	100.00	100.00	98.31	-
17	Culturing Stool Specimens for Campylobacter spp., Pennsylvania, USA	M'ikanatha <i>et al.</i>	2012	Tinción de Gram					-
18	Association between enteropathogens and malnutrition in children aged 6–23 mo in Bangladesh: a case-control study	Platts-Mills <i>et al.</i>	2017	PCR					-
19	Bacterial and viral etiology of childhood diarrhea in Ouagadougou, Burkina Faso	Bonkougou <i>et al.</i>	2013	PCR					-
20	Campylobacter infections among Bulgarian children: molecular characterization and antimicrobial susceptibility	Pavlova <i>et al.</i>	2020	PCR					-
21	Case-Control Study of the Etiology of Infant Diarrheal Disease in 14 Districts in Madagascar	Randremanana <i>et al.</i>	2012	Prueba de hemaglutinación					-
22	Comparison of several Real-Time PCR Kits versus a Culture-dependent Algorithm to Identify Enteropathogens in Stool Samples	Valledor <i>et al.</i>	2020	PCR					-
23	Detection and species identification of Campylobacter in stool samples of children and animals from Vellore, south India	Rajendran <i>et al.</i>	2012	PCR					-
24	Detection of Campylobacter species in stool specimens from patients with symptoms of acute flaccid paralysis in South Africa	Thobela <i>et al.</i>	2018	PCR					Para aislamiento óptimo, dos muestras de heces, 24 a

									48 horas aparte y dentro de los 14 días del inicio de la parálisis fueron recogidos de cada caja y transportados a la prueba laboratorio a una temperatura de 2°C a 8°C
25	Diarrheagenic pathogens in adults attending a hospital in Singapore	Chau <i>et al.</i>	2016	PCR					-
26	Combination of different methods for detection of <i>Campylobacter</i> spp. in young children with moderate to severe diarrhea	Do Nascimento <i>et al.</i>	2016	ELISA PCR qPCR	100.00 100.00 100.00	100.00 98.52 95.68	100.00 90.00 70.00	100.00 100.00 100.00	-
27	Evaluation of a multiplex panel for the diagnosis of acute infectious diarrhea in immunocompromised hematologic patients	Alejo-Cancho <i>et al.</i>	2017	PCR, PCR Allplex y FilmArray					-
28	Conventional and molecular methods in diagnosis of community-acquired diarrhoea in children under 5-years-old from the north-eastern region of Poland	Fiedoruk <i>et al.</i>	2015	PCR	86.67	100.00	100.00	98.02	-
29	Comparison of the Filtration Culture and Multiple Real-Time PCR Examination for <i>Campylobacter</i> spp. From Stool Specimens in Diarrheal Patients	Liang <i>et al.</i>	2018	Real-time PCR					-
30	Molecular Characterization and Antibiotic Resistant Profiles of <i>Campylobacter</i> Species Isolated From Poultry and Diarrheal Patients in Southeastern China 2017–2019	Zhang <i>et al.</i>	2020	Tinción de Gram					-
31	<i>Campylobacter</i> Colonization, Environmental Enteric Dysfunction, Stunting, and Associated Risk Factors Among Young Children in Rural Ethiopia: A Cross-Sectional Study From the <i>Campylobacter</i> Genomics and Environmental Enteric Dysfunction (CAGED) Project	Chen <i>et al.</i>	2021	PCR					-
32	Enteric Infections in Young Children are Associated with Environmental Enteropathy and Impaired Growth	George <i>et al.</i>	2018	PCR					-
33	Value of routine stool testing for pathogenic bacteria in the evaluation of symptomatic patients with ileal pouches	Singh <i>et al.</i>	2018	EIA (inmunoensayo)					-
34	Multicenter Evaluation of the BD Max Enteric Bacterial Panel PCR Assay for Rapid Detection of <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp. ( <i>C. jejuni</i> and <i>C. coli</i> ), and Shiga Toxin 1 and 2 Genes	Harrington <i>et al.</i>	2015	EIA (inmunoensayo) y PCR					-
