



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO DE LA *Klebsiella* PARA EL CULTIVO DE
Campylobacter sp. EN MUESTRAS DE HECES DE PACIENTES PEDIÁTRICOS
DE ENERO A JULIO DE 2023 EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DEL
HOSPITAL MARÍA AUXILIADORA

Línea de investigación:

Microbiología, parasitología e inmunología

Trabajo de suficiencia profesional para optar el título profesional de
Licenciado en Biología

Autor:

De la Torre Astete, José Carlos

Asesora:

Rodrigo Rojas, María Elena

ORCID: 0000-0002-1555-4036

Jurado:

Sáez Flores, Gloria María

Murrugarra Bringas, Victoria Ysabel

Riveros Ramírez, Maribel Denise

Lima - Perú

2024



IMPLEMENTACIÓN DEL METODO DE LA KLEBSIELLA PARA EL CULTIVO DE CAMPYLOBACTER SP. EN MUESTRAS DE HECES DE PACIENTES PEDIÁTRICOS DE ENERO 2023 A JULIO 2023 EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL MARIA AUXILIADORA

INFORME DE ORIGINALIDAD

25%

INDICE DE SIMILITUD

24%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

10%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1 hdl.handle.net Fuente de Internet 11%

2 repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet 2%

3 Submitted to Universidad de San Martín de Porres Trabajo del estudiante 2%

4 www.coursehero.com Fuente de Internet 2%

5 doku.pub Fuente de Internet 1%

6 www.beortek.es Fuente de Internet 1%

7 www.bvsops.org.uy Fuente de Internet 1%

www.slideshare.net



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

**IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO DE LA *Klebsiella* PARA EL CULTIVO DE
Campylobacter sp. EN MUESTRAS DE HECES DE PACIENTES PEDIÁTRICOS DE
ENERO A JULIO DE 2023 EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DEL
HOSPITAL MARÍA AUXILIADORA**

Línea de investigación:

Microbiología, parasitología e inmunología

Trabajo de Suficiencia Profesional para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Autor:

De la Torre Astete, José Carlos

Asesora:

Rodrigo Rojas, María Elena

ORCID: 0000-0002-1555-4036

Jurado:

Sáez Flores, Gloria María

Murrugarra Bringas, Victoria Ysabel

Riveros Ramírez, Maribel Denise

Lima - Perú

2024

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi esposa, hijo y padres por ser el apoyo fortaleza y motivación en aquellos momentos difíciles, también quiero agradecer a mis profesores por haber participado en mi formación profesional y a mi asesora por su tiempo brindado.

ÍNDICE

RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
I.INTRODUCCION.....	7
1.1.Trayectoria del autor	8
1.2.Descripción de la empresa.....	9
1.3.Organigrama general de la empresa	10
1.4.Áreas y funciones desempeñadas	11
II.DESCRIPCIÓN DE UNA ACTIVIDAD ESPECÍFICA	12
2.1.Historia	13
2.2.Morfología y aspectos	13
2.3.Taxonomía y clasificación	15
2.4.Vías de transmisión	16
2.5.Dosis infectiva	17
2.6.Patogenidad.....	17
2.7.Manifestaciones clínicas.....	19
2.8.Complicaciones	19
2.9.Diagnóstico.....	20
2.10.Tratamiento	21
2.11.Prevenion y control.....	21
2.12.Epidemiologia.....	21
2.13.Metodos de deteccion para campylobacter	21
2.13.1.Detección del antígeno	24
2.13.2.Detección mediante extracción de ácidos nucleicos	25
2.13.3.Detección en base a diferente tipo de tinciones.....	26
2.13.4.Detección mediante medios de cultivo.....	28
2.14.Instrumentos materiales y reactivos	220
2.14.1.Instrumentos o materiales.....	¡Error! Marcador no definido.
2.14.2.Medios de cultivo y reactivos.....	28
2.15.Criterios previos para realizar el procedimiento.....	20

2.16.Preparacion de la muestra de heces	20
2.17.Siembra e incubacion.....	20
2.18.Fundamentos del metodo.....	20
2.19.Confirmación y pruebas complementarias para la identificación de <i>Campylobacter</i> ...	20
2.20.Resultados.....	21
III.APORTES MAS DESTACABLES A LA EMPRESA	33
IV.CONCLUSIONES.....	34
V.RECOMENDACIONES.....	35
VI.REFERENCIAS	36
VII.ANEXOS.....	389

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 Organigrama general de la empresa.....	10
FIGURA 2 Taxonomia y clasificacion de <i>Campylobacter</i>	17
FIGURA A1 Placas con 2 divisiones y muestra dispensada	389
FIGURA A2 Jarra de anarobiosis para el cultivo de <i>Campylobacter</i>	389
FIGURA A3 Colonias de <i>Campylobacter</i>	40
FIGURA A4 Pruebas complementarias.....	40
FIGURA A5 Fotografias de <i>Campylobacter</i> a 100x	41

INDICE DE TABLA

TABLA 1 Identificacion de <i>Campylobacter</i> mediante el metodo de la <i>Klebsiella</i>	389
---	-----

RESUMEN

Campylobacter es una de las principales causantes de enfermedades diarreicas en pacientes pediátricos y la más común de gastroenteritis. En las últimas décadas especies de *Campylobacter* han adquirido gran importancia en la salud pública, *Campylobacter jejuni* es la más frecuente relacionado a cuadros diarreicos en pacientes pediátricos y posible causante del síndrome de Guillian- Barré. Hoy en día existen algunos métodos para la identificación de *Campylobacter*, un ejemplo es la tinción gram modificada que se realiza utilizando fucsina básica como colorante final, este nos permite observar la morfología bacteriana y obtener un diagnóstico presuntivo rápido. Sin embargo, si uno no cuenta con la suficiente experiencia podría no reconocer esta bacteria y pasar desapercibida, debido a esto la implementación del cultivo de *Campylobacter* por el método de la *Klebsiella* para la identificación presuntivamente de *Campylobacter* y así posteriormente hacer una confirmación con pruebas complementarias para seguir con una vigilancia de sensibilidad a antibióticos y tener un resultado óptimo que permita un manejo más rápido con bajos costos tanto para el laboratorio y paciente. Este método es una alternativa para potenciar la eficacia del estudio en muestras de heces en pacientes pediátricos y reducir costos de implementación para rastrear a esta bacteria con mayor eficiencia en base a limitación de insumos y reactivos. Se evaluaron 249 muestras de heces obtenidas de pacientes pediátricos con reacción inflamatoria positiva en el periodo de enero a julio del 2023 en el laboratorio del Hospital María Auxiliadora obteniendo 63 casos positivos (25.30%) para *Campylobacter sp.*

Palabras clave: *Campylobacter*, Enfermedades diarreicas agudas, reacción inflamatoria.

ABSTRACT

Campylobacter is one of the main causes of diarrheal diseases in pediatric patients and the most common cause of gastroenteritis. In recent decades, *Campylobacter* species have acquired great importance in public health. *Campylobacter jejuni* is the most common species associated with diarrheal conditions in pediatric patients and is a possible cause of Guillain-Barré syndrome. Today, there are some methods for identifying *Campylobacter*. An example is modified Gram staining, which is performed using basic fuchsin as the final dye. This allows us to observe bacterial morphology and obtain a quick presumptive diagnosis. However, if one does not have enough experience, one might not recognize this bacteria and it may go unnoticed. This is why the implementation of *Campylobacter* culture using the *Klebsiella* method for the presumptive identification of *Campylobacter* is recommended. This is why a confirmation with complementary tests is needed to continue monitoring antibiotic sensitivity and obtain an optimal result that allows faster management with low costs for both the laboratory and the patient. This method is an alternative to enhance the efficacy of the study in stool samples from pediatric patients and reduce implementation costs to track this bacteria more efficiently based on limited supplies and reagents. 249 stool samples obtained from pediatric patients with a positive inflammatory reaction were evaluated in the period from January to July 2023 in the María Auxiliadora Hospital laboratory, obtaining 63 positive cases (25.30%) for *Campylobacter* sp.

Keywords: *Campylobacter*, Acute diarrheal diseases, inflammatory reaction.

I. INTRODUCCION

Las enfermedades diarreicas agudas (EDAS) es un problema común en diferentes países del mundo no es la excepción en nuestro país que por el bajo interés del gobierno en apoyar al sistema de salud a la larga causa mayores pérdidas económicas.

