



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO

**TINCION GRAM MODIFICADA Y EL CULTIVO EN
CAMPYLOBACTER SP EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DEL
HOSPITAL LUIS N. SÁENZ 2017**

**PRESENTADA POR
WILLIAM FÉLIX ASTORAYME ZAMORA**

ASESOR

FRANCISCO GABRIEL NIEZEN MATOS

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD EN
PATOLOGÍA CLÍNICA**

LIMA – PERÚ

2017



Reconocimiento - No comercial

CC BY-NC

El autor permite entremezclar, ajustar y construir a partir de esta obra con fines no comerciales, y aunque en las nuevas creaciones deban reconocerse la autoría y no puedan ser utilizadas de manera comercial, no tienen que estar bajo una licencia con los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

SECCIÓN DE POSGRADO

**TINCION GRAM MODIFICADA Y EL CULTIVO EN
CAMPYLOBACTER SP EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DEL
HOSPITAL LUIS N. SÁENZ 2017**

PROYECTO DE INVESTIGACION

PARA OPTAR

EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD EN

PATOLOGÍA CLÍNICA

PRESENTADO POR

WILLIAM FÉLIX ASTORAYME ZAMORA

ASESOR:

DR. GABRIEL NIEZEN MATOS

LIMA, PERÚ

2017

ÍNDICE

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

| | |
|-------------------------------|----|
| 1.1. Situación problemática | 3 |
| 1.2. Formulación del problema | 6 |
| 1.3. Objetivos | 6 |
| 1.3.1 Objetivo general | 6 |
| 1.4. Justificación | 7 |
| 1.4.1. Importancia | 7 |
| 1.5. Limitaciones | 10 |

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

| | |
|-----------------------------|----|
| 2.1. Antecedentes | 11 |
| 2.2. Bases teóricas | 17 |
| 2.3. Definición de términos | 23 |

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

| | |
|---|----|
| 3.4. Formulación de la Hipótesis | 25 |
| 3.5. Variables y definición operacional | 26 |

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

| | |
|--|----|
| 4.1. Diseño metodológico | 27 |
| 4.2. Diseño muestral | 27 |
| 4.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos | 28 |
| 4.4. Procesamiento de datos y análisis estadístico | 29 |
| 4.5. Aspectos éticos | 29 |

| | |
|-------------------|----|
| CRONOGRAMA | 30 |
|-------------------|----|

| | |
|-------------------------------|----|
| FUENTES DE INFORMACIÓN | 33 |
|-------------------------------|----|

| | |
|---------------|----|
| ANEXOS | 37 |
|---------------|----|

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Situación problemática

En muchos países del orbe el *Campylobacter* presenta mayor relevancia etiológica para las manifestaciones clínicas, tipo diarreas, debido a contaminación alimentaria en el humano y como causa común de gastroenteritis. Como causante de diarrea transmitida por alimentos, presentan más casos que la *Salmonella*, en varios países desarrollados como en vías de desarrollo, el cual es nuestro caso. Altos números de casos nuevos, mayor duración y probabilidad de secuelas, la diarrea por *Campylobacter* repercute negativamente en el sector económico y social de nuestro país, las infecciones por *Campylobacter* son frecuentes y presentan casos mortales, siendo el grupo etario menor de dos años los que presentan mayor gravedad clínica.

Siendo el foco de infección los alimentos provenientes de animales para consumo, como por ejemplo pollo, gallina, carne de res, de cerdo, de cordero, en productos lácteos frescos y se han reportado en mariscos; el contacto con personas con la infección, deficiente manejo de heces, contacto de niños en guarderías o colegios, además se incrementa la frecuencia de casos en la temporada calurosa y en diferentes regiones del país.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el *Campylobacter* representa una de las cuatro principales causas a nivel mundial de enfermedad diarreica y además esta bacteria es una causa frecuente de gastroenteritis en todo el orbe.

Es importante tener presente que esta infección bacteriana en la mayoría de los casos es de manifestación leve, pero considerando el grupo etario de niños, tercera edad y personas inmunodeficientes los casos pueden ser fatales.

Siendo contradictorio que medidas preventivas tan sencillas como el sometimiento al calor y la verificación de la cocción de los alimentos eliminan eficazmente la variedad de cepas de *Campylobacter*, pero en la familia peruana muchas veces esto no se lleva a cabo.

