

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

**Presencia de *Campylobacter* en el norte de la provincia de
Esmeraldas**

Nesla Carolina Olivas Gaitán

Tesis de grado presentada como requisito para
la obtención del título de Doctor en Medicina y Cirugía

Quito

Abril 2007

© Derechos de autor
Nesla Carolina Olivas Gaitán
2007

RESUMEN

INTRODUCCION: *Campylobacter* es reconocido como uno de los agentes causales principales de gastroenteritis bacteriana en el mundo. Son un grupo de bacterias gram negativas con forma de “ala de gaviota”. Son móviles gracias al flagelo de sus extremos. Colonizan la superficie de membranas mucosas del tracto digestivo. Necesitan un ambiente microaerófilico para crecer a una temperatura de 42° C y son oxidasa positivos. Por lo general la campylobacteriosis se transmite al ingerir alimentos de origen animal mal cocidos. En los países en vías de desarrollo también se ha observado en personas sanas de cualquier edad. El propósito de este estudio es investigar su presencia en la zona norte de la provincia de Esmeraldas, ya que en esta región se observan varios factores de riesgo para presentar la enfermedad.

MATERIALES Y METODOS: Se estudiaron 6 comunidades de la provincia de Esmeraldas en Enero y Febrero, 2005. Se indagó diariamente sobre casos de diarrea, para cada caso se seleccionaron al azar tres controles. Dentro del estudio se incluyó a toda persona de cualquier edad y sexo. Las muestras fueron frescas o recolectadas en el medio de transporte Cary-blair. Se utilizó el medio de cultivo selectivo CCDA, que se colocó en un ambiente microaerófilico logrado por el método de cabo de vela en un recipiente metálico a la temperatura adecuada. Luego de 48 horas de incubación, se observó cuidadosamente el crecimiento de colonias sospechosas que fueron sometidas a una prueba de oxidasa y luego a tinción gram modificada, para después ser observada bajo el microscopio.

RESULTADOS: Se obtuvieron un total de 160 muestras de heces, de las cuales 25 % presentaron enfermedad diarreica. Se observó 21.2 % de medios de cultivo con crecimiento de colonias sugestivas de *Campylobacter*. Tan solo 2.5% de las muestras fueron positivas para la prueba de oxidasa. El crecimiento sugestivo se observó en personas de todas las edades sin importar el sexo en casos y controles. Una vez llevadas al microscopio se observaron distintas morfologías de bacterias. Sin embargo, ninguna de ellas demostró ser *Campylobacter*.

Discusión: Es importante realizar estudios de la presencia del *Campylobacter*, especialmente en lugares donde los factores de riesgo están conglomerados. Este es el caso de las áreas que se llevó a cabo esta investigación. Sin embargo el presente estudio no demostró la presencia de esta bacteria en dichas comunidades durante este período de tiempo..

ABSTRACT

INTRODUCTION: *Campylobacter* has been recognized as the leading cause of acute diarrhea worldwide. They are a group of spiral shape, gram negative, bacteria. Their polar flagella allow them a rapid motility that enables the organism to colonize the mucus membranes of the intestinal tract. They require an microaerophilic environment, with a temperature of 42° C. It is a food-borne disease. In developing countries *Campylobacter* has also been isolated from healthy individuals. The purpose of this paper is to determine the presence of *Campylobacter* in the northern part of the Esmeraldas province in Ecuador.

MATERIALS & METHODS: The study was conducted in 6 communities of the northern part of the Esmeraldas province, during January and February, 2005. A daily survey was conducted looking for cases of diarrhea. Every time a case was found 3 persons were randomly selected to be a control. The study included subjects of any age and sex. The samples could be either fresh or were collected in a transport media. Then the samples were inoculated on the selective media CCDA, which was placed in the microaerophilic environment at 42°C for 48 hours. Once this time had elapsed the media was observed for cultures that would be similar to the description of *Campylobacter* growth culture. These cultures were subjected to the oxidase test and gram stained in order to determine the presence of *Campylobacter* under the microscope

RESULTS: There were a total of 160 samples collected. 25% presented illness. 21.2 % showed suggestive growth on the culture media and 2.5% had a positive result to the oxidase test. Once under the microscope different shapes were observed. Nevertheless, non of which were *Campylobacter*. The cultures that showed suggestive growth were from subjects of all ages and did not necessarily present diarrhea

DISCUSSION: Since *Campylobacter* has been determined to be an important agent in the cause of gastrointestinal illness, it is important to conduct studies to determine its presence, especially in places that present predisposing factors. This was the case of the communities that were studied. However the investigation showed the absence of the bacteria in this region during this period of time.

Tabla de contenido

Introducción.....	1
Objetivos.....	8
Materiales y métodos.....	9
Resultados.....	12
Discusión.....	14
Figuras.....	16
Bibliografía.....	26

Listado de Figuras

Figura 1: Mapa de la provincia de Esmeraldas

Figura 2: Mapa detallado del norte de la Provincia de Esmeraldas

Figura 3: *Campylobacter* bajo microscopio electrónico

Figura 4: *Campylobacter* bajo el microscopio

Figuras 5 y 6: Crecimiento en medio de cultivo

Figuras 7 y 8: Resultado de tinción Gram

Cuadro 1: Diagnóstico de *Campylobacter*

Tabla 1: Resultado de muestras obtenidas

INTRODUCCION

MICROBIOLOGIA

Campylobacter es un género de bacterias gram negativas con forma curva, de "S" o en "ala de gaviota". (1) Son móviles gracias al flagelo que se encuentra en uno o ambos de sus extremos. (3) Fig.3 y 4. Su morfología les provee movilidad y les capacita colonizar la superficie de membranas mucosas del tracto digestivo. (5) Este género bacteriano requiere un ambiente microaerofílico (3-10% de oxígeno), tolera temperaturas de 42 ° C, son oxidasa positivos y no fermentadores de azúcares. Son relativamente frágiles y sensibles al ambiente. (3) Su velocidad de crecimiento es menor que la de las bacterias de la flora

entérica normal, por lo que para su aislamiento a partir de materias fecales se requieren medios de cultivo selectivos. (20)

Existen alrededor de 16 especies y 6 subespecies asignadas al género *Campylobacter*, y nuevas especies siguen apareciendo. (2) Estas bacterias han sido conocidas como patógenos de animales por alrededor de 100 años, sin embargo, dado a su lento y difícil crecimiento en medios de cultivo, han sido reconocidos como patógenos del ser humano desde hace solo 20 años (3) de estas la que más comúnmente se encuentra como agente causal de enfermedad intestinal es *C. jejuni*. (2)

EPIDEMIOLOGIA

Campylobacter se reconoce como una de las principales causas de gastroenteritis en el mundo. Se encuentra en todo tipo de climas, desde tropicales hasta en los árticos. En zonas templadas enteritis causada por *Campylobacter* sigue un patrón climático ya que la incidencia llega a su pico durante la mitad del verano hasta que baja durante el invierno (17, 20).