La pandemia de la COVID 19 causó la aparición de nuevos patógenos resistentes a diferentes tipos antibióticos por el uso indiscriminado de estas es por ello su evaluación y vigilancia para detectar si presentan nuevas resistencias a antibióticos que normalmente eran susceptibles. No es la excepción para la campylobacteriosis, una de las enfermedades transmitidas a través vía fecal o alimentaria más prevalente a nivel global, se estima que afecta a millones de individuos anualmente provocando innumerables pérdidas (Center for Disease Control, 2021).

Campylobacter es crítico en pacientes menores a 5 años y mayores a 65 años con inmunodeficiencia, la ingestión de alimentos contaminados, aunque también es posible la transmisión de persona a persona o por vía fecal (Center for Disease Control, 2021), el periodo de incubación suele ser de uno a diez días, la infección tiene como consecuencia diarrea con frecuencia de sangre, dolor abdominal, fiebre, náuseas y vómitos en algunos casos. Puede ocurrir una enfermedad más grave que incluye infección del torrente sanguíneo síntomas que simulan la apendicitis aguda o colitis ulcerosa. El género *Campylobacter* son bacterias gramnegativas curvas hay más de 20 especies de los cuales no todas causan enfermedades y aproximadamente el 90% de la enfermedad en humanos es causado por la especie *Campylobacter jejuni* y en pocas ocasiones las especies *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. fetus* y *C. lari*.

Campylobacter jejuni crece mejor en temperaturas 37 °C y 42 °C y parece adaptarse bien a las aves de corral, ya que tienen una temperatura corporal aproximada de 41 °C a 42 °C y pueden transportar la bacteria sin enfermarse (Center for Disease Control, 2021).

La mayoría de los casos de infección por *Campylobacter* ocurren después de que alguien ingiera aves crudas o poco cocidas u otro alimento que ha sido contaminado por aves crudas, otros brotes se han asociado con productos lácteos no pasteurizados, agua contaminada, aves y productos agrícolas (Center for Disease Control, 2021).

Entre las alternativas para detectar *Campylobacter* puede realizarse mediante el cultivo microbiológico en donde se usa medios selectivos para poder aislar esta bacteria los cuales son muy costosos por lo componentes, técnicas basadas en principios de Biología molecular y pruebas inmunológicas de la muestra directa para la detección de esta bacteria.

1.1 Trayectoria del autor

Marzo 2022 - Actualmente

Hospital de Apoyo Departamental María Auxiliadora.

Área: PATOLOGÍA CLÍNICA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

Servicio: Microbiología

Puesto: Asistente de biología

Marzo 2021 – junio 2022

Laboratorios Synlab S.A.C

Área: LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Servicio: Biología Molecular

Puesto: Técnico Molecular

Mayo 2021 – febrero 2022

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE TEJIDOS EMBRIONARIOS

Área: LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS Y BIOLOGÍA MOLECULAR

Servicio: Biología Molecular

Puesto: Asistente de laboratorio

Setiembre 2021 – mayo 2021

Laboratorio Medicislab S.A.C

Área: LABORATORIO CLÍNICO Y BIOLOGÍA MOLECULAR

Servicio: Biología Molecular

Puesto: Asistente de laboratorio

1.2.Descripción de la empresa

El Hospital de Apoyo María Auxiliadora constituye una entidad de prestación de servicios de atención médica de nivel III, operando como la principal referencia en el cono Sur de la zona metropolitana de Lima, abarcando desde Barranco y Chorrillos hasta Surco y San Juan de Miraflores, entre otros. Además, su influencia se extiende a provincias, sirviendo como centro de derivación. Esta institución brinda atención integral básica en diversas áreas de la salud a una población aproximada de 2,864,000 individuos (Oficina de Estadística e Informática en Salud del Hospital María Auxiliadora - 2015).

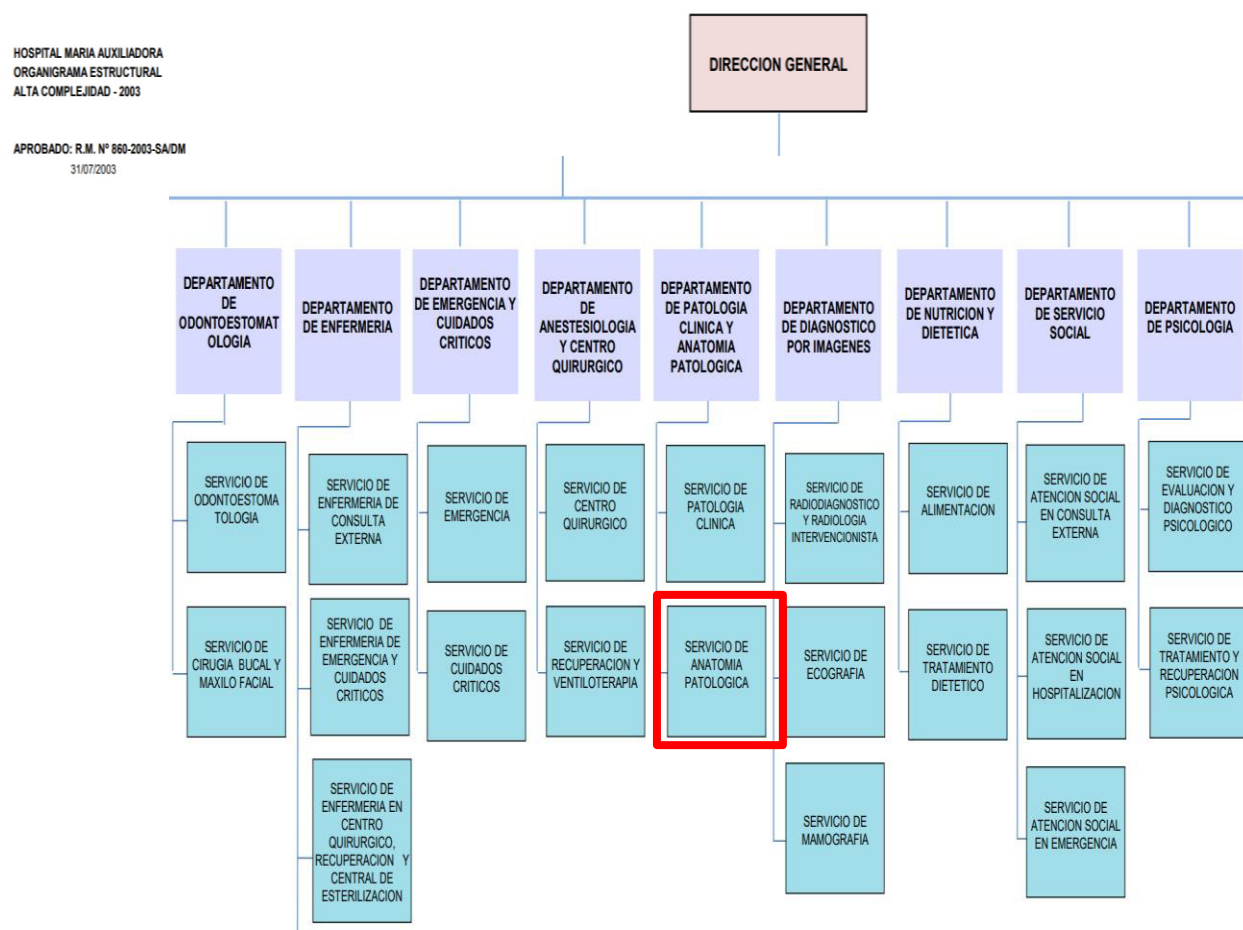
En sus instalaciones, se proporcionan servicios de Cirugía, Gineco-Obstetricia, Tópico de Medicina, Traumashock, Medicina General, Neumología, Pediatría, y Patología Clínica, entre otros. Con relación al último, el área de Patología Clínica constituye la unidad funcional encargada de ofrecer asistencia técnica especializada a través de la realización e interpretación de análisis que abarcan determinaciones bioquímicas, inmunológicas, hematológicas y microbiológicas, con el

propósito de diagnóstico, tratamiento e investigación de patologías. Dentro del laboratorio de microbiología se maneja diferentes áreas estas se encarga del proceso pre – analítico, analítico y post analítico de las diferentes muestras como (orina, sangre, heces, secreciones, tejidos, huesos, líquidos estériles, hongos y antibiogramas) todo esto es dependiente del departamento de patológica clínica y anatomía patológica.

1.3. Organigrama general de la empresa

Figura 1

Organigrama de Jefaturas



Nota: Adaptada de Hospital María Auxiliadora (MINSA, 2003).