La salud pública del Perú se ve mermada por la presentación de significantes números anuales de gastroenteritis o enfermedad diarreica aguda, sobretodo de etiología infecciosa, esto ocasiona gastos incrementados en el erario nacional, y la afectación en la salud de las familias, reportándose por el Ministerio de Salud como un problema representativo para la morbilidad en niños, mayoritariamente en los que tienen menos de dos años.

Los datos estadísticos de nuestro país nos reportan que el grupo de edad entre 6 a 11 meses la prevalencia de enfermedad diarreica es mayor, esto se explica porque a esta edad se inicia el periodo de ablactancia, es decir, alimentos semisólidos preparados por algún familiar del hogar, quienes muchas veces no aplican las medidas de higiene necesarias; posterior a este intervalo de edad dicha prevalencia disminuye abruptamente. Es de vital importancia conocer a cabalidad las variaciones de las presentaciones de la enfermedad diarreica según el grupo de edad, ya que si no se toman medidas correctivas los efectos deletéreos en el niño pueden ser irreversibles, como la desnutrición o dejar trastornos crónicos en la población infantil.

La bacteria *Campylobacter* frecuentemente por sus efectos funestos en el niño, principalmente en menores de cinco años, quienes requieren en la mayoría de casos hospitalización, debido a las complicaciones que suele acarrear esta enfermedad, como deshidratación, astenia, irritabilidad, náuseas y vómitos.

Según la infinidad de estudios que se han realizado al *Campylobacter* se conoce que de bacilos, en forma de espiral, de la letra S o tipo una curva. En la actualidad reportan 17 especies y seis subespecies, pero los que se detectan en los diferentes laboratorios, causantes de patología infecciosa en el hombre es el *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, y en menor medida se han reportado casos con la presencia de *Campylobacter lari* y *Campylobacter upsaliensis*.

Al ingresar al organismo suelen presentarse manifestaciones clínicas entre el segundo y quinto día posterior a la transmisión, pero se puede extender hasta los diez días. Y la manifestación que se presenta con mayor frecuencia es la diarrea (la mayoría de casos sanguinolenta), dolor abdominal, incremento de la temperatura corporal, malestar general, náuseas que pueden llegar al vómito, y otros.

Existen técnicas laboratoriales para la identificación de dicho patógeno, como el gram modificado, cultivos y recientemente biología molecular, pero que muchas veces las técnicas más específicas y sensibles son extremadamente costosas por lo cual es casi imposible el acceso, entonces el uso de técnicas sencillas como el gram modificado es una alternativa accesible.

1.2. Formulación del problema

¿Cuál es la correlación de tinción gram modificada con el cultivo en la identificación del *Campylobacter sp* en pacientes pediátricos del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el 2017?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Determinar la relación de la tinción gram modificada y el cultivo con microfiltros para la identificación de *Campylobacter sp* en pacientes pediátricos del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz, en el 2017.

1.3.2. Objetivos específicos

- Establecer la sensibilidad y especificidad de la tinción gram modificada respecto al cultivo con microfiltros para la identificación de *Campylobacter sp* en muestras de heces con reacción inflamatoria positiva en pacientes pediátricos del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el periodo Julio 2017 a Junio del 2018.
- Precisar el valor predictivo positivo y negativo de la tinción gram modificada relacionado al cultivo con microfiltros para la identificación de *Campylobacter sp*. en muestras de heces con reacción inflamatoria positiva en pacientes pediátricos del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el 2017.

- Señalar si existe relación entre la tinción gram modificada y el cultivo con microfiltros en la identificación de *Campylobacter sp.* en muestras de heces con reacción inflamatoria positiva en pacientes pediátricos del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el 2017.

1.4. Justificación

1.4.1. Importancia de la investigación

El *Campylobacter* y sus especies frecuentemente aisladas, como causantes de enfermedad diarreica aguda, afecta de manera sustancial la salud pública en el mundo, reportándose millones de casos en el transcurso de cada año. El Perú no está exento de este problema, reportándose casos, según el Ministerio de Salud tanto en costa, sierra o selva, con una mayor incidencia en niños menores de cinco años, lo cual conlleva a morbilidad y mortalidad, estancias hospitalarias, pérdidas económicas y efecto deletéreo en el estado nutricional del niño.