La bacteria se localiza en el tracto gastrointestinal de varios animales domésticos como son los bovinos, ovinos, principalmente en aves de corral. También se encuentra en mascotas como gatos y perros, sin embargo no les causa ningún padecimiento. La mayoría de veces la enfermedad se transmite a los humanos al ingerir alimentos crudos o insuficientemente cocidos, contaminada o por medio de contacto directo con los animales infectados (4).

Otro foco de infección se encuentra en cuerpos de agua ya sea fresca o salina, donde puede vivir por varias semanas a temperaturas menores a 15° C. (5) *Campylobacter* ha sido reconocido como uno de los agentes causales principales de gastroenteritis bacteriana en el mundo (10, 16). La infección causada por *Campylobacter* en los países en vías de desarrollo ocurre comúnmente durante los 5 primeros años de vida, sin embargo la bacteria también se ha detectado en personas sanas de cualquier edad. (6, 23) En países desarrollados *Campylobacter* no se encuentra en individuos sanos pero si se ha aislado de ganado, pájaros y aves de corral. También se encuentra en agua que no ha sido tratada con cloro como ríos y lagos. (13) La incidencia del *Campylobacter* ha ido aumentando y las infecciones relacionadas con la bacteria se presentan a cualquier edad. (2) En Ecuador, en la ciudad de Quito en 1984 examinaron las heces de 100 niños de 1 -24 meses de edad que sufrían diarrea aguda. En el 50% de los niños se identificaron uno o más microorganismos. Se aisló *Campylobacter* en el 23%, fue el más frecuente entre los niños de 19 a 24 meses. (24)

AISLAMIENTO

La detección del *Campylobacter* se realiza principalmente mediante cultivo. Se puede realizar un diagnóstico presuntivo por medio del microscopio con una muestra de heces frescas pero es menos sensible que el cultivar (50% comparado a 94%). El cultivo se realiza en medios selectivos y con incubación en una mezcla de gas que contiene de 5-10% de oxígeno, 1-10% dióxido de

carbón e idealmente algo de hidrógeno (16). Esto a una temperatura de 42–43 °C. Es importante la temperatura ya que impide el crecimiento de otras bacterias presentes en las heces, facilitando la identificación del *Campylobacter*. (22). En laboratorios con escasos recursos se han obtenido resultados positivos por medio del método de cabo de vela, el mismo que consiste en poner una vela encendida en el recipiente donde se pone el cultivo y dejar que se apague una vez cerrado el mismo, siempre y cuando se incuba a las temperaturas recomendadas (5). Para resultados óptimos se debe esperar las 48 horas completas para observar crecimiento. La identificación de las colonias de *Campylobacter* es simple: su apariencia característica bajo el microscopio y con análisis de oxidasa es suficiente para su diagnóstico. Dado que del 90 al 95 por ciento de las infecciones causadas por *Campylobacter* son por *C. jejuni* y que la enfermedad clínica es indistinguible de la causada por *C. coli* no es necesario realizar estudios para clasificar la especie a no ser para propósitos epidemiológicos. (12)

MANIFESTACION CLINICA

La presentación clínica más común es la enterocolitis. La enfermedad se presenta de 2-5 días luego de la ingestión de comida o agua contaminada. (13) Los síntomas pueden durar desde un día hasta aproximadamente 1 semana, alcanzando su mayor expresión entre el segundo y cuarto día. En un 10% de los pacientes la sintomatología se prolonga y buscan consejo médico y 5% sufren recaídas. Por lo general 12 a 24 horas antes de que se presente la

sintomatología intestinal aparece fiebre, cefalea, mialgias y malestar general. La enfermedad diarreica puede variar desde leve hasta masiva, acuosa y mucosanguinolenta. (6, 12) Los pacientes en países desarrollados excretan el organismo en las heces por un período de tiempo de 2 a 3 semanas, mientras que en los pacientes en países en vías de desarrollo este periodo es menor. Este fenómeno se da probablemente por mayores niveles de inmunidad en esta población. (6)

PATOGENESIS

Varios factores intervienen para que el *Campylobacter* cause enfermedad, de los cuales tres se reconocen como principales: número de organismos ingeridos, la virulencia de la cepa y la inmunidad del huésped. (5, 6)

Por lo general debe ingerirse un inóculo de bacterias de 10^4 para que se produzca infección por *Campylobacter*, sin embargo, se ha demostrado infección con tan solo un inóculo de 500 microorganismos. *Campylobacter* es sensible al pH gástrico, por lo tanto al ingerir alimentos ricos en grasa que lo alcalinizan y la dilución que se provoca al ingerir agua permite que la infección se presente con baja carga de bacterias. (5) Los lugares afectados por la infección incluyen al yeyuno, íleo, y colon con características patológicas similares en cada uno. La inspección del tejido afectado revela una enteritis difusa edematosa exudativa y sanguinolenta. No obstante, esta inspección se realiza en los casos más severos. (6, 12)

Estas bacterias no poseen fimbrias pero, se ha demostrado que el flagelo y otros componentes como factores quimotácticos, plásmidos y proteínas le permiten colonizar e invadir las células epiteliales, provocando infiltrados inflamatorios de la lámina propia y abscesos en las criptas similares a los producidos por *Shigella*, apareciendo hematíes y leucocitos en las heces (diarreas inflamatorias o exudativas). También pueden atravesar mucosa intestinal y proliferar en la lámina propia y ganglios (5, 12) Las Infecciones extra-intestinales por *Campylobacter jejuni* ocurren generalmente en personas inmunodeprimidas, mal nutridos, menores de 3 meses de edad y pacientes con enfermedades crónicas.

