

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**Frecuencia de *Campylobacter* spp en niños asintomáticos que asisten a la
escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio
El Júcaro, El Progreso**

Marilin Ivette Franco Vargas

Química Bióloga

Guatemala, julio de 2012

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**Frecuencia de *Campylobacter* spp en niños asintomáticos que asisten a la
escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio
El Júcaro, El Progreso**

Informe de Tesis

Presentado por

Marilyn Ivette Franco Vargas

Para optar el título de

Química Bióloga

Guatemala, julio de 2012

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph.D	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Fausto René Beber García	Vocal IV
Br. Carlos Francisco Porras López	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

- A Dios** Por ser mi guía, protector y estar a mi lado en todos los momentos de mi vida.
- A mis padres** Roselva Vargas y Hugo Franco, por la vida, su amor, respeto, apoyo, comprensión, educación, consejos y valores inculcados para mi desarrollo como mujer y como profesional.
- A mi hermana** Karin Ninneth Franco, por apoyarme siempre en las decisiones que he tomado y en los momentos en los cuales te he necesitado, te quiero mucho.
- A mis sobrinos** Kristhel y Víctor Hugo, por llenar mi vida de amor y Felicidad.
- A mis tías** Sara Vargas y Dora Vargas, por su apoyo, consejos y sobre todo por su cariño incondicional.
- A mis tíos y primos** Héctor Vargas, Rosa María Morales, Mauricio, Evelyn, Astrid, Cecilia, Gaby y José, por estar conmigo en buenos y malos momentos.
- A mis amigos** Ligia Casto, Cecy Castillo, Karla Silva, Anibal Cabrera, Marvin Donis y Karen Belteton, por la amistad incondicional que siempre me brindaron y estar conmigo en los buenos, pero sobre todo, en los momentos difíciles. Gracias por ser mis amigos, los quiero mucho!!!!.
- A mis amigos y amigas** Kareen, Nadya, Vicky, Mabel, Josue, Dámaris, Jorge, Nancy, Leslie, Laura, David, Ma. Paula, Silvia Morales, Julio. A todos por los buenos momentos que hemos compartido y por estar a mi lado en momentos difíciles.
- A todos mis compañeros de promoción**

AGRADECIMIENTOS

Universidad de San Carlos de Guatemala

Por permitirme estudiar y formarme como profesional en esta magnífica casa de estudios.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Por todos los conocimientos que me brindó para poder llegar a ser profesional.

Escuela de Química Biológica

Por permitirme recibir los conocimientos impartidos por dicha escuela y formarme como profesional.

Mis asesores

Lic. Jorge Matheu y Licda. Amanda Gálvez de Matheu, por todos los conocimientos, orientación, consejos y apoyo brindado. Muchas gracias por confiar en mí.

Mis Revisores

Licda. Alba Marina Valdés y Licda. Ma. Del Carmen Bran, por el tiempo y dedicación que tomaron para realizar aportes tan valiosos para la culminación de este trabajo.

Laboratorio Nacional de Salud

En especial al Área de Diagnóstico por abrirme las puertas para poder realizar esta investigación.

Mis catedráticos

Por sus conocimientos y enseñanzas.

Secretarías de Escuela

En especial a Shený y Doña Any, por el apoyo brindado.

ÍNDICE

I.	Resumen	1
II.	Introducción	3
III.	Antecedentes	
A.	Taxonomía	5
B.	Características morfológicas y bioquímicas	6
C.	Vías de transmisión	7
D.	Mecanismos de patogenicidad	8
E.	Sintomatología y complicaciones	9
F.	Tratamiento	10
G.	Control y prevención	11
H.	Epidemiología	12
I.	Aislamiento e identificación	15
J.	Información demográfica de El Jícaro	19
IV.	Justificación	21
V.	Objetivos	22
VI.	Hipótesis	23
VII.	Materiales y métodos	24
VIII.	Resultados	28
IX.	Discusión	31
X.	Conclusiones	33
XI.	Recomendaciones	34
XII.	Referencias	35
XIII.	Anexos	40

I. Resumen

Una de las enfermedades con mayor índice de morbilidad a nivel mundial es la diarrea, en Guatemala es uno de los problemas de salud más importantes ocupando el segundo lugar (1). *Campylobacter jejuni* es el microorganismo causal de aproximadamente 2 millones de infecciones anuales en Estados Unidos, llegando a ser más frecuente que las causadas por *Salmonella* y *Shigella* (2).

En el área rural de Guatemala la mayor parte de la población vive en condiciones sanitarias y nutricionales deficientes, dando lugar a que esta población se encuentre predispuesta a contraer una infección por *Campylobacter spp* (3).

El Jícaro es un municipio de El Progreso ubicado en la parte norte del país, en donde las condiciones socioeconómicas son deficientes. Por tal motivo, el presente estudio se enfocó en los posibles portadores asintomáticos de especies de *Campylobacter*, pretendiendo inicialmente establecer su frecuencia en la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, El Progreso. De la población captada (124 individuos), 10 presentaron síntomas de tipo gastrointestinal por lo que se excluyeron del estudio, contando con 114 muestras de heces estudiadas.

Se evaluaron algunos aspectos socioeconómicos relacionados con la probable infección por este microorganismo, como la disponibilidad de servicio de agua potable, presencia de animales en las casas, tipo de animales de crianza y/o mascotas. El 90 por ciento de los participantes contaban con servicio de agua potable en su vivienda, y el 81 por ciento afirma obtenerla de chorro que proviene de tanques y tuberías, el 19% restante utiliza diversos tipos de agua para consumo, lo cual reflejó que la calidad de agua utilizada para beber y eventualmente para cocinar es de buena calidad reduciendo la posibilidad de una infección por alguna especie de *Campylobacter spp*.

De las 114 muestras de heces analizadas en el frote directo con tinción de Gram modificada, solamente en 19 se observaron bacilos curvos gram negativo (BCGN), sugestivos de especies de *Campylobacter*. Aunado a esto se procedió al cultivo de las 114 muestras, resultando todos negativos.

El 98 por ciento de la población estudiada indicó la tenencia de animales en su vivienda, de los cuales el 95.6 por ciento poseían aves de corral, que como se sabe pueden ser portadores del microorganismo estudiado, razón por la cual se evaluaron 15 muestras de hisopado rectal de las aves que habitaban en la misma vivienda que los participantes, de las cuales 3 presentaron en el frote directo con tinción de Gram modificada, bacterias con morfologías presuntivas de especies de *Campylobacter*, además de crecer en el cultivo respectivo. Estos cultivos fueron nuevamente sometidos a la tinción de Gram modificada, obteniendo solamente en una, el resultado esperado, sin embargo la prueba bioquímica posterior de confirmación resultó en una oxidasa negativa, lo que la descarta de una identificación completa.

En el presente estudio no se demostró la presencia de *Campylobacter spp* en niños asintomáticos que asisten a la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, el progreso. Así como tampoco se demostró la presencia de *Campylobacter spp* en aves de crianza que conviven con los niños estudiados. Razón por la cual se concluye que *Campylobacter spp* no es un microorganismo de fácil aislamiento en poblaciones asintomáticas.

II. Introducción

La diarrea es una de las enfermedades que ha reportado un alto índice de morbilidad a nivel mundial; en Guatemala es uno de los problemas de salud más importantes, el cual ocupa el segundo lugar en frecuencia, reportándose en el año 2006, 357,317 casos de diarrea, de los cuales 160,314 se presentaron en niños de 1 a 4 años; 73,406 en menores de un año y el resto en pacientes de 4 a 60 años (1).

Son varios los agentes etiológicos causantes de diarrea, predominando *Shigella* sp., *Salmonella* sp. *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* y *Campylobacter* spp.; en Guatemala el mayor causante de enfermedad diarreica es *E. coli*, seguido por *Salmonella* y *Shigella*; las especies del género *Campylobacter* no son analizadas de rutina en muestras de heces, esto debido a que, a diferencia de otras enterobacterias patógenas, estas son de crecimiento exigente; es por ello que se desconoce la incidencia real de las infecciones causadas por este microorganismo ya que la enfermedad no se reporta de forma sistemática a las autoridades sanitarias (1,2).

En Estados Unidos se ha estimado que cada año se producen más de dos millones de infecciones por *Campylobacter jejuni* y que tales infecciones son más frecuentes que las causadas por *Salmonella* sp. y *Shigella* sp. en conjunto (3). En 1989 Pérez C., reportó que de una población de 300 pacientes menores de 2 años con diarrea se aisló *Campylobacter jejuni* en el 10% de la misma; por lo que concluyó que este es uno de los agentes etiológicos de diarrea infantil más importantes en Guatemala (4). En el año 2002, en Venezuela, Carrillo V. *et al* concluyeron que la presencia de portadores asintomáticos podría atribuirse a diferencias en el huésped; es decir, participación activa de la respuesta inmune, o al tipo de cepa involucrada, ya que se han descrito diversos factores de virulencia en estos microorganismos y que la inmunidad contra *Campylobacter* se adquiere como consecuencia de una o más infecciones por el mismo (5).

En Guatemala la mayor parte de la población vive en condiciones sanitarias y nutricionales deficientes, sobre todo en el área rural, particularmente la población infantil, los cuales son factores que predisponen a la infección por *Campylobacter* spp. En El Júcaro, municipio del departamento de El Progreso, muchas de las personas viven de la venta de leche cruda de vaca, productos lácteos, pollo, etc. O bien se encargan de la crianza de animales para autoconsumo. En este municipio se reportaron 819 casos de

diarrea durante el año 2007 de los cuales 162 casos correspondieron a mujeres de 1 a 4 años y 114 a varones también de 1 a 4 años (6).