El Perú, a través de su organismo rector, el Ministerio de Salud (MINSA), sigue mostrando datos estadísticos deprimentes, refiere que la morbilidad de asistencia a consultas ambulatorias en niños menores de 1 año, en el 2014, la enfermedad diarreica aguda de etiología infecciosa se ubicaba en un quinto lugar (5,4%). También reportan una alta incidencia, aproximadamente 4,38 casos por niño por año, siendo las regiones más pobres las afectadas. El Hospital de Emergencias Pediátricas perteneciente al Ministerio de Salud, realiza atenciones ambulatorias en niños menores de cinco años debido a esta

enfermedad hasta 6 mil consultas en un año, de estos aproximadamente 2000 niños requerirán hospitalización.

Es importante saber que el *Campylobacter*, además de las infecciones gastrointestinales, y sus manifestaciones típicas como dolor abdominal, diarrea y fiebre, también presentan manifestaciones extraintestinales, como el Síndrome de Guillain Barré y la artritis reactiva como complicaciones conocidas pero infrecuentes. Además también se reportan casos de infecciones intravasculares, manifestándose como septicemia, tromboflebitis séptica y endocarditis, y extraintestinales como meningoencefalitis, abscesos, siendo su etiología de ambas presentaciones el *Campylobacter fetus*.

En relación a diagnóstico de laboratorio se cuenta con microscopía utilizándose en nuestro país técnicas sencillas y económicas como la tinción gram, el problema de esta tinción es que la visualización no resulta fácil, ya que son extremadamente finos en su estructura, por lo cual tienen baja sensibilidad. A este método se le realiza una modificación, adquiriendo el nombre de tinción gram interrumpida, donde podemos observar con mayor facilidad a la bacteria fina en forma de S, ambas tinciones se realizan en muestras de heces frescas. Dicha prueba laboratorial es solicitada por el médico tratante cuando tiene presunción diagnóstica para infección por *Campylobacter*. Esta tinción no tiene costos elevados, por lo cual se mantiene casi siempre en la cartera de servicios de los establecimientos de salud.

En establecimientos de salud de mayor nivel de resolución, centros hospitalarios de referencia o laboratorios de investigación se realiza el cultivo para *Campylobacter*, ya que durante mucho tiempo se lograba el aislamiento

de esta bacteria y sus especies, debido a que requiere técnicas especiales para el crecimiento bacteriano como atmosfera microaerófila, una alta temperatura de incubación para eliminar otro tipo de bacterias que no causan enfermedad en el hombre. Pero hay que resaltar que dicha técnica microbiológica presenta altos costos económicos para las instituciones de salud, y requieren una infraestructura y manejo más especializado, lo cual dificulta que esta técnica sea de uso común y se pueda estandarizar a pequeños establecimientos de salud como postas médicas, sobretodo en provincias.

Existen además técnicas inmunológicas como detección de antígenos y pruebas moleculares como la amplificación de ácidos nucleicos, pero están orientadas a la investigación o resultan en costos económicos extremadamente altos para nuestro medio.

Es de conocimiento en la comunidad científica por estudios de investigación el uso de la técnica de cultivo con filtro, el cual considera el tamaño estructural del *Campylobacter* y el paso fácil que debe de realizar a través de una membrana de celulosa que tiene una porosidad de 0.45 a 0.65 μm , impidiendo por el tamaño del poro el paso de otros microorganismos no patógenos. Técnica que representa bajos costos económicos.

El Hospital de la Policía Luis N. Sáenz es una institución con un nivel de resolución III, con altos índices de atenciones en consultorio externo pediátrico y atenciones por emergencia pediátrica debido a enfermedades diarreicas, es de vital importancia que su cartera de exámenes de laboratorio en el servicio de microbiología debe ser vasto y variado. En la búsqueda de pruebas más

sensible y específicas para la detección de *Campylobacter* y que no represente altos costos para la institución, que nos brinde una ayuda complementaria para el diagnóstico inmediato y efectivo, para poder efectuar un tratamiento farmacológico eficaz y evitar efectos colaterales en la población, sobretodo en la población menor de 5 años.