1.4.Áreas y funciones desempeñadas

Área de Microbiología

Funciones

- Limpieza y desinfección de las mesas de trabajo, preparación de material y medios de cultivo.
- Control de calidad de esterilidad y de crecimiento de medios de cultivo.
- Lectura de exámenes directos de parásitos, reacción inflamatoria, sedimentación de orina, tinta china, test de Graham.
- Pruebas inmunocromatográfica y manual para detención de sangre en heces.
- Lectura, aislamiento y siembra de muestras para coprocultivo, series bioquímicas y pruebas serológicas.
- Lectura, aislamiento y siembra de muestras para urocultivo, secreciones, líquidos biológicos estériles y hemocultivos.
- Lectura de láminas de Gram, tinción gran modificado etc.
- Realización de antibiogramas para detectar BLEE, AMPC y pruebas complementarias mediante kirby Bauer como colistina spot agar, blue-carba, metalcarbapenemasa, etc.
- Manejo e interpretación de equipo automatizado VITEK 2.
- Control de calidad de cepas ATCC.
- Capacitar al personal que se encuentra bajo entrenamiento (residentes e internos).

- Participar en la elaboración de requerimiento de insumos y reportes de mapas microbiológicos.
- Asistir a las charlas, capacitación y cursos por la institución.

II. DESCRIPCIÓN DE UNA ACTIVIDAD ESPECÍFICA

En este capítulo tiene como finalidad presentar el trabajo titulado:

“IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO DE LA *Klebsiella* PARA EL CULTIVO DE *Campylobacter sp.* EN MUESTRAS DE HECES DE PACIENTES PEDIÁTRICOS DE ENERO A JULIO DE 2023 EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DEL HOSPITAL MARÍA AUXILIADORA”.

2.1 Historia

La bacteria en cuestión fue inicialmente descrita en 1886 por el pediatra y bacteriólogo alemán Theodore Escherich (1857 - 1911), quien también figura como el descubridor de la bacteria *Escherichia coli*, la cual se denominó en su honor en 1919. Escherich documentó una serie de ensayos en los cuales delineaba las características de esta curva o bacteria en espiral que habita en el intestino grueso de niños fallecidos debido a lo que él denominaba 'cólera infantil'; no obstante, Escherich no atribuía un rol etiológico a esta bacteria en forma de espiral. Lamentablemente, tales ensayos no obtuvieron reconocimiento hasta décadas después. Esta bacteria altamente móvil fue identificada por primera vez en 1909 en las heces diarreicas de diversas especies animales, siendo denominada *Vibrio fetus*. En el año 1931, se estableció su conexión con la etiología de la disentería invernal en el ganado bovino. En ese mismo año, Jones y Little aislaron una forma de "*vibrio*" en bovinos que padecían trastornos intestinales, procedente de los intestinos de cerdos con diarrea, y lo denominaron *Vibrio coli*. La primera vinculación entre estas bacterias en espiral y la diarrea en seres humanos fue propuesta por Levy en 1946. Llevando a cabo un estudio de brotes de gastroenteritis que afectaron a 357 pacientes en dos instituciones correccionales en Illinois, Levy observó la presencia, en un 20% de las muestras examinadas, de una forma bacteriana similar al *Vibrio* (Mendo, 2003).

Durante un extenso período, estos microorganismos fueron incluidos en la categoría de los vibrios. No obstante, en 1963, Sebalt y Verón introdujeron el género *Campylobacter* para describir

a los bacilos delgados y curvos que se distinguían de los vibrios clásicos y los vibrios halófilos por su incapacidad para fermentar carbohidratos y su composición distinta de bases de nucleótidos. El término *Campylobacter* proviene de la combinación de las palabras griegas "kampylos", que denota curva, y "bactron", que puede ser traducido como varilla (Orihuel *et al.*, 2023).

En el año 1972, se logró aislar bacterias a partir de las heces de individuos que padecían de enteritis aguda, empleando una técnica de filtración mediante membrana. A partir del año 1973, la identificación de *Campylobacter jejuni* en pacientes de todas las franjas etarias se hizo posible, gracias al desarrollo de medios de cultivo selectivos. En 1977, se estableció con certeza que las especies de *C. jejuni* son agentes etiológicos fundamentales en la génesis de la enteritis en seres humanos (Romero, 2007).

En el año 1984, Zerpa y Flores concibieron un método ágil para la detección de *Campylobacter*, el cual denominaron 'tinción Gram interrumpida', ya que emplea los dos elementos característicos de la tinción de Gram, es decir, el violeta de genciana y la solución de yodo yodado. Este método se caracteriza por su rapidez, sensibilidad y especificidad, con un coste mínimo y viable en cualquier laboratorio (Zerpa, 1984a). Asimismo, Zerpa introdujo una nueva metodología biológica para el cultivo de *Campylobacter* (una variante del principio de Fortner) que aprovecha *Klebsiella* para reducir la presión de oxígeno en una placa de petri. Este enfoque se postula como una alternativa sencilla y económica al aislamiento de *Campylobacter jejuni* (Zerpa, 1984b).

2.2 Morfología y aspectos

Los microorganismos pertenecientes al género *Campylobacter* se caracterizan por su naturaleza gramnegativa y su conformación en forma de coma o espiral curva. Estos

microorganismos son capaces de movilidad a través de la presencia de un flagelo unipolar o bipolar, miden 0,5 a 0.8 μm de longitud (Orihuel *et al.*, 2023).

La movilidad se logra gracias a la presencia de un flagelo polar, que induce un movimiento peculiar con giros rápidos alrededor de su propio eje en una configuración similar a la de un sacacorchos. Esta característica de movimiento les otorga la capacidad de ser distinguidos de otras bacterias por medio de la microscopía de contraste de fase. *Campylobacter* manifiesta una naturaleza exigente en términos de cultivo, al requerir condiciones especializadas para su crecimiento. Su tasa de crecimiento es relativamente lenta y precisa de un período de incubación que varía entre 24 y 48 horas para especies termotolerantes (*Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* y *Campylobacter lari*), así como de 5 a 7 días para otras cepas. Estos miembros no desarrollan esporas en un entorno microaerófilo estricto, con una composición caracterizada por un contenido de oxígeno que fluctúa entre 5 y 10 %, un 3 a 10 % de dióxido de carbono y un 85 % de nitrógeno. A pesar de ello, en cultivos con más de 48 horas de incubación, estos microorganismos asumen formas esféricas, ovoides o cocoides, ya que pierden la capacidad de reproducirse en medios de cultivo inerte, permaneciendo viables, pero no susceptibles a cultivo. *Campylobacter* es quimioorganotrófico, no depende primordialmente de carbohidratos como fuente de energía, sino que requiere aminoácidos u otros intermediarios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos para su desarrollo. Con excepción de *Campylobacter gracilis*, presentan reacciones positivas para la oxidasa y la catalasa, o presentan resultados variables en el caso de esta última (Escobar, 2009).

En la actualidad, se reconocen 31 especies y 11 subespecies de *Campylobacter*, en su mayoría vinculadas a enfermedades humanas, si bien solo cuatro son patógenos humanos de relevancia. Las patologías asociadas a *Campylobacter* son predominantemente gastroenteritis y septicemia. *Campylobacter jejuni* constituye la causa principal de gastroenteritis y bacteriemias