(21)

TRATAMIENTO

Para el tratamiento se necesita establecer terapia de líquidos y electrolitos. En los niños se ha demostrado beneficio con la instauración temprana de eritromicina, también es prudente usar antibiótico en pacientes con fiebre alta, diarrea sanguinolenta o con más de ocho deposiciones al día, o en pacientes cuya sintomatología no ha disminuido o ha empeorado y en personas en quienes persiste luego de 1 semana. (4,15) El tratamiento de elección es la eritromicina de 500 mg. vía oral dos veces al día por 5 a 7 días y para niños es de 30 a 50 mg/kg/día en dosis divididas por el mismo tiempo. Una alternativa a la eritromicina es la ciprofloxacina (4,6)

PREVENCION

Se debe cocinar adecuadamente todos los productos de origen animal, principalmente aves de corral y vacuno. Conviene evitar el consumo de leche no pasteurizada y de agua sin tratar. Es importante el higiene personal y de la cocina durante la preparación y manipulación de los alimentos. (21)

JUSTIFICACION

El gobierno ecuatoriano inicio la construcción de una carretera en el norte de la provincia de Esmeraldas que une su frontera con Colombia y además carreteras aledañas que unan a las comunidades con ésta (18). Esto implica un impacto ambiental además provoca un mayor flujo de personas que pueden ser

portadores de nuevas enfermedades e incrementa la colonización de pueblos remotos con infraestructura sanitaria deficiente.

Por otro lado la enfermedad diarreica continúa siendo causa importante de mortalidad entre niños menores de 5 años. *Campylobacter* es una de las causas principales de enfermedad diarreica en el mundo, por lo tanto es importante incluir su investigación en los estudios de esta enfermedad. Además del impacto ambiental que se ha formado en el norte de Esmeraldas, en esta región se observa que los habitantes consumen carne de pollo, mantienen aves de corral y mascotas en los alrededores de sus hogares sin ningún control sanitario. Las comunidades no poseen sistemas de alcantarillado ni agua potable, por lo que utilizan letrinas en mal estado o realizan sus necesidades al aire libre e ingieren agua directamente de los ríos sin usar cloro ni hervir. Todos estos hechos predisponen a la presencia del *Campylobacter*. Este estudio se espera establecer si existe la presencia de *Campylobacter* en esta zona, y si ésta es causa de enfermedad.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Investigar la presencia de la bacteria *Campylobacter jejuni* en la zona norte de la provincia de Esmeraldas

Objetivos Secundarios:

- Detectar la presencia de *Campylobacter jejuni* en individuos sintomáticos y no sintomáticos.
- Determinar la frecuencia de infecciones causadas por *Campylobacter jejuni* en comunidades rurales de la provincia de Esmeraldas

MATERIALES Y METODOS

Población en estudio:

La zona de estudio se encuentra en la provincia de Esmeraldas (Fig. 1 y 2) en el cantón Eloy Alfaro, de donde se estudiaron 6 comunidades: La Peña, Rocafuerte, Wimbí, Naranjal, La Loma, Ranchito Todas ellas están ubicadas junto a ríos y esteros de la provincia (Fig. 2). La población es principalmente afro-ecuatoriana y mestiza.

En estas comunidades se indagó diariamente a las personas sobre casos de diarrea, la misma que se definió como tres o más deposiciones líquidas en 24 horas. Por cada caso de diarrea se prosiguió a identificar a tres personas que no hayan presentado sintomatología: dos que provengan de la comunidad y una de la misma casa, escogidas al azar para que fueran los controles.

Dentro del estudio se incluyó a toda persona de cualquier edad y sexo. Además se realizó un monitoreo de la casa de donde provino la muestra, ejecutado por personas de la zona capacitadas para establecer probables focos de infección. Las comunidades fueron estudiadas en el periodo de Enero a Febrero del 2005. El primero incluyó La Peña, Rocafuerte y Wimbí donde la estación base estuvo ubicada en Rocafuerte. En esta comunidad las muestras fueron frescas, mientras que en las otras comunidades las muestras fueron recolectadas en medio de transporte Cary-Blair. Para esto se realizó un recorrido cada 48 horas recolectando cada muestra. En el segundo grupo que consiste de: Naranjal, La

Loma y Ranchito, la base estuvo ubicada en Borbón en esta salida también se incluyeron muestras obtenidas del hospital de Borbón y se realizó el mismo procedimiento para la obtención de las muestras de las comunidades en estudio.

Cultivo:

El medio de cultivo CCDA (**C**efaperazone, **C**harcoal, **D**eoxycholate **A**gar) fue preparado siguiendo las indicaciones del fabricante, se disolvió 22.75g del medio deshidratado en 500 ml de agua. Se llevó a punto de ebullición hasta que estuvo totalmente disuelto. Se introdujo en el autoclave por 15 minutos a 120° C. Se dejó enfriar para añadir el suplemento selectivo que contiene antibiótico y antifúngicos y luego se colocó en cajas petri estériles.

Una vez obtenida la muestra ya sea fresca o en el medio Cary-Blair, ésta se sembró en el medio de cultivo. Ya sembrada la muestra se colocó en un ambiente adecuado para bacterias microaerófilas logrado por el método cabo de vela en un recipiente metálico. En cada recipiente metálico se colocaron de 4-8 medios de cultivo y luego se selló con "parafilm" y se colocó en la incubadora que se mantuvo en condiciones óptimas a 42 ° C. con una variación de +/- 1° C. Se llevó un registro de control de la misma cada 4 - 8 horas.

Luego de que transcurrían 48 horas se abrieron los recipientes y se observó cuidadosamente el crecimiento de las diversas colonias. De éstas se escogieron las colonias sospechosas, definidas como colonias pequeñas de 1-2mm, redondeadas, grisáceas, translúcidas con aspecto de manchas de cera. Estas colonias fueron sometidas a un test de oxidasa, si ésta resultaba positivo se

tomaba la colonia y se sometía a tinción de gram modificada utilizando como medio de contraste fuscina en lugar de safranina, ya que resalta la presencia de *Campylobacter*, para luego ser observada bajo el microscopio y determinar si se observa la presencia de la bacteria. Por medio de estos pasos se llega al diagnóstico. *Cuadro 1*

Se realizó doble tinción gram de las colonias sospechosas para que pudieran ser evaluadas por dos personas distintas para llevar un mejor control. Las muestras que presentaron colonias sospechosas y que fueron oxidasa positiva se guardaron para ser sembradas nuevamente en agar sangre en el laboratorio fuera del campo.

Para control de calidad del medio de cultivo, se obtuvo una cepa conocida de *Campylobacter* que fue proporcionada por el Instituto Izquieta Pérez en Quito. La incubación se realizó en una incubadora de huevos adaptada para que pudiera proveer y mantener la temperatura en 42° C.