1.5. Limitaciones

- Deficiencias en la infraestructura del laboratorio de microbiología, ya que muchas veces no se cuenta con un área adecuada para la recepción de muestras de heces.
- Errores en la toma de muestra de heces, que podrían influir en los resultados del gram modificado y el cultivo para *Campylobacter sp.*
- Tanto el gram modificado como el cultivo para *Campylobacter sp.*, por las características de su procedimiento, es un examen que no se realiza de forma inmediata.
- Es importante que la tinción gram modificada como el cultivo para *Campylobacter sp.*, sea realizado por personal entrenado y con experiencia en dichos procedimientos.
- En algunas ocasiones se presenta déficit en los insumos para realizar el gram modificado y el cultivo para *Campylobacter sp.*
- Déficit en la elaboración y estandarización de protocolos para el aislamiento del *Campylobacter*.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

En 1998, Kulkarni y et al., en un estudio prospectivo que incluyó 343 muestras de pacientes, encontraron que 23 muestras fueron positivas para uno o más métodos, de estos, 17 fueron positivos para el cultivo selectivo, 12 para filtración de membrana y 20 por PCR. Asimismo, de 18 de 23 muestras se identificaron como *C. jejuni* y/o *C. coli* mediante el algoritmo de identificación de PCR, en comparación con 14 identificados por cultivo selectivo y 10 por filtración de membrana.¹

El 2009, Harkanwaldeep y et al., en un estudio aleatorizado probó la eficacia de la reacción en cadena de polimerasa (PCR) para la detección de *C. jejuni* que incluyó 238 muestras fecales de humanos (43), de bovinos (48) y aves de corral (52), solo 4, 3 y 8, respectivamente, pudieron detectarse por cultivo, mientras que 6, 3 y 10, respectivamente, fueron encontrados positivos por PCR. Además, se encontró que la PCR era más sensible para la detección de *C. jejuni* en muestras fecales y en relación al cultivo.²

Fraser y et al., en 1991, realizaron un estudio prospectivo con 18 serogrupos entre *C. jejuni* y *C. coli*, frecuentemente aislados en humanos, cuando se comparó el crecimiento en agar Mueller Hinton en una atmósfera microaeróbica (5% O₂, 10% CO₂ y 85% N₂) con el crecimiento en los mismos medios en 10% CO₂ en el aire húmedo, los tamaños de las colonias fueron significativamente

mayores ($p < 0.05$) para las cepas cultivadas en 10% de CO₂ en aire húmedo. No se observó una diferencia significativa en el número de colonias entre las dos atmósferas.³

Platts-Mills y *et al.*, el 2013, realizaron un estudio longitudinal en 432 muestras, hallando una sensibilidad (8.5%) y especificidad (97.6%) del cultivo en comparación con los resultados del Inmunoensayo enzimático (EIA) con una sensibilidad (8.7%) y especificidad (98.0%), en comparación con los resultados de PCR para *C. jejuni*/*C. coli*. La mayoría (71.6%) de las muestras positivas para EIA fueron positivas por PCR para *C. jejuni*/*C. coli*, pero el 27.6% fueron positivos para las especies de *Campylobacter* no *jejuni/coli*.⁴

El 2002, Hui Wang y *et al.*, en un estudio prospectivo que incluyó 842 muestras fecales diarreicas para evaluar la tinción Gram con contraste carbol fucsina para detección de *Campylobacter*, se aislaron en 84 muestras de heces (todas *Campylobacter jejuni*), en comparación con el cultivo, la microscopía de tinción Gram tenía una sensibilidad del 89%, una especificidad del 99,7%, un valor predictivo positivo del 97% y un valor predictivo negativo del 99% para la detección de especies de *Campylobacter*.⁵

El 2013, Fideli y *et al.*, en un estudio prospectivo que incluyó 300 muestras de heces de niños, para evaluar la efectividad de la tinción versus el cultivo, de las cuales 14 (4.7%) mostraron cultivo positivo después de 48 horas de incubación y 28 (9.3%) muestran la morfología típica de las especies de *Campylobacter* tanto por tinción de Gram como por tinción directa. La sensibilidad de la tinción

de Gram usando 0.3% y 1% de carbol fucsina versus el cultivo como estándar de oro fue 64.3%, con una especificidad de 93.4%. El valor predictivo positivo y el valor predictivo negativo fueron 32.1% y 98.2% respectivamente.⁶