Venezuela ha reportado la presencia de portadores asintomáticos de bacterias del género *Campylobacter* (5), sin embargo, en Guatemala actualmente no han sido realizados estudios para determinar si hay población que pueda ser portadora de dichas bacterias sin presentar sintomatología; es por ello que se realizó el presente estudio, el cual pretendió determinar la frecuencia de *Campylobacter* spp en portadores asintomáticos que asistían a la Escuela Oficial Urbana Mixta Gregorio Peralta en el municipio de El Jícaro, El Progreso y de esta forma poder evaluar la necesidad de incluir el análisis de *Campylobacter* spp en un coprocultivo o bien continuar con los análisis incluidos en los protocolos actuales.

Para este estudio se realizaron encuestas a cada participante, tomando en consideración su estado de salud y condiciones socioeconómicas relacionadas con la vivienda y servicios con los que contaba la misma (agua, electricidad, sanitarios), así mismo se tomaron muestras de heces, las cuales fueron procesadas por la técnica de filtración para el aislamiento de *Campylobacter* spp.

III. Antecedentes

A. Taxonomía

La infección por *Campylobacter* constituye una zoonosis de distribución mundial; en los países industrializados el microorganismo se transmite principalmente a través de alimentos de origen animal como la carne de aves mal cocida o cruda la cual es responsable del 50 – 70% de las infecciones esporádicas, mientras que en los países menos desarrollados predominan la transmisión por alimentos y aguas contaminadas con excretas, así como el contacto directo con personas o animales enfermos (7,8,9).

En 1913 en Gran Bretaña se reportó por primera vez microorganismos en forma de coma, como agentes causantes de aborto epizootico. Smith y Taylor, en 1919, informaron del hallazgo de microorganismos vibroides involucrados en aborto infeccioso de ganado vacuno y lo llamaron *Vibrio fetus*. En 1931 Jones *et al.* lo llamó de igual forma al aislarlo de ganado vacuno que presentaba desordenes intestinales; fue hasta 1944 cuando se aisló de cerdos con disentería y se le denominó *Vibrio jejuni* (10,11).

Los organismos del género *Vibrio* fueron posteriormente divididos en tres especies: *Vibrio fetus*, *Vibrio sputorum* y *Vibrio fecalis* (10).

En 1963 Veron y Chatelain recomendaron la transferencia de los vibrios microaerófilicos al género *Campylobacter* en la familia *Spirillaceae* quedando las especies como *Campylobacter fetus*, *Campylobacter sputorum* y *Campylobacter fecalis*. Las razones fueron que los organismos vibroides son anaerobios facultativos, poseen metabolismo fermentativo, producen ácido a partir de carbohidratos y tienen un contenido de guanina y citosina (G + C) de 40 a 53 moles por ciento, mientras que las especies de *Campylobacter* son microaerófilicos, tienen metabolismo respiratorio, no producen ácido a partir de carbohidratos y tienen un contenido de G + C de 29-36 moles por ciento (12).

En 1970 se descubrieron otras especies relacionadas con diarrea como *Campylobacter lari*, *Campylobacter upsaliensis*, *Campylobacter cinnaei*, *Campylobacter fennelliae* y *Campylobacter pylori*. De las cuales las tres últimas fueron trasladadas posteriormente al género *Helicobacter*. Actualmente se reconocen 16 especies pertenecientes al género *Campylobacter* y 6 subespecies siendo las más frecuentemente reportadas: *C. jejuni* (subespecie *jejuni*), *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis*. (13, 14,15,27).

B. Características morfológicas y bioquímicas

Las bacterias que pertenecen al género *Campylobacter* son bacilos curvos Gram negativo, frecuentemente adquieren formas de coma, C, S o en espiral (sacacorchos), por lo general su longitud es de 0.5 a 8 μm y su diámetro transversal oscila entre 0.2 y 0.5 μm ., muestran un movimiento muy activo debido a la presencia de un flagelo polar no envainado en uno o ambos extremos (13,16). Estos microorganismos crecen mejor en medios enriquecidos sólidos o líquidos incubados en un ambiente microaerófilico (5-7% de oxígeno, 10-12% de dióxido de Carbono y 85% de Nitrógeno); son bacterias de crecimiento lento, por lo general 48 horas, no esporoformadores, cuya temperatura óptima de crecimiento oscila entre 25 a 42°C; por lo que es considerado como un agente de crecimiento exigente (13,17).

Los microorganismos del género *Campylobacter* son oxidasa positivo, no fermentan los carbohidratos pero pueden ser distinguidos unos de otros por una variedad de pruebas bioquímicas; Es relativamente frágil, y sensible a las tensiones ambientales (21% de oxígeno, sequedad, calefacción, desinfectantes, condiciones ácidas) (17,18,19).

Los microorganismos del género *Campylobacter* pueden dividirse en dos grupos basados en la reacción de catalasa: los que presentan una reacción positiva a la catalasa son los mas frecuentemente asociados con enfermedad humana y las especies catalasa negativo (*Campylobacter upsaliensis*), siendo menos frecuentes que las especies catalasa positiva, también pueden causar daño a humanos pero menos severo (3,20).

C. Vías de transmisión

C. jejuni, *C. coli* y *C. lari* han sido aislados del tracto gastrointestinal y torrente sanguíneo de animales, lo cual confirma que la principal vía de infección es por alimentos o agua contaminados, esto incluye carnes (principalmente pollo), agua que se extrae de fuentes contaminadas (riachuelos de montañas o ríos) y productos lácteos sin pasteurizar, rara vez es transmitido de humano a humano por contacto directo con materia fecal (3,21,22).

La vía de transmisión fecal-oral es posible, en especial en niños sin control esfinteriano o en ambientes con condiciones sanitarias inadecuadas. La transmisión a partir de personas infectadas asintomáticas que manipulan los alimentos es rara, pero es frecuente cuando la infección es sintomática. La transmisión de *C. jejuni* se ve minimizada a temperatura de ambiente o inferior a esta (9).

Quan MA. en 1989, en Guatemala, concluyó que de 125 muestras de carcasas de pollo 21 fueron positivas para *Campylobacter* sp. por lo que es considerada como fuente potencial de transmisión e infección (23).

En 1990 en Nueva Zelanda fue reportado un brote de *C. enteritis*, afectando 116 personas, de las cuales entre 27 a 31 eran niños; en dicho brote el agua obtenida para consumo no había sido clorada ni filtrada antes de su uso, de las 116 personas 30(68%) fueron varones y habían desarrollado una enfermedad gastrointestinal que se definió como caso de *C. enteritis*. La sintomatología incluyó dolor abdominal (80%), diarrea (75%), cefalea (61%), náuseas (60%), fiebre (59%) y vómitos (de 11 de 14 personas con síntomas se aisló *C. Jejuni*). El patrón de la enfermedad clínica en las personas con cultivos confirmados para *C. enteritis* fue similar al de las personas cuya enfermedad no fue confirmada por cultivo (24,25).

D. Mecanismos de patogenicidad

Algunos de los mecanismos por los cuales *C. jejuni* produce enfermedad son aún desconocidos, sin embargo, se han identificado como factores de virulencia: toxinas, movilidad, invasión y adherencia; se ha propuesto que *C. jejuni* coloniza la mucosa intestinal humana de forma similar a las bacterias de la microbiota normal.

Esta bacteria posee morfología espiralada, es microaerofílica y puede penetrar fácilmente en el intestino. La adaptación a la mucosa intestinal y la movilidad son importantes factores de virulencia de *C. jejuni*. La toxina liberada por esta produce cambios citotóxicos en el tejido celular, mediante estimulación de la producción de AMP cíclico; el rol de la toxina en la patogénesis no ha sido definido aún, pero las bacterias que poseen cadenas con citotoxinas han causado diarreas más severas que los que tienen cadenas negativas para estas, la presencia de citotoxina ha sido correlacionada, también, en pacientes con diarrea con sangre (3,20).

El genoma de varias especies de *Campylobacter* ha sido ya secuenciado, aportando nociones sobre los mecanismos que les permiten causar patogenicidad (18). Las especies de *Campylobacter* contienen dos genes de flagelina uno detrás del otro (en tándem), denominados *flaA* y *flaB*, que proveen motilidad al microorganismo. La inactivación de los dos genes por separado mediante un método de mutagénesis conocido como *recombinación homóloga* permitió determinar que uno de los dos genes para flagelinas (*flaA*) es necesario para la invasión y que el *flaB* se expresa débilmente dentro de *Campylobacter* (16). Estos genes pasan tanto por recombinación intragenómica como intergenómica, lo cual contribuye más aún a la virulencia de la bacteria. Las cepas inmóviles no son colonizadoras (26, 27).

López JV, (1994) efectuó la comparación de 75 cepas de *C. jejuni* provenientes de diferentes aislamientos realizados en episodios diarreicos y no diarreicos de veinte niños de diferente familia; los resultados indicaron que el aislamiento repetido de *Campylobacter jejuni* de un mismo niño mostró reinfección por cepas diferentes, presentando un 100% de variabilidad y un patrón de ribotipos diferente en las cepas aisladas de un mismo niño; de esta forma se evidenciaron reinfecciones por diferentes cepas de *Campylobacter jejuni* (28).

E. Sintomatología y complicaciones

La sintomatología causada por *Campylobacter* puede variar presentándose fiebre, calambres abdominales y diarrea la cual al inicio es acuosa (parecida a la de cólera) y posteriormente puede contener sangre, moco y leucocitos (parecida a disentería) (3).

La infección puede confundirse con apendicitis o un problema pancreático. Los síntomas suelen aparecer de uno a siete días después de la ingestión del alimento contaminado y la diarrea se detiene generalmente en un periodo de dos a cinco días, aún sin tratamiento con antibióticos, ya que es autolimitante; en aproximadamente el 20% de los casos la diarrea dura más de tres a cuatro semanas o es recurrente (22,29,30).

Raramente, las complicaciones post-infecciosas pueden producir artritis reactiva, síndrome de Guillain-Barré, el cual es una polirradiculoneuropatía aguda autoinmune que afecta al sistema nervioso periférico, cuyo inicio se cree ocurre como resultado de un proceso infeccioso agudo, en donde hay un descontrol del sistema inmune; es frecuentemente severa y usualmente empieza como una parálisis ascendente con pérdida de fuerza en los miembros inferiores que posteriormente se irradia a los miembros superiores, alcanzando cuello y cara, con la consecuente pérdida de los reflejos tendinosos profundos (26,31,32).