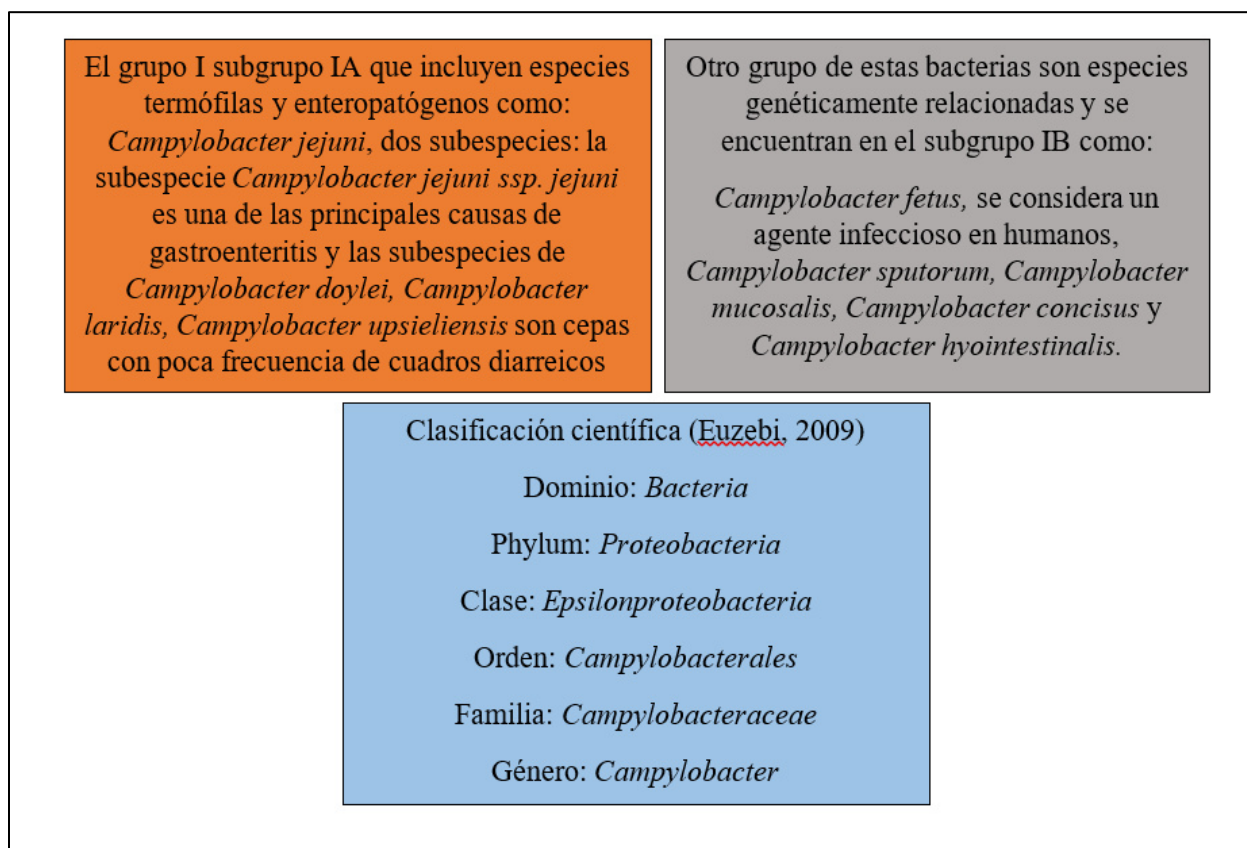
en Estados Unidos, mientras que *Campylobacter coli* es responsable del 2 al 5 % de los episodios de gastroenteritis. Esta última constituye una de las causas más frecuentes en naciones en vías de desarrollo. *Campylobacter upsaliensis* desempeña un papel significativo en la inducción de gastroenteritis en seres humanos, aunque su incidencia real se subestima con base en métodos de cultivo convencionales, dado que *Campylobacter upsaliensis* se ve inhibido por los antibióticos empleados en los medios de aislamiento destinados a otros miembros del género *Campylobacter* (Murray, 2009).

2.3 Taxonomía y clasificación

Conforme a su clasificación, este género ha sido segmentado en agrupaciones precisas fundamentadas sobre la base de homologías de secuencia de 16S rRNA.

Figura 2

Taxonomía y clasificación de *Campylobacter*



Nota: Elaboración propia.

2.4 Vías de transmisión

Las diversas especies de *Campylobacter* se hallan ampliamente distribuidas en la mayoría de los animales de sangre caliente. Son particularmente comunes en animales destinados al consumo humano, tales como aves, bovinos, porcinos, ovinos y mariscos, y también se encuentran presentes en animales de compañía como perros y gatos. En términos generales, se ha corroborado que la vía de transmisión preponderante es a través de la ingestión de alimentos, específicamente aquellos que involucran carne y derivados poco cocidos, así como leche cruda o con

contaminación. Adicionalmente, se identifica que el agua o el hielo contaminados pueden también actuar como fuentes de infección (Center for Disease Control, 2021).

2.5 Dosis infectiva

Campylobacter se caracteriza por su capacidad de ingresar al organismo a través de la vía fecal-oral o mediante la ingestión de alimentos. En investigaciones se ha evidenciado que incluso dosis bajas de *Campylobacter*, tan reducidas como 500 bacterias, pueden desencadenar síntomas de diarrea. Según Zerpa (1984a) cabe mencionar que la enfermedad es poco frecuente cuando el inóculo de bacterias es menor a 10 debido a su vulnerabilidad al ácido gástrico (Organización Panamericana de la Salud, 2023).

2.6 Patogenicidad

Según la Organización Panamericana de la Salud (2023) los mecanismos de patogenicidad de las diversas especies de *Campylobacter* aún no han sido completamente esclarecidos. Entre los mecanismos descritos se encuentran:

- **Colonización:** La causa y necesidad de colonización se debe a los flagelos presente en estas bacterias y solo las cepas móviles colonizan el intestino (Organización Panamericana de la Salud, 2023).
- **Adhesividad:** Las proteínas de la membrana externa (OMP) de las cepas patógenas de *Campylobacter* se denominan fracciones de unión celular (Cell Binding Fractions, CBF). Se ha demostrado que CBF puede estar involucrado en la adhesión de *Campylobacter* a las células. epitelio intestinal (Organización Panamericana de la Salud, 2023).
- **Invasividad:** Se ha validado la presencia de cepas de *Campylobacter* dotadas de capacidad invasiva, lo que se vincula estrechamente con la expresión de la enfermedad, especialmente en los contextos de diarrea inflamatoria. Desde un enfoque químico, se ha caracterizado a

estas cepas invasivas como portadoras de oligosacáridos fucosilados que, presumiblemente, actúan a través de una competición entre los receptores de las células epiteliales y las cepas invasoras de *Campylobacter*. Se ha postulado que los mecanismos de interacción con los receptores presentes en las membranas difieren entre las cepas invasivas y las adherentes. Aunque la flagelina podría desempeñar un papel secundario en la adhesión, otras adhesinas también desempeñan un papel en el proceso de internalización dependiente de la motilidad tanto en el intestino delgado como en el grueso, normalmente resultando en una enterocolitis inespecífica que se caracteriza por la degeneración y atrofia de las glándulas, la reducción de la producción de moco, la formación de abscesos en las criptas y la ulceración de la mucosa epitelial. En ciertos casos, las características patológicas guardan similitud con las observadas en las infecciones por *Salmonella* o *Shigella*. Surge claramente que el lipopolisacárido presente en la pared bacteriana, con su característica actividad endotóxica, juega un papel central en el proceso de inflamación y daño (Organización Panamericana de la Salud, 2023).

- **Toxigenicidad:** Las cepas de *Campylobacter* exhiben una capacidad toxigénica en virtud de la producción de una enterotoxina, es importante señalar que las cepas con una alta producción de toxinas se han identificado mayormente en individuos afectados por diarrea, aunque la producción de toxinas constituye tan solo un componente de la virulencia general de los patógenos entéricos. La generación de estas toxinas resulta un factor esencial en la patogénesis de la diarrea, además, ciertos aislamientos de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* tienen la capacidad de generar citotoxinas que resultan tóxicas para un amplio rango de células de mamíferos. Especulaciones han surgido acerca de la participación de *Campylobacter* en el síndrome de Guillain-Barré, mediado por la similitud

entre el ácido siálico de ciertos antígenos O y los gangliósidos presentes en humanos (Organización Panamericana de la Salud, 2023).

2.7 Manifestaciones clínicas

La infección por *Campylobacter jejuni*, tras un período de incubación de tres a cinco días, experimenta una transición desde una fase asintomática hacia una manifestación clínica significativa. La enteritis causada por *Campylobacter jejuni* exhibe diversas variantes clínicas, que incluyen un síndrome de diarrea secretora caracterizado por evacuaciones acuosas abundantes y episodios de vómito, a menudo acompañados de deshidratación, fiebre, dolor abdominal, cefalea. Un hallazgo distintivo en las muestras de heces que contienen *Campylobacter* es la presencia de moco sanguinolento, en la cual la presencia de moco está vinculada a la abundancia de leucocitos polimorfonucleares. La presencia de sangre en las heces es una manifestación más común en pacientes pediátricos, y las formas más graves de ambos síndromes son prevalentes en niños menores de doce meses. Por lo general, la enfermedad en recién nacidos manifiesta una naturaleza benigna o incluso asintomática, no obstante, las heces pueden presentar sangre, moco y pus, (Romero, 2007).

2.8 Complicaciones

Campylobacter jejuni ha sido vinculado con diversas complicaciones, que abarcan desde abortos espontáneos, muerte perinatal y sepsis neonatal. La infección por *Campylobacter jejuni* también puede desencadenar el síndrome de Guillain-Barré, un trastorno neurológico que se manifiesta a través de la desmielinización de los nervios periféricos. En neonatos afectados, se han registrado una serie de manifestaciones, como partos prematuros, fiebre, tos, dificultades respiratorias, vómitos, diarrea, cianosis, convulsiones, ictericia y sepsis. A nivel sistémico, se han

observado casos de pericarditis, neumonía, peritonitis, salpingitis, artritis séptica y formación de abscesos (Romero, 2007).