RESULTADOS:

Se obtuvieron un total de 160 muestras de heces, entre muestras de casos y de controles, de los cuales 40 (25 %) presentaron enfermedad diarreica. Dentro de las muestras se observó 34 (21.2 %) medios de cultivo con crecimiento de colonias sugestivas de *Campylobacter*. Fig. 5 y 6

Estos cultivos de crecimiento sospechoso fueron sometidos al test de oxidasa obteniendo un resultado positivo en tan solo 4 (2.5%) de las muestras. No obstante, se realizó tinción Gram en todas las muestras con crecimiento sospechoso. Tabla 1

El crecimiento sugestivo se observó en personas de todas las edades sin importar el sexo en casos y controles. Sin embargo, de las muestras que resultaron positivas para el test de oxidasa todos los sujetos fueron menores de 10 años y se observa que 2 fueron casos y 2 fueron controles. Tres de estas muestras fueron sembradas desde el medio de transporte Cary-Blair, una de ellas 48 horas luego de tomadas las muestras, dos fueron sembradas el mismo día de la obtención de la muestra, la cuarta fue inoculada directamente de la muestra original.

Una vez llevadas al microscopio se observaron distintas morfologías como cocos gram positivos y bacilos negativos pero no se observó presencia de bacilos gram negativos con la morfología descrita en ninguna de las placas,

tampoco se observaron cocos gram negativos. Fig. 7 y 8. El resultado fue el mismo en ambas tinciones correspondientes a cada muestra.

El resto de muestras no demostraron crecimiento sospechoso ya que las colonias que se observaban no eran similares a las descritas para *Campylobacter* y otras simplemente no demostraron crecimiento alguno. Las muestras que fueron sembradas por segunda vez en agar sangre no demostraron crecimiento alguno luego del tiempo especificado.

Discusión:

Campylobacter ha sido reconocido como uno de los agentes causales principales de enfermedad diarreica en el mundo. Cuando se realizan estudios de investigación de este padecimiento, por lo general no incluyen el de este germen por ser de difícil aislamiento. No obstante es importante realizar estudios de la presencia del mismo, especialmente en lugares donde los factores de riesgo están presentes. Este es el caso de las áreas que se estudiaron en esta investigación.

En el presente estudio no se encontró *Campylobacter* en individuos sintomáticos ni asintomáticos. Se obtuvieron 4 muestras (de las 160) que demostraron crecimiento de colonias sospechosas (oxidasa positivas) pero no se logró observar la morfología típica de esta bacteria bajo el microscopio ni tampoco se observaron formas esféricas u ovoides que es la morfología que adquieren cuando han sido sometidas a estrés o han envejecido. (3, 12) Por esta razón no se pudo confirmar la presencia de *Campylobacter* en estos cultivos. Pienso que estos resultados no se los puede atribuir a una mala técnica de tinción ya que se contó con controles positivos.

Algunas colonias sospechosas obtenidas en Esmeraldas parecían secas cuando llegaron al laboratorio en Quito, probablemente el ambiente seco causó la muerte de estos aislamientos.

A pesar del uso de un medio selectivo para el *Campylobacter* y temperaturas elevadas, otras bacterias (contaminantes) crecieron.

No fue posible observar crecimiento de *Campylobacter*, a pesar de que se encontraron varios factores predisponentes para la presencia del mismo en las comunidades, y que el procedimiento se realizó sin mayores inconvenientes.

No obstante, no se puede descartar la presencia del mismo ya que el número de muestras fue bajo. La época del año puede ser otro factor que influye en los resultados obtenidos. En Chile, la mayor cantidad de casos de enteritis causada por *Campylobacter* ha sido reportada durante el verano (17). Sería conveniente realizar un segundo estudio en otra época del año y con una muestra mayor. Es importante que la muestra tenga un mayor enfoque en niños menores a cinco años, ya que la bibliografía sugiere que en países en vías de desarrollo es la edad donde la bacteria se presenta con mayor frecuencia.