Carrillo V. *et al* (2002) en el estudio, realizado en Venezuela, sobre la adherencia e invasión de campilobacterias termotolerantes en células HEp-2 comparó la capacidad que tienen diferentes cepas de *Campylobacter* para invadir y adherirse a las células HEp-2; para ello utilizó dos poblaciones una de pacientes que presentaron cuadro diarreico y otro de pacientes asintomáticos concluyendo que no se observó diferencia estadísticamente significativa en la adherencia e invasión de las cepas de *Campylobacter* provenientes de ambos grupos estudiados (5). La variación en las manifestaciones clínicas en estos pacientes y la presencia de portadores asintomáticos podría atribuirse a diferencias en el huésped; es decir, participación activa de la respuesta inmune, o al tipo de cepa involucrada, ya que varios estudios refieren que la inmunidad contra *Campylobacter* se adquiere como consecuencia de una o más infecciones (5).

Rajan P. ,en 1982, reportó que en la India el 14.8% de muestras de heces de personas saludables analizadas eran portadores de *Campylobacter fetus* Subsp. *jejuni* y que la tasa de aislamiento fue alta principalmente en niños de edad preescolar (32).

F. Tratamiento

La gastroenteritis causada por *Campylobacter* es autolimitante, sin embargo cuando se indica tratamiento, la eritromicina y las fluoroquinolonas son el tratamiento de elección; las cepas de *Campylobacter* aisladas de deposiciones humanas como de muestras obtenidas de animales y sus productos han demostrado un aumento en la resistencia a diferentes antibióticos.

Giacoboni. G. en un estudio realizado en Argentina en el año 2001 sobre la resistencia antibiótica en cepas de *Campylobacter jejuni* en carne de pollo seleccionó 28 cepas por su resistencia al ácido nalidíxico para analizar la susceptibilidad a eritromicina y norfloxacin. El 71.4 % de las cepas presentaron resistencia a eritromicina con una concentración mínima inhibitoria (CIM) de 64 ug/ml y todas las cepas mostraron resistencia a la norfloxacin con una CIM de 64 ug/ml; por lo que se indica que la alta resistencia mostrada para ambos antibióticos en carne de pollo aumenta el riesgo de transferir *Campylobacter* con estas características al humano, lo cual, dificulta la identificación del agente etiológico y el éxito de la terapia antimicrobiana (33).

González WP. reportó que en cepas de *C. jejuni* aisladas durante los años 1987 a 1989, en Guatemala, se encontraron como rangos de resistencia los siguientes: ampicilina 2%, tetraciclina 1% y para ciprofloxacina y eritromicina no se encontró resistencia, sin embargo, en cepas aisladas durante los años 1998-2000 se encontró resistencia para tres de los cuatro antibióticos, ampicilina y tetraciclina 50%, ciprofloxacina 33.3%, en eritromicina no se observó resistencia por lo que sigue siendo considerado el tratamiento a elección para infecciones causadas por *C. jejuni* (34).

Paz M, *et al*, en el año 2005 evaluó la actividad antimicrobiana contra especies de *Campylobacter* en plantas nativas de Guatemala documentando que las plantas usadas popularmente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales (T.

lucida, *P. guajava*, *N. lovata*, *S. americanum* y *B. crassifolia*) no tienen actividad contra el microorganismo, por lo que puede inferirse que las campylobacteriosis no pueden tratarse con medicina natural, sino, debe ser tratada con los antibióticos indicados anteriormente (35).

G. Control y prevención

La prevención de la infección por microorganismos del género *Campylobacter* requiere medidas de control en todas las etapas de la cadena de los alimentos, es decir, desde la producción agrícola en la granja hasta las condiciones del ambiente domestico en el cual se preparara o almacenará el alimento. No existen métodos probados para reducir contaminación por *Campylobacter* en granjas de ganado, es por ello, que la prevención de leche cruda no ha sido posible, por lo que se recomienda evitar su consumo (36).

La educación en la dirección higiénica de los alimentos para los trabajadores de los rastros implicados en la producción de carne cruda es esencial, debe procurarse disminuir la contaminación microbiológica al mínimo. Las medidas preventivas para la infección de *Campylobacter* en la cocina de la casa son similares a las usadas contra otras enfermedades bacterianas producidas por los alimentos; el único método eficaz de eliminar *Campylobacter* de los alimentos contaminados es la cocción a altas temperaturas (37,38).

En las prácticas de prevención es necesaria la colaboración de todos, tanto productores como administradores y consumidores, estos últimos deberían tener presentes una serie de prácticas básicas para prevenir este tipo de infecciones. Por ejemplo, se sabe que el frío impide la multiplicación de *Campylobacter*, en consecuencia se debe evitar romper la cadena del frío de los alimentos; otro método para evitar infecciones por *Campylobacter* es ingerir alimentos que estén suficientemente cocidos o fritos porque el calor lo elimina completamente; y por último se deben limpiar y desinfectar las superficies de cocina, en donde el microorganismo puede permanecer. La higiene personal juega también un papel importante, por ello se deben limpiar manos y uñas después de utilizar el baño para evitar su diseminación (39).

H. Epidemiología

En países en vías de desarrollo y desarrollados *Campylobacter* spp causa más casos de diarrea que las producidas por alimentos contaminados con *Salmonella* o *Shigella*. En estos, las infecciones en niños de edad menor a dos años son especialmente frecuentes, a veces dando por resultado la muerte (27).

La campilobacteriosis es una enfermedad infecciosa ocasionada por bacterias del género *Campylobacter*; *C. fetus* es una causa de abortos espontáneos en ganado y ovejas, y es también un patógeno oportunista en humanos (24,26).

C. jejuni subespecie *jejuni* es ahora una de las principales causas de intoxicación alimentaria en muchos países desarrollados, la infección por este ocurre mas frecuentemente durante los meses de verano; el microorganismo invade principalmente el tracto gastrointestinal de niños y adultos mayores y ha sido mas frecuentemente aislado de hombres que de mujeres (21,30).

Los estudios diseñados para detectar las especies patogénicas para humanos han revelado que *C. fetus* es responsable de menos del 1% de los casos de enteritis por *Campylobacter*. En países en desarrollo su epidemiología está más asociada a contaminación fecal del ambiente al igual que ocurre con el resto de los agentes causantes de diarrea (40).

Aunque *Campylobacter* spp. fue reconocido en Guatemala como un importante patógeno hace 20 años su epidemiología esta poco estudiada debido a falta de análisis y recursos en los procedimientos de rutina para la caracterización clínico microbiológica de las cepas; esto ha impedido establecer datos epidemiológicos en la población (40,41).

La enteritis por *Campylobacter* ha sido reportada en América del Norte, Europa, África, Asia y Australia. Brotes pequeños han sido observados en familias o en instituciones; en la primavera de 1978, en Vermont, Estados Unidos ocurrieron aproximadamente 2000 casos(41). Los reportes de Europa sugieren que la mayoría de casos ocurre en verano (17, 42,43). Según Robert V, *et al* (1982-1986) en Estados Unidos el 76% de aislamientos realizados en muestras de heces

Campylobacter jejuni y *Campylobacter coli* fueron las especies predominantes (44).

Zanuncini RM. en 1981 analizó 100 muestras de heces diarreicas y reportó que *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* no era un agente común causante del síndrome diarreico agudo en el área urbana de la ciudad de Guatemala (40).

En 1989 Pérez CE. reportó que de una población de 300 pacientes menores de 2 años se aisló *Campylobacter jejuni* en el 10% de la misma; por lo que concluyó que este es uno de los agentes etiológicos de diarrea infantil mas importantes en Guatemala (4).

Cruz J. reportó en 1989, en un estudio realizado a niños de áreas marginales de la ciudad de Guatemala, que los infantes sufren de 2 a 5 episodios de diarreas por año de los cuales el 9.4% persisten al menos 14 días (38). Los niños menores de seis meses sufren más enfermedad diarreica persistente que los mayores, siendo un factor importante la morbilidad diarreica previa y el número de enteropatógenos que infectan al individuo. En este estudio *Campylobacter jejuni* fue reportado como uno de los patógenos mas comúnmente asociados a diarrea persistente (38). En 1994, López JV. reportó que la frecuencia de *Campylobacter jejuni* en niños del área rural de Guatemala era de 12.1%; del cual el 7% resultó en disentería (28).

En personas infectadas con VIH/SIDA la diarrea puede ser causada por diversos agentes oportunistas entre ellos *Campylobacter* el cual se asocia a la liberación de toxinas cuyas funciones son estimular la secreción intestinal de agua, cloro y sodio (43). En una investigación realizada en Paris, Francia, Molina *et al* (1995) reportaron que la infección por *Campylobacter* fue documentada en 76% de los pacientes que presentaban el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). *Campylobacter* spp. fue aislado en heces del 72% de los casos y de cultivos de sangre en un 8 %. Las especies identificadas fueron *C. jejuni* (84%) y *C. coli* (16%) (44).

Font C. *et al*, en un estudio realizado en Barcelona, España en 1997 determinó que la proporción de mortalidad en pacientes con *C. jejuni* era de 30.8%; en todos los casos fatales *C. jejuni* era resistente a la antibioticoterapia empírica instituida.

Se detectó resistencia a ciprofloxacina creciente en las cepas durante ese periodo; la cual alcanzó una resistencia de 75% en los últimos años. La susceptibilidad antimicrobiana a eritromicina y aminoglucósidos se mantuvo en todas las cepas analizadas (45).