Kawatsu y *et al.*, el 2007, realizaron un estudio prospectivo, se consideraron 222 muestras de heces diarreicas, donde se utilizó para la detección del *Campylobacter* un ensayo inmucromatográfico (Campy-ICA), obteniéndose resultados con Campy-ICA una sensibilidad del 84.8% (28 de 33 especímenes) y una especificidad del 100% (189 de 189 especímenes) comparados con los resultados del aislamiento de *C. jejuni* y *C. coli* del cultivo.⁷

Bassede y *et al.*, el 2009, realizaron un estudio comparativo de dos métodos moleculares para detección de *Campylobacter* y 3 métodos inmunoenzimáticos, en 242 muestras de heces, se halló que 23 (9,5%) cumplieron los criterios de positividad, es decir, fueron positivas por uno o ambos métodos de cultivo o, en el caso de un cultivo negativo, fueron positivos tanto para el método molecular e inmunoenzimático. Sorprendente que en este estudio es baja la sensibilidad del cultivo, en el rango del 60%, en contraste con las pruebas inmunoenzimáticos y moleculares.⁸

Granato y *et al.*, el 2010, llevaron a cabo un estudio comparativo, en 485 muestras de heces, utilizando para la detección del *Campylobacter* cultivo convencional y tres métodos comerciales inmunoenzimáticos (Campy EIA, ProSpecT e InmunoCard Stat, para los resultados discordantes se utilizó PCR,

la sensibilidad y la especificidad para CAMPY EIA y ProSpecT fueron de 99,3% y 98%, respectivamente, mientras que el InmunoCard Stat tuvo una sensibilidad del 98.5% y una especificidad del 98.2%, con el uso del PCR prueba de referencia, el cultivo detectó 127 de 135 muestras de heces positivas para *Campylobacter*, produciendo una sensibilidad del 94.1%.⁹

El 2014, Rintala y et al., en un estudio prospectivo que incluyó 1168 muestras de pacientes, para evaluar el rendimiento de un nuevo kit de PCR en tiempo real para detección bacteriana causantes de gastroenteritis, la sensibilidad y especificidad de la prueba fue 100/99.7% para *Salmonella*, 100/99.8% para *Yersinia*, 98.8/99.2% para *Campylobacter*, y para las distintas especies entéricas de *E. coli* 92.9/100% para *Shigella/invasiva*, 100/99.9% para coagulativa, 92.9/99.8% para toxigénica, 98.9/99.2% patogénica, y 100/ 99.8% de hemorrágica, respectivamente. Cuando se comparó con el cultivo, se encontró que era más sensible.¹⁰

Dediste y et al., el 2002, llevaron a cabo un estudio prospectivo, en 1205 muestras de heces, para detectar *Campylobacter* por inmunoensayo por Microplaca ProSpecT, se halló que 90 muestras fueron positivas para cultivo y ProSpecT, y 11 fueron positivas sólo para cultivo, arrojando una sensibilidad de 89.1%, además se obtuvo una especificidad de 97.7%, el valor predictivo positivo y negativo fue de 78.3% y 99%, respectivamente.¹¹

Tissari y *et al.*, el 2005, llevaron a cabo un estudio prospectivo, en 1050 muestras de heces, para detectar *Campylobacter* comparando prueba de antígeno por inmunoensayo enzimático versus cultivo en medio selectivo, se determinó que la tasa de positividad para *Campylobacter* fue del 9,3% en cultivo, y una sensibilidad de 69% para el antígeno, 46 muestras de heces con cultivo negativo para *Campylobacter* produjeron otros enteropatógenos, de las 952 muestras de cultivo negativo de *Campylobacter*, 830 fueron negativas en la prueba de antígeno, dando una especificidad del 87%.¹²