Figura 2

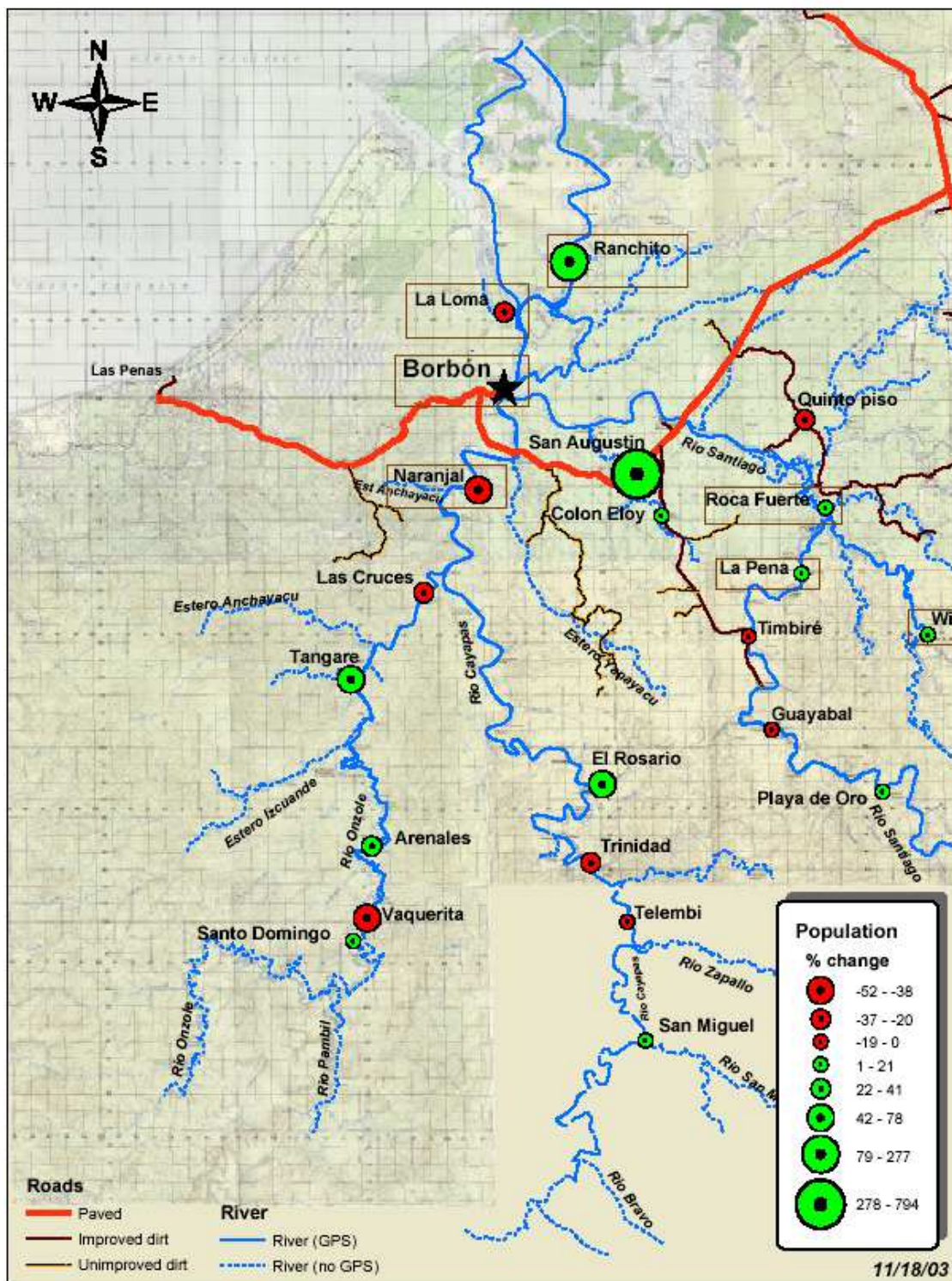