1. Incidencia

C. jejuni subsp. *jejuni* es reconocido como una de las mayores causas de gastroenteritis bacteriana aguda y puede causar serio daño al hospedero; *C. coli* y *C. lari* también son causantes de gastroenteritis pero con menor frecuencia que *C. jejuni*. Estudios realizados sugieren que la dosis infectiva de *C. jejuni* es de 400 a 500 UFC, presentando un periodo de ventana de 1 a 10 días; el cuadro clínico es autolimitante y dura entre 2 a 5 días, el uso de antibióticos no varía el curso clínico sólo elimina la bacteria (46).

En el año 2002 el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) reportó que en la población de Estados Unidos los patógenos responsables de la mayoría de casos de diarrea fueron *Salmonella* (16.1 casos /100,000 personas), *Campylobacter* (13.4 casos/100,000 personas), *Shigella* (10.3 casos /100,000 personas), *Escherichia coli* O157:H7 (1.7 casos /100,000 personas) y *Cryptosporidium* (1.4 casos /100,000 personas) (47).

Estudios realizados infieren que en países en desarrollo la frecuencia de infecciones por *Campylobacter* se encuentra en un porcentaje mayor que otras bacterias; principalmente *Escherichia coli* enteropatógena y *Shigella*, sin embargo, se han reportado casos en los que la frecuencia de *Campylobacter* en niños con diarrea y en controles sin diarrea es similar (8,13,47).

En Guatemala, Camas MA. reportó (2006) que *Campylobacter* spp. no es un agente común causante del síndrome diarreico agudo, ya que fue aislado únicamente en una de 502 muestras de heces analizadas referidas al Laboratorio Nacional de Salud del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala; al igual que el informe de Zanuncini en el año 1981, sin embargo, esto difiere de Pérez C. y Cruz J quienes en 1982 infirieron que *Campylobacter* si era un agente causal de diarrea en el país (4,28,45,48).

El cociente estimado caso/fatalidad reportado para las infecciones de *Campylobacter jejuni* es de 0.1, significando una muerte por cada 1000 casos de infección. Las fatalidades son raras en pacientes sanos, ocurren generalmente en pacientes inmunocomprometidos (24).

I. Aislamiento e identificación

Existen varios factores importantes para el aislamiento de *Campylobacter* entre los que se pueden mencionar: enriquecimiento y selectividad del medio de cultivo, concentración de oxígeno y dióxido de carbono en la atmósfera de incubación y temperatura de incubación (17).

La bacteria es frágil, no puede tolerar la deshidratación y puede destruirse con la presencia de oxígeno en altas cantidades. Crece solo si existe menos oxígeno que la cantidad atmosférica en el entorno. La congelación evita la proliferación de bacterias de *Campylobacter* (47).

Campylobacter spp se conoce como una especie de crecimiento exigente, sin embargo, sus necesidades nutritivas no son especialmente complejas por lo que se pueden cultivar en varios medios peptonados incluyendo el caldo nutritivo; pueden presentarse problemas en cuanto a su sensibilidad al oxígeno y a sus derivados activos; si bien las cepas de *Campylobacter* patógenas poseen catalasa y superoxidodismutasa, la acumulación de peróxidos y superóxido durante el almacenamiento o durante la incubación puede inhibir el crecimiento; es por ello que para cultivar habitualmente se utiliza una atmósfera de incubación con un 5-7% de oxígeno, 10-12% de dióxido de carbono y el 85% de Nitrógeno y medios que contienen compuestos que tienen la propiedad de captar el oxígeno, tales como sangre, piruvato, sales ferrosas, carbón y metabisulfito (14).

Después del enriquecimiento selectivo durante 24 a 48 horas en condiciones de microaerobiosis a 42 – 45 °C las muestras se diseminan por estrías de superficie en placas de medios selectivos, de los cuales los mas utilizados son Skirrow, Butzler y Campy BAP, es importante conservar los medios preparados en nitrógeno a 4 °C y fuera del alcance de la luz con el fin de reducir la formación de óxidos tóxicos (14).

La temperatura de crecimiento de *Campylobacter* sp. varía de 35-45°C, siendo la temperatura óptima para las especies más frecuentes de 42-45°C, no es capaz de resistir las temperaturas de cocción ni de pasteurización. El diagnóstico etiológico se realiza por aislamiento del microorganismo (14,17,49).

1. Transporte de espécimen y cultivo

C. jejuni se encuentra en las heces a 25°C por pocas horas, pero sobrevive por lo menos 2 semanas a 4 °C en heces, leche, agua y orina. Así, los especímenes en el hospital que no pueden ser procesados en pocas horas pueden ser colocados en un refrigerador uno o dos días. Los microorganismos que se encuentran en hisopados pueden ser inoculados en medios de transporte como Cary- Blair, el cual se almacena a 4°C, los cultivos puros de *C. jejuni* deben ser almacenados a una temperatura adecuada en un caldo semisólido brucella enriquecido con sangre de oveja en un 10% (50).

2. Selección del medio de cultivo primario

Se ha informado que en condiciones ambientales desfavorables las especies de *Campylobacter* adoptan un estado viable no cultivable en donde el microorganismo no puede ser aislado por métodos de cultivo, no obstante, sigue siendo infeccioso. La confirmación de este estado es contradictoria si bien, estudios han demostrado que los microorganismos viables no cultivables de *Campylobacter jejuni* son capaces de revertir al estado cultivable mediante el pase por un hospedero animal (14).

3. Filtración

Desde Dekeyser *et al* (Estados Unidos 1972) se ha utilizado la técnica de filtración para demostrar la presencia de *Campylobacter* en heces de pacientes con diarrea; esto ha venido a demostrar que la enteritis por *Campylobacter* es bastante común. Pero la introducción del medio selectivo de Skirrow generó un avance en reportes de gastroenteritis causada por *Campylobacter* (51,52,55).

Campylobacter jejuni fue la primera especie aislada de heces diarreicas en humanos en 1972, usando la técnica de filtración desarrollada en medicina veterinaria (46, 51,56).

La modificación usada por Grant, *et al*, es simple y rápida; se suspende 1 gramo de heces en 20 mililitros de solución salina o en caldo de infusión de cerebro corazón, luego de agitar vigorosamente se centrifuga y se pasan 4 a 5 mililitros de sobrenadante a través de dos cámaras con filtros de 0.45 o 0.66 μm . El filtrado es inoculado en agar sangre y/o chocolate e incubado a 42°C de 24 a 48 horas en condiciones microaerofilicas. Las colonias de *C. jejuni* crecen bien y son muy características en este medio (29, 52,57,59).

4. Medio selectivo

Este medio consiste en agar sangre de caballo o de oveja, suplementado con mezclas de antibióticos tales como polimixina B, trimetroprim sulfametoxazol y otros antibióticos como agentes selectivos. Sin embargo debe mencionarse que este medio contiene cefalotina la cual inhibe el crecimiento de *C. hyointestinalis* mientras que *C. jejuni* crece satisfactoriamente. En algunos casos las células microbianas aisladas de las heces han sido dañadas sub-lealmente como resultado de la congelación, desecación o calentamiento y en consecuencia, son más sensibles a los antibióticos y a los derivados tóxicos del oxígeno, esto puede significar que no crecerán en medios selectivos habituales a no ser que se les conceda un determinado tiempo para que se recuperen, como un periodo de regeneración de 4 horas a 37°C en un medio no selectivo (13,52). Se recomienda colocar muestras presuntivas de *Campylobacter* en medio de cultivo enriquecido únicamente cuando se espera un bajo número de microorganismos (59). Los medios selectivos pueden ser Agar Skirrow, Butzler y Campy –BAP (17).

5. Atmósfera e incubación

El cultivo debe ser incubado en una atmósfera microaerofílica de 5-7% de oxígeno, 10-12% de dióxido de carbono y 85% de Nitrógeno (17). Especies termófilas de *Campylobacter* crecen mejor de 42 a 43°C que a 37°C, la mayor temperatura actúa como inhibidor de la flora fecal (59) (anexo 5).

6. Pruebas para identificación

Para todos los procedimientos prácticos, el género *Campylobacter* es identificado por los siguientes criterios:

a) Observación microscópica de heces

En algunos casos la observación directa de las heces al microscopio de luz de contraste de fases puede ser de ayuda en el diagnóstico de *Campylobacter* spp. (11).

Se observan movimientos característicos de dardo bajo el campo oscuro o en un microscopio de contraste de fases, este microorganismo se mueve a una velocidad de 19 m/seg (13,17).

b) Morfología de las colonias

A las 48 horas de incubación la bacteria puede mostrar dos tipos morfológicos de colonias: si se ha inoculado en un medio seco previamente incubado 24 horas a 35°C se formarán colonias convexas de aproximadamente 1 mm de diámetro e incoloras, pero si el medio de cultivo es fresco, lo cual significa que tiene mucha humedad, las colonias son mas grandes, tendiendo a adquirir un aspecto de gota, cuyo eje mayor se orienta en el sentido del rayado, que incluso puede hacer que en las zonas de cultivo mas densas de la placa las colonias tiendan a tocarse unas a otras. Este último morfotipo colonial se debe al movimiento activo de *Campylobacter* por lo que en medio fresco las bacterias se alejan del centro de la colonia lo que hace que estas tengan ese aspecto de gotas de agua (13).

Las colonias no son hemolíticas y tienen aspecto plano y acuoso con bordes irregulares y un colorido gris o ligeramente pardo. Las colonias sospechosas se examinan al microscopio para estudiar la movilidad y morfología, después de su purificación, se someten a una serie de pruebas (14).

c) Coloración de Gram

Para esta se emplea fucsina carbónica como colorante de contraste o se deja safranina por 15-30 minutos, esta modificación es especial para *Campylobacter* (17).

Se observan bacilos curvados, gram negativo con forma de coma, S, C, espiral o de alas de gaviota ocasionalmente (17).

d) Pruebas bioquímicas: oxidasa, catalasa, fermentación de la glucosa, reducción de nitratos, sensibilidad al ácido nalidíxico, producción de H₂S, hidrólisis del hipurato (Anexo 4).

e) Pruebas de Biología Molecular: PCR

J. Información demográfica del municipio El Júcaro del departamento de El

Progreso

El municipio de El Júcaro, forma parte del departamento de El Progreso, situado al oriente de la república, su cabecera municipal se encuentra a poca distancia de las márgenes del río Motagua (58).