El 2009, Keller y *et al.*, en un estudio prospectivo que incluyó 30 muestras de niños, comparando dos pruebas inmunoenzimáticas (Ridascreen y Premier Campy) además de una prueba inmunocromatográfica (Inmunocard), como control el cultivo, se hallaron 15 muestras positivas y 15 muestras negativas por los 3 métodos inmunoenzimáticos, y con el cultivo se logró aislar *Campylobacter* en 15 muestras, de los cuales 12 fueron *C. jejuni* y 3 *C. coli*, por lo tanto los resultados fueron consistentes con los del cultivo.¹³

El 2008, Nascimento Veras y *et al.*, en un estudio prospectivo que incluyó 153 muestras de niños, para realizar una comparación entre diferentes métodos de detección de *Campylobacter*, obtuvo sensibilidades de 100%, 84% y 91% y especificidades de 80%, 97% y 97%, para ELISA, PCR convencional y PCR en tiempo real, además es importante destacar que el cultivo sigue siendo el Gold estándar con una especificidad del 100%.¹⁴

El 2001, Perales y et al., en un estudio longitudinal que incluyó 248 muestras de niños, para hallar la frecuencia de Campylobacter y Shigella como agentes etiológicos de diarrea aguda, se utilizó para la determinación el cultivo, obteniéndose 13.3% a Campylobacter, 4.8% a Shigella y 1,2% a Salmonella, la especie de Campylobacter hallada fue C. jejuni (84.6%).¹⁵

En 1986, Grados y et al., en un estudio de casos y controles el cual incluyó 1290 pacientes pediátricos, con el objetivo de hallar la etiología de transmisión para causar enteritis infecciosa, se encontró que el 10% y el 8,6% de los casos y controles, respectivamente, se aisló Campylobacter, además nos dice que el factor más importante de riesgo en los casos (razón de productos cruzados 12.5) fue vivir en una casa con pollos infectados con Campylobacter jejuni.¹⁶

El 2012, Gonzales Abad y et al., en un estudio prospectivo, de 171 muestras de heces, se obtuvo que en 101 (66%) se aisló C. jejuni, de estas, 5 cepas de (5%) y 89 (88%) fueron resistentes a eritromicina y ciprofloxacino, respectivamente.¹⁷

El 2002, Patiño y et al., en un estudio prospectivo, de 303 muestras de heces, se aislaron en 19 (6.27%) y en 11 (3.63%) por cultivo y tinción, respectivamente, además entre procedencia y sexo no fue significativo, pero resaltar que para la edad sí.¹⁸

En un estudio reciente, publicado por Moya y et al. (2016), se encontró que la detección de Campylobacter en sangre con filtro (78,3%) y agar Karmali

(21.7%) de 287 muestras fecales pediátricas, además destacar que la sangre por filtro muestra una sensibilidad de 90.9%.¹⁹

El 2005, Hurtado Díaz y et al., en un estudio prospectivo, de 405 muestras de heces, se aisló *Campylobacter* sp en 37 muestras con una incidencia de 0.091, el estudio dice que es la tercera causa de diarrea, detrás de *E. coli* y *Shigella*.²⁰

El 2004, L. Chanqueo Hurtado y et al., de 164 muestras de heces, a través del cultivo se aisló 16 *Campylobacter*, de estas solo en 6 se visualizó por la tinción de Hucker, les dio una sensibilidad y especificidad de 37.5% y 100%, respectivamente; cabe resaltar que la totalidad fue de la especie de *C. jejuni*.²¹

2.2. Bases teóricas

Reseña histórica

Las especies de *Campylobacter* son microaerófilas, bacilos Gram-negativos, en forma de coma, que fueron reconocidas como las principales causas de aborto infeccioso en animales a principios del siglo XX y más tarde se determinaron como causas infecciosas de aborto en mujeres. Durante las próximas décadas, estos organismos se informaron como causantes de bacteriemia, meningitis, endocarditis y abscesos en pacientes inmunocomprometidos. Un grupo de microorganismos, relacionados con las patologías antes mencionadas, se aislaron en la sangre de pacientes con diarrea. Durante las últimas tres décadas del siglo XX, el *Campylobacter* fue reconocido como uno factor etiológico bacteriano más común de diarrea a nivel mundial.