2.9 Diagnóstico

Para el análisis en láminas extendidas, la tinción de Gram con fucsina se ha revelado más efectiva que la tinción de safranina (Romero, 2007).

Por lo tanto, el examen microscópico directo es una herramienta valiosa en la fase inicial de evaluación de pacientes con enteritis. La microscopía de campo oscuro o contraste de fase, especialmente en la etapa aguda de la enfermedad, permite la pronta detección de la característica motilidad de *Campylobacter*, facilitando así un diagnóstico presuntivo ágil. Los bacilos gramnegativos, que concuerdan con el microorganismo en cuestión, también pueden ser observados mediante tinción de Gram discontinua, aunque este método presenta una sensibilidad del 50 al 75%. La observación microscópica directa es asimismo útil para identificar la presencia de eritrocitos y leucocitos polimorfonucleares en las heces, fenómeno que se manifiesta en la mayoría de los pacientes afectados por enteritis causada por *Campylobacter*. El diagnóstico definitivo implica el aislamiento microbiológico y la identificación bioquímica precisa de la bacteria. En algunos casos, también se puede evaluar la presencia de anticuerpos en el suero del paciente (Romero, 2007).

Cabe destacar que varios investigadores realizaron contribuciones esenciales para establecer a este agente como causante de diarrea. Entre ellos, el Dr. Skirrow fue pionero en el desarrollo de la técnica de filtración de muestras de heces diarreicas a través de membranas filtrantes de 0,45 μm , que permitían el paso de las bacterias más finas y retenían la mayoría de las bacterias presentes en las muestras. Posteriormente, el Dr. Bützler formuló medios de cultivo selectivos basados en antibióticos, diseñados para inhibir el crecimiento de otros agentes, lo que

condujo a la creación de medios de cultivo que llevan su nombre. En contraposición, el Dr. Zerpa desarrolló una alternativa al método convencional de cultivo para el aislamiento de *Campylobacter*, empleando una cepa de *Klebsiella pneumoniae* dentro de una placa Petri que era herméticamente sellada con una banda de látex. Esta innovación no solo redujo costos, sino que también facilitó su implementación en los laboratorios (Zerpa, 1984b).

Los medios de cultivo selectivos se caracterizan por la presencia de antibióticos como vancomicina, polimixina, bacitracina, novobiocina, colistina, entre otros, diseñados para limitar el crecimiento de microorganismos intestinales no deseados al máximo. Asimismo, se ha constatado un óptimo crecimiento en medios como agar sangre, agar MacConkey o caldo tioglicolato, incubados con un 5-10% de CO₂, a una temperatura que oscila entre 40 y 45°C. La identificación precisa se efectúa a través de sistemas bioquímicos y se confirma mediante pruebas de aglutinación con sueros específicos.

Para identificar *Campylobacter jejuni* de acuerdo con su morfología característica, se realiza la prueba de oxidasa, que debe arrojar resultado positivo. Por otro lado, para diferenciar entre distintas especies como *Campylobacter coli*, *Campylobacter laridis*, *Campylobacter upsaliensis*, entre otras, se emplean pruebas como la catalasa, hipuricasa, reducción de nitrato, ureasa, sulfuro de hidrógeno, así como evaluaciones de sensibilidad al ácido nalidíxico y cefalotina, además de su capacidad de crecimiento a diversas temperaturas. Es importante mencionar que algunas pruebas de aglutinación de cultivos para confirmación están disponibles en el ámbito comercial.

2.10 Tratamiento

En el contexto terapéutico, la reposición de fluidos y electrolitos emerge como la medida primordial. En situaciones iniciales de la infección, la aplicación de tratamiento antimicrobiano

puede contribuir a la reducción tanto de la duración como de la severidad de los síntomas.¹⁶ El empleo de agentes antibióticos se reserva particularmente para casos de infecciones graves o sepsis. En relación con *Campylobacter*, se evidencia su susceptibilidad a diversos antibióticos que incluyen macrólidos (como eritromicina, azitromicina y claritromicina), tetraciclinas, aminoglucósidos, cloranfenicol, fluoroquinolonas, clindamicina, amoxicilina/ácido clavulánico e imipenem. No obstante, conviene destacar que la mayoría de las cepas manifiestan resistencia a penicilinas, cefalosporinas y sulfonamidas. En este contexto, la eritromicina o la azitromicina emergen como elecciones óptimas para el tratamiento de la enteritis, mientras que las tetraciclinas o quinolonas se consideran opciones secundarias. Cabe señalar que la resistencia a las fluoroquinolonas ha aumentado en proporción, lo que podría reducir la eficacia de estos medicamentos. En pacientes lactantes, cuando se contraindican las tetraciclinas, se puede recurrir a la utilización de amoxicilina/ácido clavulánico. Para el abordaje de infecciones de carácter sistémico, se contempla la administración de cloranfenicol, aminoglucósidos o imipenem (Murray *et al.*, 2009).

2.11 Prevención y control

La prevención de la exposición al *Campylobacter* entérico requiere una correcta preparación de los alimentos, en especial los derivados de aves de corral, así como la precaución en el consumo de productos lácteos no pasteurizados. Además, se insta a reforzar las medidas preventivas dirigidas a evitar la contaminación del suministro de agua. Es importante resaltar que el estado de portador de *Campylobacter* en reservorios animales, como pollos y pavos, es de difícil erradicación, lo que implica que estos animales permanezcan en un estado continuo de riesgo de infección (Murray *et al.*, 2009).

2.12 Epidemiología

La infección por *Campylobacter* constituye una zoonosis de alcance global, caracterizada por su transmisión al ser humano a partir de animales o productos derivados de estos. Con frecuencia, la contaminación de animales sacrificados o de la carne se produce durante los procesos de faenado y está asociada a la presencia de heces. Es importante destacar que, en general, *Campylobacter* tiende a generar una baja incidencia de enfermedad en los animales infectados (Center for Disease Control, 2021).

En las naciones industrializadas, la vía principal de transmisión de *Campylobacter* reside en los alimentos de origen animal. El consumo de carne aviar insuficientemente cocida representa entre un 50% y 70% de las infecciones esporádicas, mientras que, en contextos menos desarrollados, prevalece la propagación a través de alimentos y agua contaminados con excreciones, así como el contacto directo con individuos o animales afectados (Organización Panamericana de la Salud, 2023).

Campylobacter jejuni se rige como la especie más frecuentemente aislada tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, con *Campylobacter coli* emergiendo en los últimos años como agente responsable de entre el 5% y 10% de los casos de diarrea campilobacteriana.

En América del Sur, no obstante, *Campylobacter coli* ostenta una presencia más predominante, comprendiendo alrededor del 25% de los episodios diarreicos originados por *Campylobacter*. Tal prevalencia de *Campylobacter coli* en la región podría asociarse con el consumo de agua fluvial, carne de ave, especialmente el hígado, destinada al consumo humano y diversas fuentes animales, abarcando tanto especies domésticas como silvestres, incluyendo miembros de la fauna amazónica. La presencia de este patógeno en múltiples ámbitos, como

excrementos avícolas, carne aviar y aguas residuales, sugiere una posible correlación entre el entorno y el consumo alimentario en el incremento de los aislamientos de *Campylobacter coli* como agente diarreico en esta región cabe añadir que los principales patógenos con relevancia para la salud pública conllevan una carga sustancial de enfermedad, manifestándose en términos de severidad, complicaciones y tasas de mortalidad. Si bien la norovirus, *Campylobacter* y ciertas cepas de *Escherichia coli*, responsables de episodios diarreicos, representan una tríada de patógenos comunes en nuestras circunstancias, se reconoce la importancia de otros agentes patogénicos, especialmente debido al riesgo elevado de complicaciones y mortalidad. De acuerdo con informes emitidos por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, *Campylobacter*. se perfila como el principal patógeno transmitido por los alimentos, atribuido a la mayoría de los casos vinculados con la ingesta de alimentos desde el año 2005 (Orihuel *et al.*, 2015).

2.13 Métodos de detección para *Campylobacter*.

2.13.1 Detección del antígeno

a. El inmunoensayo comercial (ProSpecT *Campylobacter*) en muestras de heces.