El municipio de El Júcaro, fue creado por acuerdo gubernativo el 31 de agosto de 1908, cuando era aldea del municipio de San Cristóbal Acasaguastlán. El Júcaro se nombró como municipio independiente con la jurisdicción de las aldeas El Zapote, El Paso de los Jalapas, Lodechina, La Chacha, Las Ovejas, Los Bordos, El Espíritu Santo, El Tambor y Agua Caliente (58).

La extensión territorial del municipio es de 228 caballerías, 47 manzanas. El clima es cálido, variable en los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero, soplando fuertes vientos en los meses de agosto y septiembre (58).

En el municipio de El Júcaro cruzan los siguientes ríos:

- A. Río Motagua: el agua de este río es utilizada para riego que los agricultores conducen a los lugares correspondientes bajo sistemas de canales o bombas mecánicas.

- B. Río de El Tambor y Río de Las ovejas los cuales tienen su origen en Jalapa, son utilizados por la población para riego y servicios domésticos, estos cruzan el municipio de sur a norte y son afluentes del Motagua.
- C. Río Anshagua: es un río pequeño que entra al municipio por el oeste, se une con el río las Ovejas en un lugar denominado El Encuentro y su recorrido es de ocho kilómetros aproximadamente hasta su desembocadura.

El municipio de El Júcaro cuenta con los servicios de agua potable, energía eléctrica, correos, centro de salud, 9 escuelas en todo el municipio (58).

El área de Salud del departamento de El Progreso reportó 819 casos de diarrea durante el año 2007 de los cuales 162 casos correspondieron a niñas de 1 a 4 años y 114 a niños de 1 a 4 años ; así mismo dos de los casos de diarreas fueron diagnosticados como intoxicaciones alimentarias (6).

IV. Justificación

Las bacterias pertenecientes al género *Campylobacter* han sido reportadas como principales causantes de infección gastrointestinal en países desarrollados; estas afectan, en su mayoría, a niños, adultos mayores y personas inmunocomprometidas. Las infecciones son asociadas con ingestión de carnes o agua contaminados y productos lácteos sin pasteurizar. A nivel mundial el 94% de las defunciones es a causa de enfermedades diarreicas, sin embargo estudios han reportado que pacientes pueden ser portadores de *Campylobacter spp* a pesar de no presentar sintomatología lo cual se ha observado, principalmente, en poblaciones de edad preescolar (13, 30, 53).

En la actualidad, en Guatemala, no se ha analizado la prevalencia de infecciones por *Campylobacter spp* en niños, a pesar de haber obtenido resultados positivos 20 años atrás (4,29) lo cual sería de gran importancia evaluar, ya que las condiciones socioeconómicas de nuestra población permiten que las personas no consuman productos lácteos pasteurizados ni cuenten con agua potable o algún sistema de purificación de la misma; siendo estas algunas de las principales vías de infección por dicho microorganismo.

En la mayoría de laboratorios clínicos para análisis de un coprocultivo únicamente se investiga *Salmonella sp*, *Shigella sp* y *Vibrio cholerae*; *Campylobacter spp* por ser un microorganismo de crecimiento exigente o bien por falta del material o equipo para su aislamiento no es analizado como agente causal.

Estudios han reportado que existen grupos de portadores asintomáticos de *Campylobacter spp* lo cual esta relacionado con el sistema inmunológico del portador; es por ello que es de vital importancia evaluar la presencia de portadores asintomáticos de *Campylobacter spp* en la población guatemalteca, por lo que se realizó el análisis de muestras de heces de niños asintomáticos que asistían a la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Júcaro.

V. Objetivos

A. GENERAL

Determinar la frecuencia de *Campylobacter* spp en niños portadores asintomáticos que asisten a la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, El Progreso.

B. ESPECÍFICOS

1. Establecer las especies más frecuentes de *Campylobacter* spp
2. Determinar la frecuencia de *Campylobacter* spp por género y edad.
3. Establecer la tenencia de animales domésticos o aves de corral con *Campylobacter* spp en los portadores asintomáticos.

VI. Hipótesis

Por ser una investigación de tipo descriptivo no se incluyó hipótesis.

VII. Materiales y métodos

A. Universo y muestra de trabajo

1. Universo

Niños que asistían a la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta municipio El Jícaro, El Progreso, que no presentaron sintomatología de enfermedad gastrointestinal (diarrea, dolor abdominal, vómitos, fiebre, etc.)

2. Muestra

114 muestras de heces de niños de la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, El Progreso, durante los meses de abril y mayo del año 2010.

B. Recursos

1. Humanos

- a) Tesista: Marilin Ivette Franco Vargas
- b) Asesor: Licenciada Amanda Gálvez
- c) Técnicos del Laboratorio Nacional de Salud, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

2. Institucionales

- a) Escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, El Progreso
- b) Área de Bacteriología del Laboratorio Nacional de Salud

C. Materiales

1. Equipo

- a) Hielera
- b) Recipientes para recolección de muestras de heces
- c) Baterías frías
- d) Refrigerador 4°C
- e) Incubadora 42°C
- f) Incubadora 37°C
- g) Jarra para anaerobiosis

- h) Microscopio
- i) Asa en argolla
- j) Asa en punta
- k) Centrifugadora
- l) Mechero

2. Material

- a) Membranas de celulosa con poros de 0.45 μm
- b) Láminas portaobjetos
- c) Láminas cubreobjetos
- d) Placas de petri
- e) Tubos de ensayo
- f) Campanillas de Durham

3. Reactivos

- a) Cristal Violeta
- b) Lugol
- c) Alcohol Acetona
- d) Safranina
- e) Solución salina
- f) Reactivo de Kovac
- g) Peróxido de hidrógeno al 3%
- h) Reactivo A para prueba de nitratos (α -Naftilamina 0.5%).
- i) Reactivo B para prueba de nitratos (ácido sulfanílico 0.8%)

4. Medios y reactivos para identificación de *Campylobacter* spp

- a) Medio de transporte Cary Blair
- b) Medio de cultivo agar Mueller Hinton + Sangre
- c) Agar glucosa
- d) Caldo nitrado
- e) Discos de ácido nalidíxico para susceptibilidad antibiótica

D. Metodología

Se solicitó el consentimiento de los padres de familia para realizar el análisis de muestras de heces de sus hijos enfatizando la importancia del estudio; a los participantes se les elaboró una ficha en la cual se incluyeron los datos personales de cada uno, así como las condiciones de la vivienda y servicios con los que cuentan (agua, electricidad, sanitarios, etc.) (Anexo 1) se excluyó a los pacientes que presentaron sintomatología.

Se recolectaron 114 muestras de heces de niños asintomáticos que asistían a la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, El progreso, seleccionados totalmente al azar, las cuales fueron colocadas en medio de transporte Cary Blair y transportadas en cadena de frío (4°C) al Laboratorio Nacional de Salud para su posterior análisis. Se realizó la metodología que se muestra en el anexo 2 y de las muestras que presentaron colonias con características presuntivas de *Campylobacter spp* se realizaron pruebas de identificación (Anexo 3).

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el uso de gráficas y tablas descriptivas; así mismo fueron utilizadas medidas de frecuencia para el cálculo de la prevalencia de portadores asintomáticos de *Campylobacter spp*.

1. Diseño de Investigación

A. Población

Niños asintomáticos de la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, El Progreso.

B. Tamaño de la muestra

114 muestras de heces de niños asintomáticos de la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, El Progreso seleccionadas totalmente al azar de la población total.

Para el cálculo estadístico de frecuencia, se consideró un mínimo de muestras de 97 niños, para un nivel de confianza del 95%; un límite de error del 10% y asumiendo la máxima variación de una variable binomial ($\sigma^2=0.25$)

C. Diseño de muestreo

Probabilístico. Totalmente al azar, proporcional por año de escolaridad.

D. Análisis de resultados

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante tablas y gráficas descriptivas, así como por el cálculo de medidas de frecuencia, como lo es la prevalencia de pacientes asintomáticos portadores de *Campylobacter spp* la cual tuvo un intervalo de confianza del 95%.

VIII. Resultados

Se recolectaron 124 muestras de heces de niños que asistían a la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, El Progreso, de las cuales, 10 fueron excluidas debido a que los participantes presentaron síntomas de tipo gastrointestinal, contando con 114 muestras de heces estudiadas (tabla No.1).

Tabla 1. Datos iniciales de la población en estudio (n=124)

Descripción	Número
Total de muestras de heces humanas	124
Muestras humanas procesadas	114
Hombres	80
Mujeres	34
Muestra humanas excluidas	10
Hombres	8
Mujeres	2

Fuente de datos: Experimental

Antes de proceder al análisis de muestras se evaluaron algunos aspectos socioeconómicos relacionados con la probable infección por este microorganismo, como la disponibilidad de servicio de agua potable, presencia de animales en las casas, tipo de animales de crianza y/o mascotas (tabla No. 2).

Como se puede observar en dicha tabla, el 90% de los participantes contaban con servicio de agua potable en su vivienda, el 72.81 por ciento afirma utilizar agua de chorro para consumo, la cual proviene de tanques y tuberías, el 27.19% restante utiliza diversos tipos de agua para consumo.

Tabla 2. Aspectos socioeconómicos relacionados con la probable infección por *Campylobacter spp.*

Descripción	Número	Porcentaje (%)
Agua no potable en la vivienda	11	9.65
Agua potable en la vivienda	103	90.35
De chorro	83	72.81
Envasada	12	10.53
Clorada	3	2.63
Hervida	3	2.63
No indican fuente	13	11.4
Animales habitantes en viviendas	112	98.25
Aves de corral	107	95.53
Cerdos	45	40.18
Vacas	6	5.36
Otros	20	17.86
Animales muestreados	15	
Pollo	10	
Gallina	3	
Gallo	1	
Pato	1	

Fuente de datos: Experimental

Con respecto a los animales en vivienda, el 98 por ciento indicó la tenencia de animales en su vivienda, de los cuales el 95.53% poseían aves de corral (Tabla No.2).