Aunque a estos microorganismos en un primer momento se le llamó Vibrio, determinándose un nuevo género, Campylobacter, en 1973, se le llamó Campylobacter fetus, y los otros vibrios relacionados se denominaron C. jejuni y C. coli. En el año 2000, el genoma completo de C. jejuni se logró secuenciar.

En nuestros tiempos se han logrado secuenciar el genoma de ocho especies de Campylobacter. El uso de un sistema de filtración para cultivo libre de antibióticos y otras técnicas recientes ha logrado el reconocimiento de que otras especies y géneros "atípicos" de Campylobacter pueden producir enfermedades humanas. Dichas especies incluyen C. fetus, C. concisus, C. curvus, C. lari, C. insulaenigrae, C. jejuni subsp. doylei, C. rectus, C. sputorum, C. upsaliensis, y muchas otras más. Nuevas especies patógenas de Campylobacter se están identificando con cierta regularidad. En los países tropicales como África del Sur, estos Campylobacter "atípicos" está constituida por la especie C. isolated con más del 50%. En contraposición, en los Estados Unidos y otros países industrializados, C. jejuni cuenta con más del 95% de las especies de Campylobacter aisladas. Considerando otras investigaciones, en Hong Kong, Tailandia y África Central el Campylobacter presenta una mayor incidencia de C. coli en relación con la observada en las naciones industrializadas. Sin embargo, considerando que los técnicas metodológicas para mejorar la detección de C. jejuni no ayudan en el crecimiento de otras especies, por lo tanto la carga de enfermedad.²²

Estructura y fisiología

Las especies de Campylobacter son bacterias en forma de curva o espiral que necesitan de un ambiente microaerófilo, es decir, necesitan menos oxígeno y

son también capnófilas, significa que necesitan más dióxido de carbono, se movilizan por un flagelo polar siendo único y no contiene funda. Estas bacterias no son fermentadoras y no hacen oxidación, por lo cual utilizan aminoácidos y los intermediarios de carbonos del ciclo de Krebs para obtener energía. Debemos mencionar que un primer momento se le clasificó como Vibrio, hasta que realizaron investigaciones de ADN el cual demostró que no tenía relación alguna con la especie antes mencionada.²³

Expresión clínica del Campylobacter jejuni

Este patógeno en el humano es el más representativo entre las demás especies. Está distribuido en todo el mundo y en los países desarrollados se detecta en muestras de heces de consistencia diarreica representando entre dos a siete veces más frecuente que la Salmonella y Shigella. No les causa trastornos a los animales domésticos, pueden portarlo y la gran mayoría están colonizados. Las mayores fuentes alimentarias de infección son la leche fresca, agua contaminada y aves crudas. Las manifestaciones clínicas con esta bacteria se caracterizan por dolor abdominal tipo cólico, diarrea con sangre, escalofríos y elevación de la temperatura corporal. En la mayoría de afectados que muestra las manifestaciones antes mencionada se resuelve espontáneamente a los 3 y 7 días de iniciada la sintomatología. Pero esta bacteria se puede seguir eliminando por las heces de las personas afectadas durante 2 semanas hasta 1 mes.²⁴

Otras manifestaciones clínicas

A pesar que en la actualidad la diarrea de causa infecciosa sigue presentándose frecuentemente por *Campylobacter*, han aparecido nuevas enfermedades en estos últimos años. Se reportan, escasamente, meningitis, artritis séptica y proctocolitis, todas estas secundarias a dicha bacteria. Además se han reportado estudio de casos que el *Campylobacter* está asociado con el síndrome de Guillain Barre. Mencionan que 1 a 3 semanas antes del inicio de la expresión neurológica, entre el 20% al 40% de estos pacientes presentan positividad para *Campylobacter*. Destacan que no hay relación entre la gravedad de la enteritis infecciosa por *C. jejuni* y la aparición del síndrome de Guillain Barré, ya que infecciones asintomáticas pueden ser gatillo para la aparición.²⁵