El ensayo de microplaca ProSpecT *Campylobacter* se configura como un inmunoensayo basado en fase sólida destinado a la detección del antígeno específico (AE) de *Campylobacter*. En dicho procedimiento, se procede a la adición de muestras de heces previamente diluidas a los compartimentos individuales de la microplaca, que poseen la propiedad de ser divisibles. Estos compartimentos están funcionalmente anclados con un anticuerpo policlonal de origen conejo, específico para el AE de *Campylobacter*. Cuando el AE de *Campylobacter* está presente en la muestra, este se enlaza al mencionado anticuerpo, dando lugar a una suerte de captura. Acto seguido, se someten los compartimentos a una fase de incubación, tras la cual se ejecuta un proceso

de lavado meticuloso con el fin de eliminar cualquier material no vinculado. A continuación, se introduce un conjugado enzimático, compuesto por un anticuerpo policlonal igualmente derivado de conejo, el cual se halla marcado con la enzima peroxidasa proveniente de rábano picante. Tras una nueva etapa de incubación y un subsiguiente lavado para remover el conjugado enzimático no enlazado, se procede con el análisis de los resultados obtenidos (Thermofisher scientific Oxoid, 2012).

b. Test rápido para la detección de antígenos de *Campylobacter monlabtest*

Campylobacter MonlabTest constituye un inmunoensayo de carácter cualitativo diseñado para la detección de antígenos de *Campylobacter* en muestras de heces humanas. La estructura de la membrana del ensayo alberga una región conocida como 'línea del test', en la cual se han inmovilizado anticuerpos monoclonales específicos para los antígenos de *Campylobacter*. El proceso de detección implica la interacción de la muestra con partículas portadoras de anticuerpos anti-*Campylobacter* (conjugado), dispuestas en su superficie. Por acción de la capilaridad, la mezcla se desplaza hacia la porción superior de la membrana. En el escenario de una confirmación positiva, los anticuerpos particulares existentes en la membrana entran en reacción con la combinación de conjugado, lo que dará origen a la aparición de una o dos líneas coloreadas en la zona correspondiente a las 'líneas del test'. Importante hay que destacar que, en la zona de la 'línea de control', una línea de color verde debe ser invariablemente visible. Esta línea cumple la función de verificar que la cantidad de muestra añadida ha sido suficiente, confirmando el flujo adecuado y además sirve como control interno para los reactivos empleados en el procedimiento (Monlabtest *Campylobacter*, 2018).

2.13.2 Detección mediante extracción de ácidos nucleicos

a. Kit de pcr en tiempo real para la detección de *Campylobacter*.

El kit de PCR en tiempo real para *Campylobacter jejuni*, proporcionado por Creative Biogene, ha sido concebido con el propósito de permitir la detección precisa de *Campylobacter jejuni* en muestras de heces o agua mediante la aplicación de la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. Este kit integral incluye un sistema preconfigurado, diseñado para una utilización inmediata en sistemas de PCR en tiempo real. El Mastermix incluido contiene los reactivos necesarios, así como enzimas destinadas a llevar a cabo una amplificación altamente específica del ADN correspondiente a *Campylobacter jejuni*. La funcionalidad óptica de los sistemas en tiempo real desempeña un papel crucial, ya que emite y mide la fluorescencia de manera precisa durante todo el proceso de la PCR, lo que posibilita la identificación y cuantificación eficaz del objetivo de interés (Creative Biogene, 2023).

2.13.3 Detección en base a diferente tipo de tinciones

a. Coloración gram

Fundamento: Las bacterias gram negativo pierden un colorante (cristal violeta) con mayor facilidad en presencia con etanol que los gram positivos, la razón es la menor cantidad de mucopéptido de las paredes de las bacterias gram negativas haciéndolos ver de un color rosado, en el caso de *Campylobacter* se observan pequeños bacilos gram negativos curvos de color rosado.

b. Coloración gram interrumpido

Fundamento: En esta coloración del tipo gram interrumpido se basa específicamente en la búsqueda de *Campylobacter*, al momento de la tinción se usa más tiempo en la utilización de los colorantes cristal violeta y Lugol, esto se debe por la poca cantidad de mucopéptido de estas bacterias, por consiguiente, para una mejor visualización en el microscopio se usa el lugol para

dificultar la salida del cristal violeta haciendo un color azul oscuro para una mejor visualización de esta bacteria.

c. Coloración de vago

Fundamento: Es utilizado para la coloración de bacterias espirales y espiroquetas, que no se tiñen por el método Gram, ni por el Ziehl-Neelsen. El método se basa en la impregnación con mercurio de cromo a nivel de la pared de dichos microorganismos y solo así se podrán teñir con violeta de genciana esta tinción es especial para reconocer mejor *Campylobacter*

d. Coloración gran modificado

Fundamento: Es utilizado para la detección oportuna de algunas bacterias de difícil visualización por medio del microscopio y en otros casos como la apreciación de morfología tisular. En el caso de las bacterias gram negativo pierden un colorante (cristal violeta) con mayor facilidad en presencia de alcohol acetona que los gram positivos, la razón es la menor cantidad de peptidoglucano de las paredes de las bacterias gram negativas, Además, también influye que la pared de las bacterias Gram positivas contienen mayor cantidad de ácidos no saturados, los cuales muestran gran afinidad por los agentes oxidantes (Lugol). Mientras, las bacterias Gram negativas poseen una capa delgada de peptidoglucano, lo que hace que las bacterias formen menos complejos que las Gram positivas después con el paso de la decoloración, donde las bacterias Gram positivas y Gram negativas se comportan de manera diferente.

Las bacterias Gram negativas contienen una membrana externa rica en lipopolisacáridos que forma parte de su pared celular. Las grasas son destruidas por el contacto con el alcohol acetona, por lo que la membrana externa se desestabiliza, siendo liberado el cristal violeta. Es así como luego es contrateñida con fucsina básica, tomando el color rojo. en el caso de *Campylobacter* se observan pequeños bacilos gram negativos curvos de color rosado fuerte o grosella.

2.13.4 *Detección mediante medios de cultivo*

- Medio Butzler
- Medio Skirrow
- Medio Preston
- Campy-cefex

2.14 Instrumentos materiales y reactivos.

2.14.1 *Instrumentos y materiales*

- Placas Petri con 2 divisiones
- Incubadora a 37 ° y 42°C
- Horno de calor seco
- Frascos de 500 ml
- Conservadora de 2 – 8 °C
- Matraz
- Probeta
- Espátula
- Hazas de 10 ul
- Film
- Portaobjeto
- Cubreobjeto
- Tip de 200ul
- Micropipeta de 20ul a 200ul
- Guantes de nitrilo o de látex
- Jarra para anaerobiosis
- Cocina
- Autoclave
- Balanza
- Mechero de bunsen
- Filtro bacteriológico de 0.45ul
- Gradilla

2.14.2 *Medios de cultivo y reactivos*

- Medio de cultivo base Miuller Hilton
- Medio CROMOGENICO para orinas
- Sangre humana

- Cepa ATCC 700603 *klebsiella pneumoniae*
- Solución salina fisiológica al 0.1%
- Solución de amonio cuaternario
- Tinción gram
- Azul de metileno
- Fucsina

2.15 Criterios previos para realizar el procedimiento.

a. Criterios de selección

- Pacientes con orden médica para reacción inflamatoria y coprocultivo.
- Pacientes de 0 a 5 años.
- Muestras de heces de recolección inmediata no mayor a 2 horas.
- Pacientes sin tratamiento farmacológico.
- Muestras de heces en recipiente de plástico de tapa rosca estéril.

b. Criterios de exclusión

- Pacientes mayores a los 5 años.
- Pacientes con tratamiento farmacológico.
- Muestras con resultado de reacción inflamatoria negativa.
- Muestra de heces formada duro sin moco sin sangre.

c. Reacción inflamatoria

- La presencia o ausencia de leucocitos en muestras fecales hace hincapié a una posible infección por un microorganismo en donde la presencia de leucocitos polimorfos nucleares es causa por una bacteria.

d. Procedimiento para detectar una reacción inflamatoria en muestra de heces

- Tomar una porción de muestra de heces que contenga moco y colocarla en el portaobjetos limpio.
- Agregar una gota de Azul de metileno y homogenizar.
- Cubrir con un cubreobjeto y observar al microscopio a un objetivo de 40x.
- Se considera reacción inflamatoria positiva si hay presencia de leucocitos polimorfos nucleares mayor a 10 por campo.