Con relación a la recolección y cultivo de las muestras de heces para el aislamiento de las especies de *Campylobacter*, se realizó inicialmente una tinción de Gram modificada, la cual demostró que de las 114 muestras de heces analizadas en el frote directo solamente en 19 se observaron bacilos curvos gram negativo (BCGN), sugestivos de especies de *Campylobacter*. Aunado a esto se procedió al cultivo de las 114 muestras, no obteniendo aislamiento de colonias presuntivas de *Campylobacter* en ninguno.

Otro factor estudiado fue la presencia del microorganismo en aves y considerando que la población estudiada poseía aves de corral para la crianza se realizó un muestreo de hisopado rectal en 15 de estos animales, siendo 10 provenientes de pollos, 3 de

gallina, 1 de gallo y 1 de pato. De las 15 muestras de hisopado rectal de aves analizadas, 3 presentaron en el frote directo con tinción de Gram modificada, bacterias con morfologías presuntivas de especies de *Campylobacter*, además de aislar colonias presuntivas en los cultivos respectivos.

A las colonias presuntivas de especies de *Campylobacter* aisladas en los cultivos se les realizó una tinción de gram modificada, obteniendo solo en una Bacilos curvos Gram negativo, a dichas colonias se les efectuó como prueba inicial la determinación de citocromo oxidasa resultando negativo, lo cual descarta que las colonias aisladas pertenezcan a especies del género *Campylobacter* (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de *Campylobacter* spp en las diferentes muestras estudiadas.

Tipo de muestra	No. De muestras	Tinción de Gram directa		Cultivo		Gram de cultivo		Citocromo Oxidasa	
		*BCGN	Otras morfologías	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Heces humanas	114	19	95	0	114	0	0	**NA	**NA
hisopado rectal de aves	15	3	12	3	12	3	0	0	3

Fuente: Datos experimentales

* Bacilos curvos gram negativo

** No aplica

IX. Discusión

Para determinar la frecuencia de portadores asintomáticos de *Campylobacter* spp se muestrearon 124 estudiantes que asistían a la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta; sin embargo, 10 de ellos fueron excluidos por haber presentado sintomatología sugestiva de gastroenteritis durante 10 días previos a la toma de muestra. Esto proporcionó una población de 114 estudiantes, de los cuales el 70 por ciento eran hombres y el 30 por ciento mujeres, comprendidos en las edades de 5 a 14 años (Tabla 1).

De las 114 muestras de heces humanas analizadas ninguna demostró presencia de alguna especie de *Campylobacter*, esto definitivamente interfiere con el logro de los objetivos planteados previo al estudio, que principalmente eran determinar la frecuencia de *Campylobacter* spp en niños portadores asintomáticos estudiados. Consecuentemente no se consiguió establecer especies más frecuentes ni relacionarlo con género y edad, lo cual pudo deberse a bajo número de organismos por gramo de heces, razón por la cual no se logró el aislamiento de *Campylobacter* spp, por lo cual se recomienda para estudios posteriores en población asintomática utilizar otra técnica para la detección y aislamiento de dicho microorganismo, como la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), la cual es más sensible que la técnica empleada.

Lo anterior también puede ser debido a que el 90 por ciento de los participantes tenía acceso a servicio de agua potable en su vivienda lo que reduce las posibilidades de infección por el microorganismo estudiado ya que se ha demostrado que, en el caso de las especies de *Campylobacter*, el agua puede ser una de las principales fuentes de infección. Sin embargo existe un 10 por ciento que sin contar con este servicio aumenta las posibilidades de contaminación. Estos datos disminuyen considerablemente las oportunidades de un aislamiento de *Campylobacter* spp debido a que el agua se considera como fuente primaria de infección (18,47).

Los resultados obtenidos reflejan que la calidad de agua utilizada para beber y eventualmente para cocinar es de buena calidad reduciendo la posibilidad de una infección por alguna especie de *Campylobacter*.

El 98.25% de los participantes indicó tener animales domésticos en su vivienda, estos animales (tabla No. 2) son de crianza en su mayoría que tienen contacto con la población. Dentro de estos animales de crianza encontramos aves de corral que son conocidas como portadores de especies de *Campylobacter*, por lo que se buscó directamente en ellas la presencia del microorganismo. Se tomaron 15 muestras de hisopado rectal y en ninguna de las aves se pudo demostrar lo mencionado probablemente por las razones siguientes, hay que analizar primariamente que la toma del hisopado rectal se realizó una sola vez, lo cual pudo no haber sido suficiente para lograr el aislamiento. Aunado a esto, la concentración que pudo haber estado presente en el animal no era la suficiente para un cultivo positivo (10^4 células de *Campylobacter*). Analizando estas probabilidades una segunda o tercera toma de muestra podría ser recomendada, así mismo la utilización de otras técnicas con mayor sensibilidad y especificidad como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que podría dar mejores resultados, demostrando la presencia del microorganismo a concentraciones muy bajas. En los animales de mayor edad se ha referido una mejor recuperación del microorganismo sin embargo en este estudio no se determinó la edad de los mismos (24).

Por otro lado las condiciones climáticas de Guatemala cambian constantemente y para un estudio como este también hay que considerar el tiempo necesario para los trámites administrativos por lo que no se pudo realizar el análisis en la época lluviosa que aumentaría las posibilidades de recuperación.

Para validar las pruebas y metodologías empleadas se realizaron controles de calidad con cepas ATCC lo cual garantizó la calidad de los medios de cultivo, así como que la técnica utilizada para realizar cada una de las pruebas fuera la correcta. El proceso de las muestras consistió en la recolección de las muestras de heces que siguieron una cadena de frío óptima en el medio de transporte Cary Blair que es el recomendado para estos procesos y posteriormente analizadas como indica el anexo No.2, en el cual se puede ver la dilución en solución salina para efectuar la primera prueba de Gram modificado directo y otra porción igualmente diluida para el cultivo. Estos procesos fueron cuidadosamente realizados por lo que difícilmente puedan ser un factor influyente en el no aislamiento del microorganismo. Sin embargo si cabe algún margen de error, una modificación al filtrado o inclusive una centrifugación del material fecal concentraría mayor

cantidad de material y así aumentar la probabilidad de asilamiento, debe considerarse entonces para ser incluida en la metodología en posteriores estudios.

X. Conclusiones

1. No se demostró la presencia de *Campylobacter spp* en niños asintomáticos que asisten a la escuela oficial urbana mixta Gregorio Peralta del municipio El Jícaro, el progreso.
2. No se demostró la presencia de *Campylobacter spp* en aves de crianza que conviven con los niños estudiados.

XI. Recomendaciones

1. Emplear pruebas más sensibles y específicas, como la técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR) para el aislamiento primario de especies de *Campylobacter* en poblaciones asintomáticas.
2. Analizar y estudiar protocolos de aislamiento en el laboratorio químico biológico para el aislamiento de *Campylobacter* en poblaciones asintomáticas.
3. Realizar estudios para el análisis de portadores asintomáticos de *Campylobacter* spp, durante época de invierno para lograr mejor aislamiento de colonias de dicho microorganismo.

XII. Referencias

1. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. *Enfermedades de Notificación Obligatoria*. Guatemala. 2006. Disponible en:
http://www.mspas.gob.gt/menu/indicadores_basicos_de_salud/estadisticas/Enfermedades_Notificacion_Obligatoria.pdf
2. Campos, M. *et al.* Bacteremia por *Campylobacter sp.* En un paciente con agamaglobulinemia ligada al cromosoma X (XLA): primer caso reportado en Costa Rica. *Revista Médica SCiELO*. 2000. Disponible en:
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S101785462000000100009&script=sci_arttext
3. Pouch, D. (2001). *Compendium of methods for de Microbiological examination of foods*. Washington DC. USA, Fourth edition: American Public Health Association – APHA, (p. 301-310).
4. Pérez, C. (1989). *Campylobacter jejuni y Cryptosporidium como agentes etiológicos de diarrea infantil en Guatemala*. Guatemala: Universidad de San Carlos, tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1-50.
5. Carrillo, V. *et al.* (2002). Adherencia e invasión de campilobacterias termotolerantes en células HEP-2. Caracas. *Revista médica SCiELO*. Disponible en:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562002000100008&lng=es&nrm=iso.
6. Área de Salud El Progreso. Enfermedades reportadas durante el año 2007 en el municipio de El Jícaro, El Progreso. Sigsa 18.
7. Lauwers, S. DeBoeck, M y Butzler, J. (1978). *Campylobacter enteritis* in Brussels. *Lancet* :1. 604-605.
8. La bacteria desconocida. *EUFIC online*. Disponible en:
www.eufic.org/sp/food15/food154.htm.
9. Varela, G. *et al.* (1991). Diarrea con sangre y síndrome hemolítico urémico; diagnostico microbiológico en Montevideo Uruguay. Buenos Aires: Congreso Latinoamericano de Microbiología. disponible en:
www.ops.org.uy/pdf/campylobacter.pdf.
10. *Campylobacter enteritis. Campylobacter fetus ss jejuni*. Critique: Microbiology Check Simple No. MB-99, 1979.
11. Smibert, R. (19974). Infection of human with *Campylobacter*. *Magazine of Microbiology*: 32, 673-709.