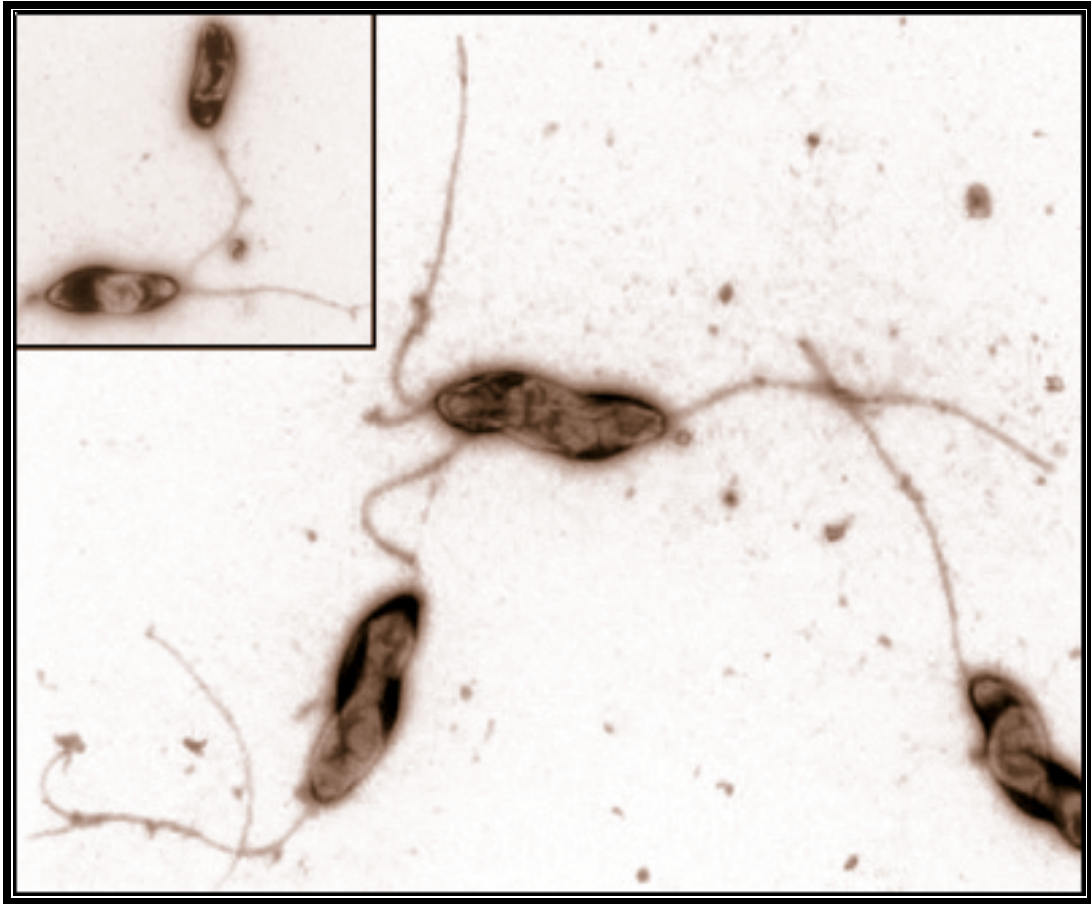
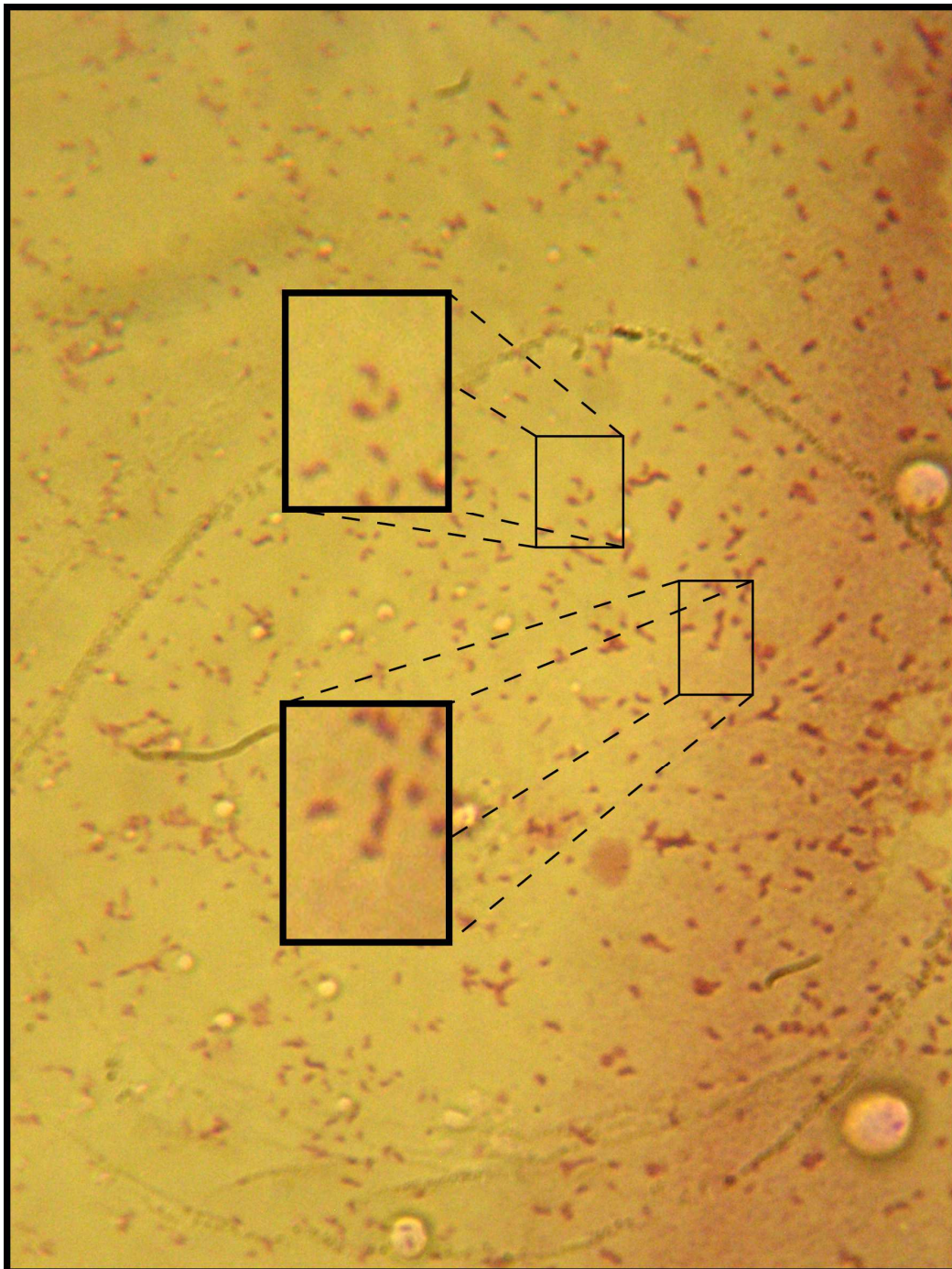