2.16 Preparación de la muestra de heces.

Se proceso 249 muestra de pacientes menores a 5 años con reacción inflamatoria por la presencia de leucocitos polimorfos nucleares, luego las muestras positivas se procesaron en un tubo estéril de 13 x 100 agregando 1ml de solución salina fisiológica al 0.1%, y con un hisopo se agregó una porción de muestra de heces, se homogenizo la muestra y dejo reposar por 10 minutos a 37°C.

2.17 Siembra e incubación.

Se procedió a emplear placas con 2 divisiones (Figura A1), una sección impregnada con agar Mueller Hinton Sangre y la otra con medio cromogénico para orinas. Respecto al agar Mueller Hinton Sangre, se optó por este medio como base fundamentada en contenido de agentes inhibitorios. Asimismo, la inclusión de sangre en dicho medio confiere la capacidad para enriquecer y aislar microorganismos fastidiosos. En cuanto al medio de agar base Mueller Hinton Sangre, se procedió a colocar un filtro de 0.45 μm . Con miras a optimizar costos, dichos filtros fueron segmentados en dos partes de igual envergadura. Dichos filtros, de la marca Millipore, cuentan con unas dimensiones: poro 0.45 a μm y 47mm de longitud. Estos elementos, concebidos como rejillas de color blanco, han sido para desempeñar un rol en análisis microbiológicos de

líquidos, como el agua entre otros. En tal función, se rigen como agentes de retención que impiden el paso de microorganismos que sobrepasan el umbral de tamaño del poro. Consecuentemente, se propicia la posibilidad de que *Campylobacter* atraviese dichos filtros gracias a su movilidad y al tamaño reducido que ostenta.

Se coloca el filtro con pinzas estériles y se dispensa 200ul del sobrenadante de la muestra previamente diluida en solución salina al 0.1% y se deja reposar por 30 minutos a 37°C, después de este tiempo retirar el filtro cuidadosamente con pinzas estériles. En la división donde se encuentra el agar cromogénico para orinas se sembró una cepa ATCC de *Klebsiella pneumoniae* para que esta bacteria pueda crear un ambiente microaerófilo para *Campylobacter* (Figura A3), posteriormente se colocara en una jarra de anaerobiosis y se incubara a 42°C por 24 a 48 horas (Anexo A2).

2.18 Fundamento del método.

Este método se basa en la capacidad de crecimiento para *Campylobacter* en un ambiente de microaerofilia hecho por *Klebsiella pneumoniae* que será la encargada de utilizar el oxígeno del ambiente de la placa hasta niveles inferiores produciendo CO₂.

2.19 Confirmación y pruebas complementarias para la identificación de campylobacter.

Se realizo tinciones como gram modificado e interrumpido (Figura A4) del crecimiento de colonias grises en el medio agar Mueller Hilton sangre para así visualizar en el microscopio bacterias curvas. Posteriormente también se realizó la prueba de la oxidasa, así como la catalasa lo que en ambos casos son positivos (Figura A5).

2.20 Resultados

El resultado corresponde a la evaluación de 249 muestras de heces obtenidas de los pacientes pediátricos con reacción inflamatoria positiva, atendidos en el área de microbiología del

Hospital María Auxiliadora en el periodo comprendido entre enero a julio del 2023, con la finalidad de implementar el método de la *klebsiella* para el cultivo en la identificación presuntiva de *Campylobacter sp.*

Tabla 1: Identificación de *Campylobacter* mediante el método de la *Klebsiella*.

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Cultivos negativos	186	74.70%	74.70%
Cultivos positivos	63	25.30%	100%
Total	249	100%	

Fuente: Elaboración propia.

La tabla 1 presenta resultados del cultivo con filtros con el método de la *Klebsiella* en la identificación presuntiva de *Campylobacter sp.* a partir de las 249 muestras de heces con reacción inflamatoria positiva que fueron analizadas en el área de microbiología del Hospital María Auxiliadora siguiendo los protocolos y procedimientos establecidos. Mediante la utilización del cultivo con filtro usando el método de la *Klebsiella*, se encontró 186 muestras con resultado negativo y 63 muestras con resultados positivos.

III. APORTES MAS DESCATABLES A LA EMPRESA

- La aplicación exitosa del método de la *klebsiella* para el cultivo de *Campylobacter sp.* en muestras de heces de pacientes pediátricos.

- Reducción de costos en la aplicación del método de la *klebsiella* para el cultivo de *Campylobacter sp.* en muestras de heces de pacientes pediátricos base a los reactivos y medios que se maneja en el laboratorio.

- La capacitación del método de la *klebsiella* para el cultivo de *Campylobacter sp* al equipo de biólogos del área de microbiología del “Hospital del apoyo María Auxiliadora”.

IV. CONCLUSIONES

- Se logro la implementación del método de la *Klebsiella* para el cultivo de *Campylobacter sp.* en muestras de heces en pacientes pediátricos del “Hospital De Apoyo María Auxiliadora”.

- La implementación del método de la *Klebsiella* para el cultivo de *Campylobacter sp.* tuvo un importante aporte al servicio de pediatría y neonatología para un resultado óptimo y confiable.

- Se logro aportar funciones como profesional Biólogo en el transcurso de mi experiencia profesional durante mas de 4 años en las áreas de microbiología, parasitología y biología molecular.

V. RECOMENDACIONES

- a) Realizar monitoreos y vigilancia a base de pruebas de susceptibilidad según el manual del CLSI M45(The Clinical & Laboratory Standards Institute) o el EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

- b) Hacer un mapeo microbiológico para estimar el número total de personas infectadas al año y rastrear su resistencia a antibióticos.

- c) Implementar programas educativos para el personal médico, de laboratorio y pacientes sobre prácticas de higiene para prevenir la transmisión de *Campylobacter sp.*

VI. REFERENCIAS

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2021). *Campylobacter*.
<https://www.cdc.gov/campylobacter>
- Creative Biogene. (2023). Kit de PCR en tiempo real para *Campylobacter jejuni*.
<https://www.creative-biogene.com/Campylobacter-Jejuni-Real-Time-PCR-Kit-PDHS-BR008-1290545.html>
- Escobar, G. (2009). Pesquisa de *Campylobacter* spp. en muestras cloacales de gallinas de la comuna de Curepto. <http://dspace.usalca.cl/handle/1950/8096>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/World Health Organization (WHO). (2003). Hazard characterization for pathogens in food and water: Guidelines. Food y Agriculture Organization.
- Kaakoush, O., Castaño, N., Mitchell, M y Man, M. (2015). Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(4), 687-720.
- Lake, R., y Cressey, P. (2013). Risk profile: *Campylobacter jejuni/coli* in poultry (whole and pieces). Ministry for Primary Industries.
- Mendo, M. (2003). Medios de cultivo en microbiología. 5 ed. Ediciones Laborales SRL.
- Monlabtest. (2018). Test rápido para la detección de antígeno de *Campylobacter*.
<https://www.monlab.es/document/Muestras%20fecales/IFU%20Campylobacter%20monlabtest.pdf>
- Murray, P., Rosenthal, K y Pfaller, M. (2009). *Microbiología médica*. 6 ed., pp. 325-328). Elsevier.
- Organización Panamericana de la Salud. (2023). *Campylobacter*.
<https://www.paho.org/es/search/r?keys=campylobacter#gsc.tab=0ygsc.q=campylobacter>

- Orihuel, E., Sanz, M., y Berto, R. (2015). *Campylobacter*, la bacteria discreta. <https://www.betelgeux.es/noticias/campylobacter-la-bacteria-discreta-nuevo-libro/>
- Romero, R. (2007). Microbiología y parasitología humana (3a ed.). Editorial Médica Panamericana.
- Thermofisher Scientific. (2012). Ensayo de microplaca ProSpect *Campylobacter*. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/MBD/Instructions/X7595A-ES.pdf>
- Zerpa, R. (1984a). Método práctico de bajo costo para el cultivo de *Campylobacter jejuni* en muestras de heces. En Asociación Peruana de Microbiología, Cusco.
- Zerpa, R. (1984b). Método práctico de detección de *Campylobacter* en muestras de heces. En Asociación Peruana de Microbiología, Cusco.

VII. ANEXOS

Procedimiento del método de la Klebsiella para el cultivo de *Campylobacter* sp.