35	Clinical Evaluation of a Real-Time PCR Assay for Identification of <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Campylobacter</i> ( <i>Campylobacter jejuni</i> and <i>C. coli</i> ), and Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> Isolates in Stool Specimen	Buchan <i>et al.</i>	2013	EIA (inmunoensayo) y extracción de ácidos nucleicos y ProGastro SCS PCR					

36	High Prevalence of Intestinal Pathogens in Indigenous in Colombia	Kann <i>et al.</i>	2020	PCR					-
37	Enteric Bacteria Isolated from Diarrheal Patients in Korea in 2014	Kim <i>et al.</i>	2015	PCR					-
38	Improved Detection of Bacterial Pathogens in Patients Presenting with Gastroenteritis by Use of the EntericBio Real-Time Gastro Panel I Assay	Koziel <i>et al.</i>	2013	Ensayo EntericBio Gastro Panel I en tiempo real y entericBio Panel II (DNA y PCR)					-
39	Prevalence and Molecular Characterization of Campylobacter spp. Isolated from Patients with Diarrhea in Shunyi, Beijing	Li <i>et al.</i>	2018	Tinción de Gram					Las colonias sospechosas fueron recogidas e identificadas por tinción de Gram y pruebas bioquímicas. Se utilizaron múltiples pruebas de PCR para confirmar e identificar la especie según el estudio anterior
40	Simultaneous detection of gastrointestinal pathogens with a multiplex Luminex-based molecular assay in stool samples from diarrhoeic patients	Mengelle <i>et al.</i>	2013	Ensayo diagnóstico molecular (multiplex xTAG Gastrointestinal Panel)					-
41	Molecular Detection and Epidemiological Features of Selected Bacterial, Viral, and Parasitic Enteropathogens in Stool Specimens Children with Acute Diarrhea in Thi-Qar Governorate, Iraq	Harb <i>et al.</i>	2019	PCR					-
42	Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli Isolates	Pavlova <i>et al.</i>	2016	PCR					-
43	Occurrence and characterization of Campylobacter spp. isolates in dogs, cats and children	Rodrigues <i>et al.</i>	2015	PCR					-
44	Etiology and severity of diarrheal diseases in infants at the semiarid region of Brazil: A casecontrol study	Lima <i>et al.</i>	2019	PCR					-
45	Risk factors and transmission pathways associated with infant Campylobacter spp. prevalence and malnutrition: A formative study in rural Ethiopia	Budge <i>et al.</i>	2020	Tinción de Gram					-
46	Impact of changing from staining to culture techniques on detection rates of Campylobacter spp. in routine stool samples in Chile	Porte <i>et al.</i>	2016	Tinción de Gram					-
47	Prevalence and Antimicrobial Resistance of Campylobacter Species in Diarrheal Patients in Mymensingh, Bangladesh	Rahman <i>et al.</i>	2021	PCR	100.00	100.00	100.00	100.00	-
48	Prevalence and determinants of Campylobacter infection among under five children with acute watery diarrhea in Mwanza, North Tanzania	Deogratias <i>et al.</i>	2014	Tinción de Gram					-
49	Prevalence, antimicrobial resistance and risk factors for campylobacteriosis in Lebanon	Ibrahim <i>et al.</i>	2019	Tinción de Gram					-
50	Prevalence of Campylobacter Species in Diarrheal Samples of Children Less than 10 Years	Khalaf y Abdulrahman	2020	PCR	100.00	95.40	76.47	100.00	-
51	Prevalence of intestinal parasitic infections and	Barati <i>et al.</i>	2021	PCR	45.24	100.00	100.00	91.29	También se realizaron

	Campylobacter spp. among children with gastrointestinal disorders in Tehran, Iran								exámenes moleculares para evaluar e identificar con precisión las especies de Campylobacter.