Figura 3

Campylobacter jejuni, bajo microscopio electrónico. Wadsworth Center, New York State Department of Health.

Figura 4

Campylobacter bajo el microscopio



1x 1000

Cuadro 1

Diagnóstico de Campylobacter
<p>Cultivo:</p> <ol style="list-style-type: none">1.- Inocular el medio CCDA a partir de la suspensión de heces2.- Incubar por 48 horas a 42 grados ° C con método cabo de vela
<p>Interpretación:</p> <p>Después de 48 horas identificar las colonias sospechosas: pequeñas (1-2mm), redondeadas, grisáceas, traslucidas con aspecto de manchas de cera.</p>
<p>Prueba de oxidasa</p> <p>Se somete la colonia a un teste de oxidasa: positivo = sospecha de la presencia de campylobacter</p>
<p>Tinción Gram:</p> <p>Realizar la tinción Gram modificada con fucsina para medio de contraste.</p>
<p>Microscopio:</p> <p>Observar bacilos gram negativos con forma característica de “alas de gaviota”.</p>

Crecimiento sugestivo en medio de cultivo:

Figura 5

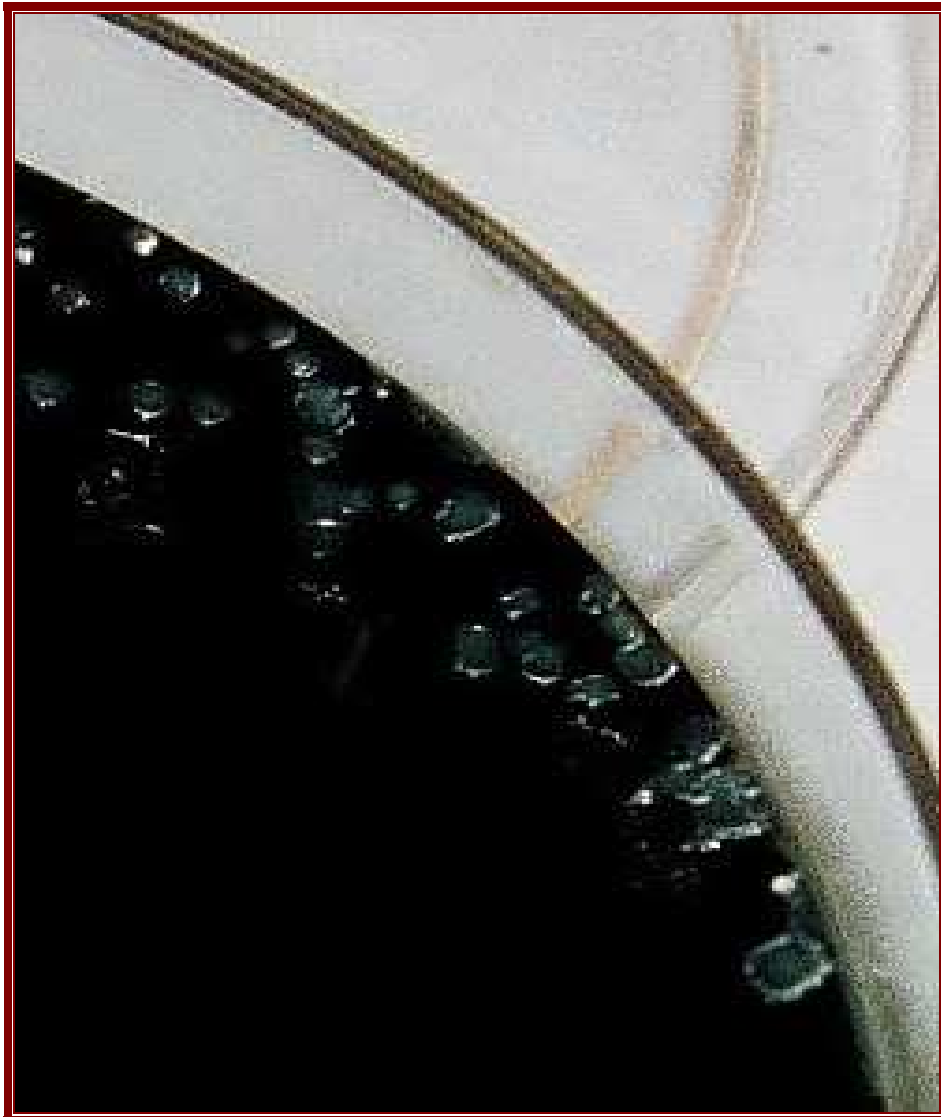
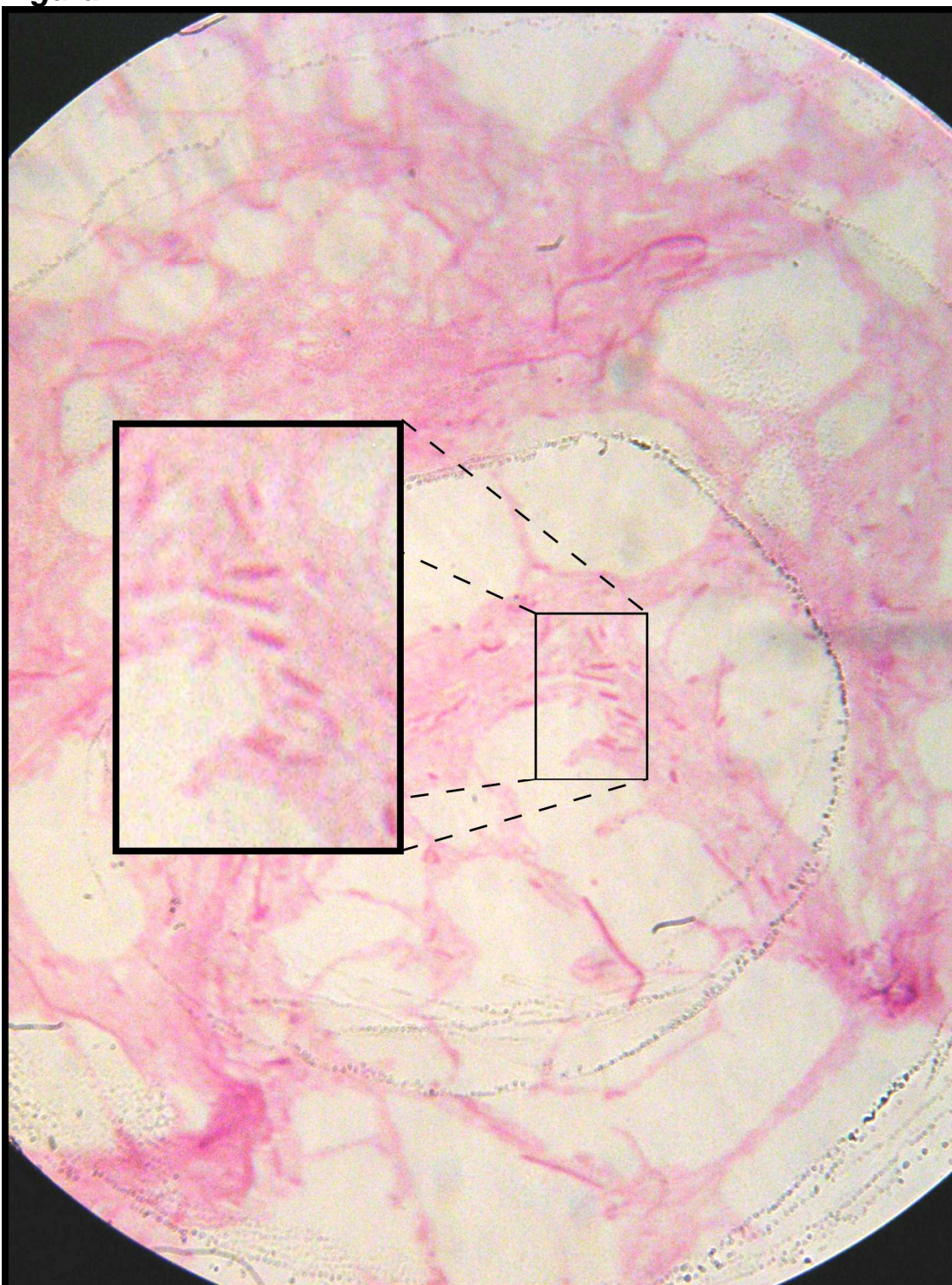