Figura A1: Placas con 2 divisiones y muestra dispensada en el filtro bacteriológico de 0,45um está en el medio agar Mueller Hilton sangre

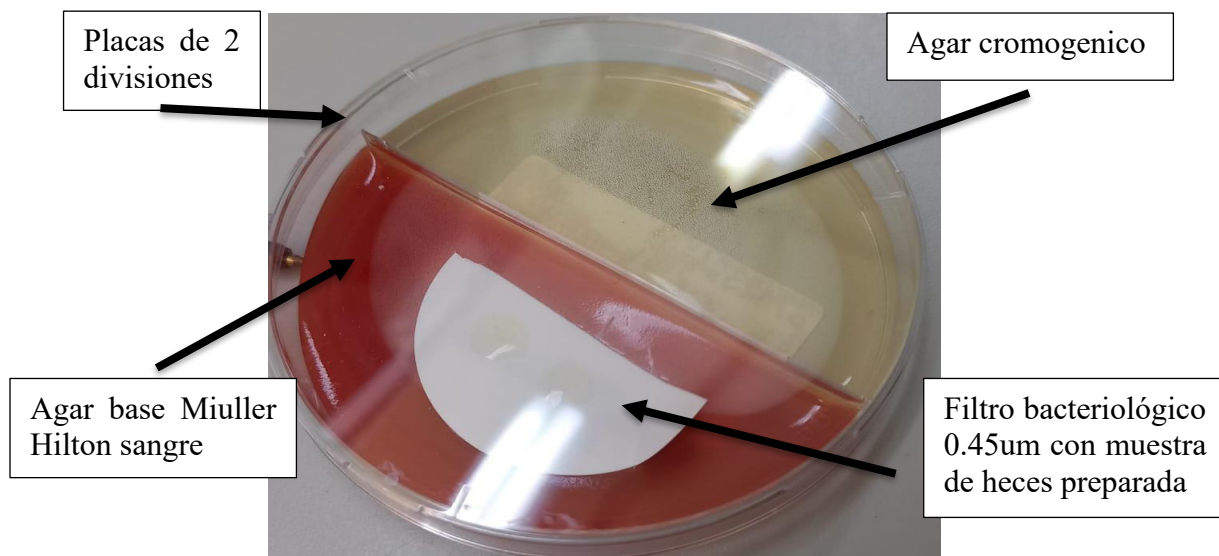


Figura A2: Jarra de anaerobiosis que se utilizó para el cultivo de *Campylobacter*.

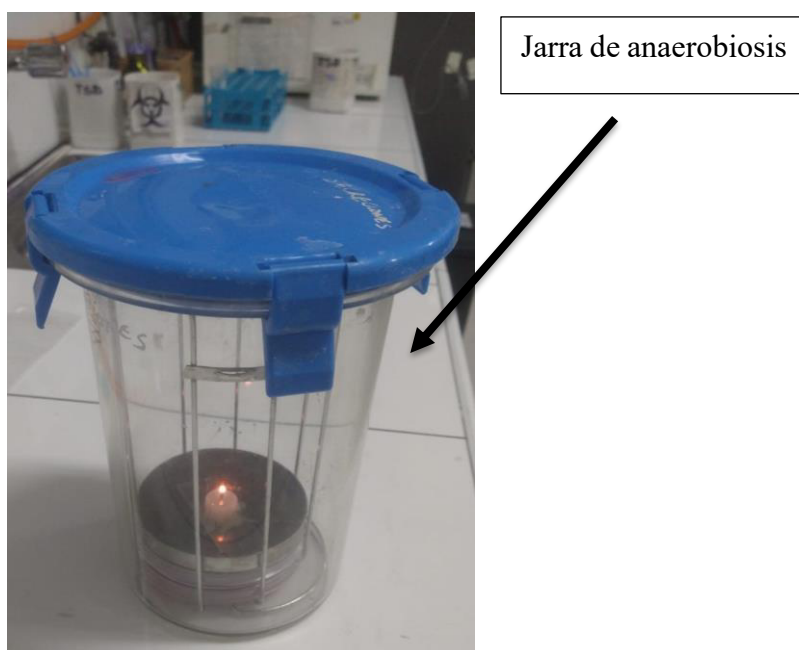


Figura A3: Colonias de *Campylobacter* a las 24 horas de incubación a 42°C en un ambiente microaerófilo.

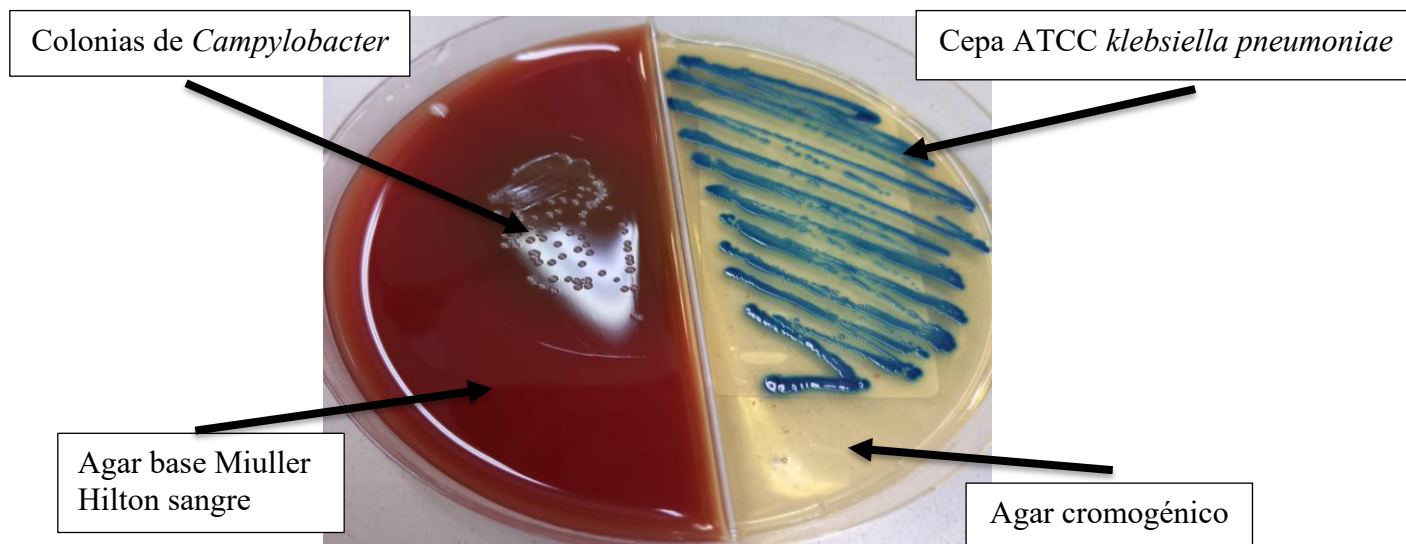


Figura A4: Pruebas complementarias como la cinta de la oxidasa virando a un color azul y la catalasa formando burbujas luego de su homogenización con las colonias.

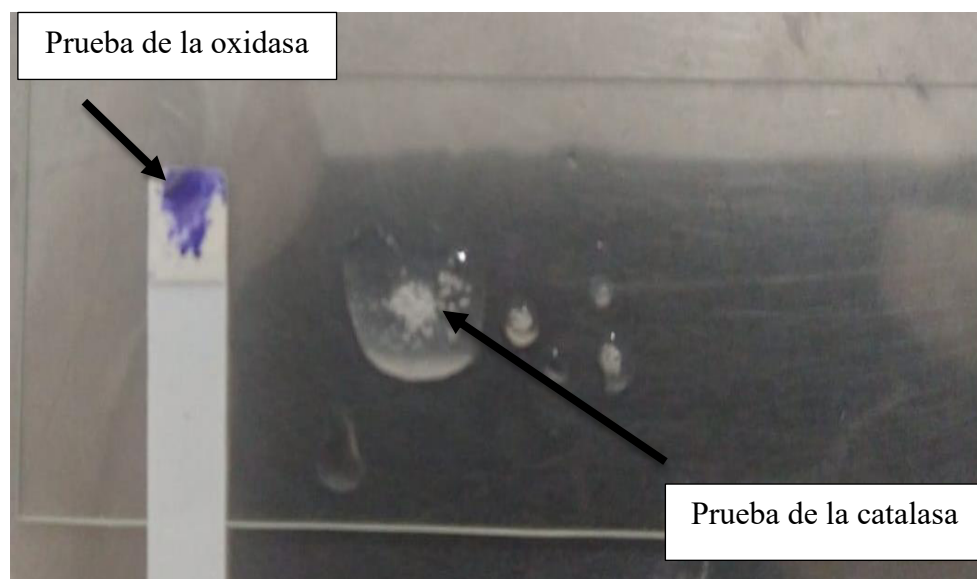


Figura A5: Fotografía de *Campylobacter*, vista al microscopio 100x con aceite de inmersión.