12. Reller, L, Barth, W. Martin, J. (1979). *Campylobacter enteritidis; Campylobacter fetus ss jejuni*. American Society Clinical Pathology. Microbiology No. MB-99:1, 1-6.
13. Hernández, F. (2002). Cultivo de bacterias microaerofilicas; *Campylobacter*. Facultad de Microbiología y Centro de Investigación em Estructuras Microscópicas (CIEMIC), Costa Rica. Disponible en:
www.cariari.ucr.ac.cr/gacetapc/microarofilicas.
14. Adams, M. Moss M. (1995) Microbiología de los Alimentos. España: The Royal Society or Chemistry. 205-211.
15. Nachamkin, I. (1985). *Campylobacter* and *Arcobacter*, Manual of clinical Microbiology. Washington. 6th, 483-491.
16. Leatherbarrow, A. *et al.* (2004). Genotypic and antibiotic susceptibility charactrustucs of a *Campylobacter coli* population isolated from dairy farmland in the United Kingdom. *Appl Environ Microbiology*:70, 30-822.
17. Balocos, A. William, J. Hausler, J. (1981). Bacterial Mycotic and Parasitic Infections. 6ta. Ed. Washington D.C: American Public Health Association. 301-309.
18. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. Bad Bug Book. *Campylobacter jejuni*. January 1992.
19. Romaniuk, P. *et al.*(1987). *Campylobacter pylori*, the spiral bacterium associated with human gastritis, is not a true *Campylobacter* sp. *Journal of Bacteriology*; 41:169-2137.
20. Advisory Comitee on the Microbiological Safety of Food. Interim report on *Campylobacter*. London: Her Majesty´s Stationery Office, 1993.
21. Pearl, E. (2006). *Campylobacter* infections. Kids Health for parents. Disponible en:
http://www.kidshealth.org/parent/en_espanol/infecciones/campylobacter_esp.html
22. Musher, D. *et al.* (2004). Contagious Acute Gastrointestinal Infections: 351, 2417-2427. Disponible en: <http://content.nejm.org/cgi/content/full/351/23/2417>
23. Quan, M. (1989). Aislamiento de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en carne de pollo. Guatemala: Universidad de San Carlos, tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1-55.
24. Lake, R. (2007). *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* in red meat. Nueva Zelanda. Disponible en:
http://www.elika.net/datos/documentos/articulos/NZFSA_CampjejuniCarneRoja07.pdf

25. La morbilidad y la mortalidad informe semanal Centros para el Control y Prevención de Enfermedades MMWR. (1991): 40. Disponible en:
<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap4.html>
26. Asociación Argentina de Microbiología - "Diagnóstico Microbiológico de infección gastrointestinal por *Campylobacter* spp." Disponible en:
<http://www.aam.org.ar/actividades/Campylobacter.pdf>
27. World Health Organization. *Campylobacter*. (2000). Disponible en:
<http://www.who.int/en/>
28. López, J. (1994). Infecciones por *Campylobacter jejuni* en niños: ¿Infecciones recurrentes o persistentes? Comparación de cepas por ribotipia. Guatemala: Universidad de San Carlos, tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1-57.
29. Varela, G. *et al.* (1991). Diarrea con sangre y síndrome hemolítico urémico; diagnóstico microbiológico en Montevideo Uruguay. Buenos Aires: Congreso Latinoamericano de Microbiología.
30. Thielman, N. *et al.* (2004). Acute Infectious Diarrhea. NEJM. Vol 350: 38-47.
31. Goldman, A. *et al.* (2003). *What was the cause of Franklin Delano Roosevelt's paralytic illness?*. J med Biogr.. ISBN 11:232-240. Disponible en:
http://es.wikipedia.org/wiki/S%C3%ADndrome_de_Guillain-Barr%C3%A9.
32. Rajan, P. Mathan, V. (1982). Prevalence of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in healthy population in Southern India. J Clin Micr. Disponible en:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/pagerender.fcgi?artid=272184&pageindex=1>
33. Giacoboni, G. Emergencia a la resistencia antibiótica en cepas de *Campylobacter jejuni* aisladas de carne de pollo. Buenos Aires. Argentina.
<http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/vol21n2/analecta21n2VE.pdf#page=63>
34. González, W. (2001). Determinación de resistencia antimicrobiana en cepas guatemaltecas de *Campylobacter jejuni*. Guatemala: Universidad de San Carlos, tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1- 63.
35. Paz, M. Cáceres, A. Torres, O. (2005). Búsqueda de actividad antimicrobiana contra especies de *Campylobacter* en plantas nativas de Guatemala. Tikalía;1: 33-43.
36. World Health Organization. *Campylobacter*.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/en/>

37. Rodríguez, J. (2001). *Campylobacter*, El gran desconocido. Disponible en: <http://www.consumaseguridad.com/ciencia-y-tecnologia/2001/06/27/267.php>
38. Cruz, R. (1994). Infection, diarrhea and dysentery caused by *Shigella* species and *Campylobacter jejuni* among Guatemalan rural children. *Ped Infect Dis Jour*;3, 216-223.
39. Torres, M. (1982). Coprocultivo: Manual de Normas y Procedimientos en Microbiología Médica. Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS): 9, 17-38.
40. Zancuncini, R. (1981). *Campylobacter fetus* ss. *jejuni*: Probable nuevo agente de gastroenteritis en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1- 35.
41. Bookkenheuser, V. *et al.* (1979). Detection of enteric campylobacteriosis in children. *J Clin Micr*;9, 227-232.
42. Edmonds, P. Patton, C. *et al.* (1986). *Campylobacter hyointestinalis* associated with human gastrointestinal disease in the United States. *J Clin Micr*: Vol 25 No. 4. 685-691.
43. Amigos contra el SIDA AC. México. Diccionario del VIH/SIDA. Disponible en; www.aids-sida.org/termin-d.html.
44. Molina, J. *et al.* (1995). *Campylobacter* infections in HIV-infected patients; clinical and bacteriological features. *AIDS*;9, 5-881.
45. Font, C. *et al.* (1997). A study of 30 patients eith bacteremia due to *Campylobacter* spp. *Medical Clinic*: 108, 40-336.
46. http://es.wikipedia.org/wiki/Campylobacter_jejuni
47. Thielman. Nathan. *Et al.* (2004). Acute Infectious Diarrhea. *NEJM*. Number 1. Volume 350:38-47.
48. Camas, M. (2006). Aislamiento e identificación de *Campylobacter* spp. en muestras de heces referidas al laboratorio Nacional de Salud, provenientes del Área de Salud del departamento de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 1- 70.
49. Bokkenheuser, V. (1972). *Vibrio fetus* infection in man; a serological test. *Infect Inmun*: 5, 222-226.
50. Blaser, M. *et al.* (1980). Survival of *Campylobacter fetus* ss *jejuni* in biological mielieus. *J Clin Micr*: 11, 309-313.

51. Dekeyser, P. *et al.* (1972). Acute enteritis due to related *Vibrio*; first positive stool cultures. *Jour Infec Dis*: 125, 2-390. Disponible en: www.cdc.gov.
52. Robinson, B. (1987). Infection of human with *Campylobacter fetus*. *Med Assoc Jour*.
53. Robert, V. (1986). *Campylobacter* Isolates in the United States. Disponible en: www.cdc.gov
54. Karmali, M. Fleming, P. (1979). *Campylobacter enteritis* in children. *Jour of Pedia*: 94, 527-533.
55. Microbiología de los alimentos. Laboratorio de análisis SAZ, Determinación de microorganismos patógenos. Disponible en: www.usuarios.lycos.es. Fecha de consulta: junio 2007.
56. Guerrant, R. Lahita, R. (1978). Washington B. Pathogenic Mechanisms and Review of 91 blood streams infections. *Am. J.* 584-590.
57. Lauwers, S. DeBoeck, M. Butzler, J. (1978). *Campylobacter enteritis* in Brussels. *Lancet*:1, 604-605.
58. Casasola, C. (1961). Monografía del Municipio de El Jícaro, Departamento de El Progreso. Guatemala, 1-107.
59. Instituto Nacional de enfermedades Infecciosas, Ministerio de Salud. Manual de procedimientos *Campylobacter*. Buenos Aires. Argentina .2001.
60. Wesley, I. (2000). Fecal shedding of *Campylobacter and Arcobacter* spp. In dairy cattle. *App and Env Microb*:66, 1994-1998.
61. Downes, F. (2001). *Microbiological Examinations of Foods*:4, 290-291.
62. Madigan, M. (2003). *Brock Biología de los Microorganismos*:10, 953.
63. Edmonds, P. (1987). *Campylobacter hyointestinalis* associated with human gastrointestinal disease in the United States. *Journ of clin Micro*:25, 685-689.
64. Vandamme, P. (1992). Outbreak of recurrent abdominal cramps associated with *Arcobacter butzleri* in an Italian school. *Journ of clin Micro*:30, 2335-2337.
65. Gorkiewicz, G. (2002). Transmission of *Campylobacter hyointestinalis* from a pig to human. *Journ of clin Micro*:40, 2601-2605.

XII. Anexos

A. ANEXO 1

ENCUESTA

No. _____

Nombre: _____

Edad: _____

Sexo: _____

1. Presenta alguno de los siguientes síntomas:

Dolor abdominal	Si _____	No _____
Dolor de cabeza	Si _____	No _____
Fiebre	Si _____	No _____
Vómitos	Si _____	No _____
Diarrea	Si _____	No _____

2. Tuvo diarrea en los últimos 14 días? Si _____ No _____

3. viven alguno de los siguientes animales en su domicilio?