Figura 6

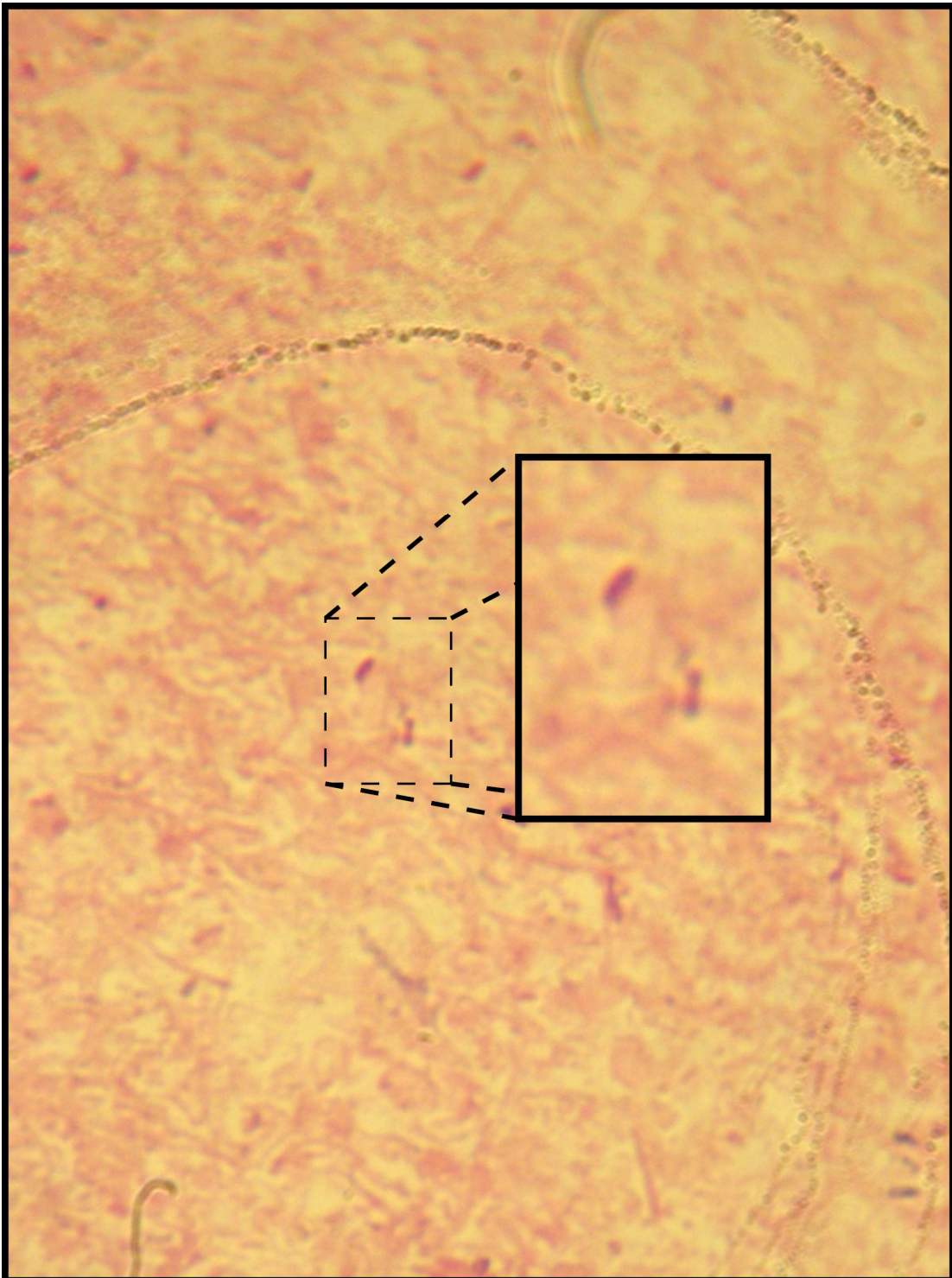


Resultado de muestras
Figura 7



1X1000

Figura 8



1x1000

Tabla 1

Tabla con resultados de las muestras sugestivas de crecimiento

# muestra	sujeto	edad	Oxidasa	Microscopio
1	90804997	1a8m	Negativo	Negativo
2	90809901	4a	Negativo	Negativo
3	90450573	6a6m	Negativo	Negativo
4	80075026	1a3m	Negativo	Negativo
5	90550601	3a2m	Negativo	Negativo
6	93814250	2a9m	Negativo	Negativo
7	80750761	47a6m	Negativo	Negativo
8	90280552	5a7m	Negativo	Negativo
9	90790677	1a9m	Positivo	Negativo
10	90529901	3a2m	Negativo	Negativo
11	90729911	6a5m	Negativo	Negativo
12	80145053	7a9m	Negativo	Negativo
13	90774996	11a	Negativo	Negativo
14	90341402	38a2m	Negativo	Negativo
15	90280586	2a1m	Negativo	Negativo
16	90280541	3a1m	Negativo	Negativo
17	80100740	1a11m	Negativo	Negativo
18	80090734	49a7m	Negativo	Negativo
19	80170775	4a3m	Negativo	Negativo
20	90444778	33a1m	Negativo	Negativo
21	90650636	68a	Negativo	Negativo
22	90770671	5a4m	Negativo	Negativo
23	90090476	8a2m	Negativo	Negativo
24	90434762	51a3m	Negativo	Negativo
25	90530592	9a4m	Negativo	Negativo
26	90280584	20a7m	Negativo	Negativo
27	90620632	7a6m	Positivo	Negativo
28	90434769	27a1m	Negativo	Negativo
29	90580612	12a7m	Negativo	Negativo
30	10023136	11a3m	Negativo	Negativo
31	10129901	2a5m	Negativo	Negativo
32	hosp6	7m	Positivo	Negativo
33	10013098	5a3m	Positivo	Negativo
34	120131657	33a9m	Negativo	Negativo

Bibliografía

1. Mims C. Medical Microbiology. Mosby international Limited, second edition, Philadelphia 1998, pg. 259-260
2. World Health Organization, Campylobacter, fact sheet N 255, November 2000
3. Baron S. Medical Microbiology, The University of Texas Medical branch, USA 1996 Ch 23
4. Kasper D. et.al, Infections due to Campylobacter and related Species. en: Harrison's principles of Internal Medicine, McGraw Hill, USA, 2006
5. Allos B. Microbiology, pathogenesis, and epidemiology of Campylobacter infection. en: Up to Date, USA, 2006
6. Blaser M. Campylobacter jejuni and Related Species. en: Mandell, Bennett, & Dolin: Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. Churchill Livingstone, 2005. Ch. 123
7. Fernandez H. Antimicrobial susceptibility of Campylobacter jejuni sunsp. Jejuni Assessed by E-test and double dilutin Agar method in southern Chile, en Mem. Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 95(2): 2000 247-249
8. Campylobacter Spp, Helicobater pylori and vibrio cholerae en Cohen & Powdrely: infectious Diseases, 2nd edition, mosby , USA, 2004
9. Penner J. The Genus campylobacter: a decade of progress. En: Clinical microbiology reviews, Vol. 1 no. 2 1988, Canada p 157- 172
10. Purdy D. Characterization of citolethal distending toxin mutans of Campylobacter. En: journal of medical microbiology. Vol. 49, Great Britain, 2000 pg 473-479

11. Hernandez F. Cultivo de bacterias microaerofilicas Campylobacter. En: Rev. Col. De MQC de Costa Rica vol. 8 no. 5, 2002
12. Fernández H. Manual de procedimientos diagnóstico de Campylobacter en muestras clínicas y de alimentos, Univ. Austral de Chile, 2003
13. FDA, Campylobacter, en: Foodborne Pathogenic Microorganism and Natural Toxins Handbook , USA, 2006
14. Zobida K, Frequency and characteristics of selected enteropathogens in fecal and rectal specimens from childhood diarrhea in Trinidad, 1998–2000, *Volume 17 (3) | page(s) 170-177, PAHO Journal/Revista, | March 30, 2005*
15. Altekruze S, Campylobacter jejuni – An emerging Foodborne Pathogen, en Perspectives, USA, vol. 5 No. 1 1999
16. Allos B, clinical features and treatment of campylobacter infection, en: Up to Date, USA, 2006
17. Cohen & Powderly, Campylobacter SPP., Helicobacter Pylori and Vibrio Cholerae en: infectious diseases, 2nd edition, Mosby, 2004
18. Guderian J, Onchocercosis in Ecuador; Prevalence of infection on the Ecuador- Colombia Border in the Province of Esmeraldas, Rio de Janeiro, Vol. 92 (2): 157-162 1997
19. Eisenberg J, Environmental change and infectious disease: How new roads affect the transmission of Diarrheal pathogens in rural Ecuador en: PNAS, Dec, 2006
20. Acuña A et al. CAMPYLOBACTER. En: Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay, Montevideo: OPS; 2002
21. Gomez J et al. Gastroenteritis por Salmonella, Shigella y Campylobacter en Protocolos diagnósticos y Terapéuticos en Pediatría, AEP, España 2001
22. Brooks, G et al. Microbiología médica de Jawetz, Melnick, y Adelberg, Campylobacter jejuni y Campylobacter Coli, Manual Moderno, México, 2005

23. Sussman M. Campylobacter, en: Molecular Medical Microbiology, , Academic Press V. 2 UK 2002
24. Guderian R, Diarrea aguda asociada a Campylobacter y otros agentes patógenos en Quito, Ecuador , 1987