52	Molecular Detection of Campylobacter Species: Comparison of 16SrRNA with slyD, cadF, rpoA, and dnaJ Sequencing	Ghorbani <i>et al.</i>	2020	PCR					-
53	Evaluation of CAMPYLOBACTER QUIK CHEK™ rapid membrane enzyme immunoassay to detect Campylobacter spp. antigen in stool samples	Franco <i>et al.</i>	2021	EIA (inmunoensayo) y PCR					-
54	Sensitive and Rapid Detection of Campylobacter Species from Stools of Children with Diarrhea in Japan by the Loop-Mediated Isothermal Amplification Method	Ushijima <i>et al.</i>	2014	Método de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) y PCR					-
55	Co-occurrence of Campylobacter Species in Children From Eastern Ethiopia, and Their Association With Environmental Enteric Dysfunction, Diarrhea, and Host Microbiome	Terefe <i>et al.</i>	2020	Secuenciación de ARN meta-total y PCR					-
56	Characteristics of bacterial pathogens associated with acute diarrhea in children under 5 years of age: a hospital-based cross-sectional study	Tian <i>et al.</i>	2016	PCR					-
57	Prevalence, molecular detection, and virulence gene profiles of Campylobacter species in humans and foods of animal origin	Barakat <i>et al.</i>	2020	Tinción de Gram					Se utilizó una reacción de PCR multiplex para la confirmación de Campylobacter identificado bioquímicamente. spp. al dirigirse a 23S rRNA específico para Campylobacter spp., gen hipo específico para C. jejuni, y gen glyA específico para C. coli
58	Evaluation of a multiplex real-time PCR assay for detecting major bacterial enteric pathogens in fecal specimens: intestinal inflammation and bacterial load are correlated in Campylobacter infections	Wohlwend <i>et al.</i>	2016	PCR					-
59	Campylobacter spp.: prevalencia y caracterización fenotípica de aislamientos de pacientes con diarrea y de sus mascotas en la provincia de La Pampa, Argentina	Tamborini <i>et al.</i>	2012	Tinción de Gram					Las especies identificadas fenotípicamente fueron confirmadas por PCR múltiple como C. jejuni y C. coli, según el protocolo de PCR de la Red WHO Global Foodborne Infections Network América del Sur
60	Bacterial gastroenteritis in a Zaragoza health care	Laín <i>et al.</i>	2015	Método de difusión en disco					-

	area (Spain)			en agar sangre					
61	Gastroenteritis aguda: formas de presentación clínica y etiología en niños hospitalizados en el Hospital Pediátrico, Centro Hospitalario Pereira Rossell, año 2012	Notejane <i>et al.</i>	2015	PCR					
62	Microbiota gastrointestinal aeróbica en niños con trastorno del espectro autista. Estudio preliminar	Moreno <i>et al.</i>	2015	Pruebas bioquímicas convencionales (Oxidasa-Catalasa)					-
63	Occurrence and antimicrobial susceptibility of thermophilic <i>Campylobacter</i> species isolated from healthy children attending municipal care centers in Southern Ecuador	Toledo <i>et al.</i>	2017	PCR					
64	Prevalencia y caracterización del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de <i>Campylobacter jejuni</i> y <i>Campylobacter coli</i> en niños con diarrea de la ciudad de Loja, Ecuador	Simaluiza <i>et al.</i>	2018	Tinción de Gram					Las colonias sospechosas fueron identificadas inicialmente por sus características morfológicas (tinción de Gram) y bioquímicas (oxidasa, catalasa, susceptibilidad al ácido nalidíxico y a la cefalotina, e hidrólisis del hipurato y del indoxylacetato). Fueron confirmadas mediante la prueba RPC múltiple
65	Prevalencia de patógenos causantes de enfermedad diarreica aguda en el área Metropolitana de Asunción y Central	Huber <i>et al.</i>	2019	Técnica de difusión por discos en placas con agar					-
66	Detección molecular de patógenos entéricos en niños con diarrea en un hospital centinela de vigilancia de rotavirus en Chile	Poulain <i>et al.</i>	2021	Panel FilmArray GI®					-
67	Isolation and molecular characterization of <i>Campylobacter jejuni</i> from chicken and human stool samples in Egypt	Ghoneim <i>et al.</i>	2021	PCR					-
68	Enteropatógenos predominantes en diarreas agudas y variables asociadas en niños atendidos en el Hospital Regional Lambayeque, Perú	Ipanaque-Chozo <i>et al.</i>	2017	Coprocultivo en agar sangre mediante el método de filtración					-