Cerdos _____
 Aves (Pollos, Patos) _____
 Vacas _____

4. Tiene agua potable en su vivienda

Si _____ No _____

5. Que clase de agua utiliza para beber?

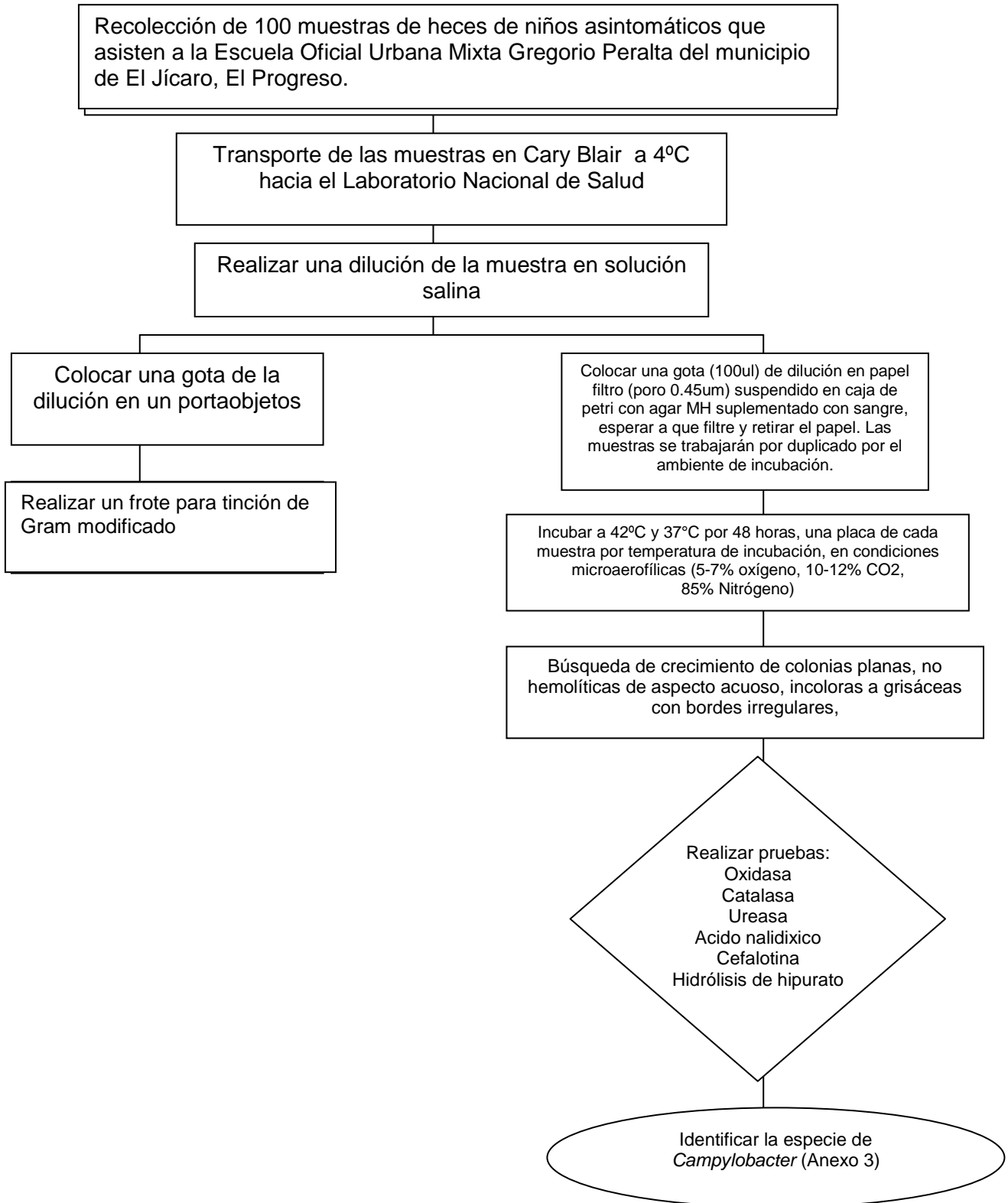
De chorro _____ Envasada _____ Pozo _____
 Clorada _____ Otros: _____

Acepto que a mi hijo/a se le realice el análisis de *Campylobacter spp.* en la muestra de heces.

 Padre de familia o encargado

B. ANEXO 2

**Flujograma de Toma de Muestra, Aislamiento e Identificación de
Campylobacter spp.**



C. ANEXO 3

Tabla 1. Identificación de *Campylobacter spp.*

Especies	Crecimiento						Reacciones Bioquímicas					
	Microaerofilia	Anaerobiosis	25°C	42 °C	3,50% NaCl	Acido Nalidíxico	Cefalotina	Oxidasa	Catalasa	Utilización de Glucosa	Reducción de NO ₃	Hidrólisis de Hipurato
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i>	+	-	-	+	-	S	R	+	+	-	+	+
<i>C. jejuni</i> subsp. <i>dolej</i>	+	-	-	-	-	S	R	+	+	-	-	+
<i>C. coli</i>	+	-	-	+	-	S	R	+	+	-	+	-
<i>C. lari</i>	+	-	-	+	-	R	R	+	+	-	+	-
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	+	+	+	D	-	R	S	+	+	-	-	-
<i>C. fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	+	+	+	-	-	R	S	+	+	-	-	-
<i>C. hyointestinalis</i>	+	-	+	D	-	R	S	+	+	-	-	-

S: Susceptible

R: Resistente

D: Dudoso

Tomada de: Romaniuk P. et al. *Campylobacter pylori*, the spiral bacterium associated with human gastritis, is not a true *Campylobacter* sp. Journal of Bacteriology, 1987; 41:169:2137.

Tabla 2. Características bioquímicas de especies de *Campylobacter* termotolerantes

	<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
	subsp. jejuni	subsp. doley			
Hidrólisis del hipurato	-	+	-	-	-
Oxidasa	-	+	+	+	+
Producción de catalasa	+	+	+	+	+/-
Reducción de nitratos	+	-	+	+	+
Producción de SH ₂	-	-	+/-	-	-
R. Ac. Nalidixico	S	S	S	R	S
R. cefalotina	R	V	R	R	S
oIndoxilacetato	+	+	+	-	-
Glicina 1%	-	+	+	+	V

S: sensible
R: resistente
V: variable

Tomada de: Instituto Nacional de enfermedades Infecciosas, Ministerio de Salud. Manual de procedimientos *Campylobacter*. Buenos Aires. Argentina .2001

Tabla 3. Características bioquímicas de otras especies de *Campylobacter*

	<i>C.fetus</i>		<i>C. hyointestinalis</i>	<i>C.curvus</i>	<i>C. rectus</i>	<i>C. chowae</i>
	subsp.fetus	subsp.veneralis				
Hidrólisis del hipurato						
Oxidasa	+	+	+			
Producción de catalasa	+	+	+			+
Reducción de nitratos				+	+	+
Producción de SH ₂			+	+	+	+
R. Ac. Nalidixico	R	d	R	S	S	R
R. cefalotina	S	S	S			S
oIndoxilacetato				+	+	+
Glicina 1%	+		+	+	+	V

S: sensible
d: Débil
R: resistente
V: variable

Tomada de: Instituto Nacional de enfermedades Infecciosas, Ministerio de Salud. Manual de procedimientos *Campylobacter*. Buenos Aires. Argentina .2001

A. Anexo 4

Ambiente de cultivo para aislamiento de *Campylobacter spp*

1. Atmósfera de Incubación

Las formas usuales para generar la atmósfera microaerofílica incluyen:

- Uso de jarra Gas Pak (BBL)
- Uso del Sistema Campy-Pak II (BBL)
- Uso del principio Fortner
- Uso del frasco de extinción con candela
- Sistema de evacuación y reemplazo

Pruebas para Identificación *Campylobacter spp*

1. Coloración de Gram

Para esta se emplea Fucsina carbólica como colorante de contraste o se deja safranina por 15-30 minutos, esta modificación es especial para *Campylobacter* (16).

Se observan bacilos curvados, gram negativo con forma de coma, S, C, espiral o de alas de gaviota ocasionalmente (16).

2. Pruebas Bioquímicas

i. Prueba de Oxidasa

Se usa la técnica de Kovac con dehidrocloruro 2 ó 3 gotas del reactivo sobre una pieza de papel filtro (9).

Campylobacter jejuni, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter coli* y *Campylobacter lari* son oxidasa positivo (12).

ii. Prueba de Catalasa

Se realiza empleando peróxido de hidrógeno al 3% al igual que la prueba anterior, se coloca una asada de la colonia sobre un portaobjetos limpio y luego se agrega una gota del reactivo (5).

Campylobacter jejuni, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter coli* y *Campylobacter lari* son catalasa positivo (12).

iii. Fermentación de la glucosa

A partir del cultivo se inocula un tubo con caldo púrpura de bromocresol con glucosa al 1% y campanilla de Durham y se incuba a 42°C por 48 horas. Después de la incubación, el medio debe aparecer morado (no fermentación) y en la campanilla no debe haber gas; sin embargo el medio se tornará turbio debido al crecimiento bacteriano (57). *Campylobacter* spp. no fermenta ni oxida la glucosa (58).

iv. Reducción de Nitratos

Para observar si la bacteria es capaz de reducir el nitrato a nitrito, se utiliza caldo nitrado al 2.5% y nitrato de potasio al 0.1%. A las 24 horas de incubación a 37°C los caldos inoculados se revelan con 3 gotas del reactivo A (ácido sulfánilico 0.8 gramos, ácido acético glacial 30 ml y agua destilada 100ml) y 3 gotas del reactivo B (dimetil α nafil amina 0.5 gramos, ácido acético glacial 30 ml y agua destilada 100 ml) (59).

Campylobacter jejuni, *Campylobacter coli* y *Campylobacter lari* reducen el nitrato a nitrito (12).

v. Sensibilidad al ácido Nalidíxico

Se inocula una placa del medio selectivo de la forma de un antibiograma y se coloca un disco de ácido nalidíxico de 30 mg (24).

La placa se incuba en las condiciones establecidas y luego se observa el halo de inhibición que indica la sensibilidad de la bacteria al antibiótico (24).

vi. Producción de H₂S

Campylobacter no produce H₂S en cantidades detectables en medios como TSI (Tres azúcares hierro), SIM (sulfide- indole – motility) (59).

vii. Hidrólisis del Hipurato

Esta prueba diferencia a *Campylobacter coli* de *Campylobacter jejuni* pues solamente *Campylobacter jejuni* produce grandes cantidades de glicina en la reacción lo cual es indicativo de la actividad de la hipuricasa (24,59).