Identificación de presunción en muestras fecales

Hay la posibilidad de hacer un diagnóstico presuntivo de enfermedad diarreica aguda por *Campylobacter*, a través de la microcopia, donde se pueden visualizar estructuras curvas, en forma de "S", en alas de gaviota o espirales largos, obtenidas de tinción Gram para bacterias gramnegativas.²⁶ Tenemos como sugerencia revisar preparados húmedos o frotis teñidos en muestras fecales diarreicas en donde se hallan leucocitos polimorfonucleares y se noten formas bacterianas sugestivas de *Campylobacter*. En algunos laboratorios, previamente se realiza el estudio de leucocitos de la muestras y si están presentes, recién se someten a otras técnicas más finas. Este parámetro antes mencionado se basa en que hay escasa probabilidad de hallar presencia sustancial del *Campylobacter* en muestras fecales que no contengan leucocitos. Se perdería insumos y tiempo al utilizar medios de cultivos

especiales para intentar recuperar esa escasa presencia de microorganismos, por lo cual resulta ineficaz y elevación de costos.²⁷

Técnicas laboratoriales para el aislamiento

El éxito para aislar al *Campylobacter* de las muestras fecales es dependiente de la utilización de medios selectivos, realizar incubación a temperatura ambiente de 42°C y tener una atmosfera ideal de incubación con oxígeno al 5%, CO₂ al 10% y nitrógeno al 85%. Se ha mencionado que una nueva metodología de filtración de membrana que se utiliza en placas de agar sangre no selectiva presenta una eficacia similar a los medios selectivos para la detección de *C. jejuni*. Esta técnica muestra una ventaja, ya que permite aislar *Campylobacter* sensibles a los antibióticos. En estos últimos años, se viene usando medios de cultivo selectivos, además de condiciones particulares de incubación para el aislamiento de *Campylobacter*, mayoritariamente en servicios de Microbiología.²⁷

Se pueden utilizar varios procedimientos para proporcionar una atmosfera gaseosa apropiada para el cultivo de campilobacterias microaerófilas. Estos incluyen procedimientos de extracción y relleno de gases, uso de generadores descartables y del principio de Fortner. No se recomiendan el uso de una estufa con CO₂ para incubar campilobacterias porque solo crecen cepas que toleran una atmósfera que se le brinda. Al utilizar técnicas sencillas pero no estandarizadas como frascos y la extinción con vela para el crecimiento de anaerobios, se obtienen resultados deficientes ya que la

concentración de oxígeno que se obtiene con estas técnicas es muy elevada para el óptimo crecimiento de las campilobacterias.

De manera alternativa se utilizan hisopos para toma de muestras rectales, estas se pueden inocular de manera directa sobre el agar recomendado. Existen otras técnicas como la emulsificación de las muestras mezcladas con solución salina, esta mezcla se inocula sobre el agar con una pipeta, idealmente pipeta Pasteur.²⁷

Uso del cultivo para la detección

Se puede sospechar cuando hay crecimiento de colonias en los medios selectivos con agar, previamente sometidas a una incubación a 42°C, que estamos frente a la especie de *Campylobacter jejuni*. La variación morfológica de esta especie en un agar selectivo pueden ser: colonias grisáceas, planas, irregulares, redondeadas, brillantes y convexas, secas o húmedas. Cuando las colonias crecen confluyen alrededor de la línea de siembra. Cuando se utiliza agar sangre estas colonias no producen reacciones hemolíticas, pero se puede usar para la confirmación reacciones rápidas como la catalasa y citocromo oxidasa, ya que las especies *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari* dan reacciones positivas. En algunas oportunidades se presenta confusión con la *Pseudomonas aeruginosa* ya que también son termófilas y se puede presentar crecimiento en estos medios selectivos. Sin embargo, esto puede ser dilucidado por un observador con experiencia.²⁷

Se presentan características en estas colonias con la tinción Gram mostrando una morfología curvada o espiralada o en unas ocasiones en forma de "S",

también se reporta como alas de gaviota. Los cultivos que tienen mayor tiempo de sembrado muchas veces adquieren una morfología cocoide, esto debido a que son sometidos a temperatura ambiental. El personal de laboratorio debe cumplir con el tiempo recomendado para realizar una tinción Gram ya que el *Campylobacter* tiende a adquirir una tinción leve. Es por esto que se instaure el uso de la contratinción de safranina y recomiendan extender el tiempo en 10 minutos para que la estructura interna del microorganismo adquiriera una tinción más intensa.²⁶⁻²⁷

2.3 Definición de términos básicos

Bacilo: se trata de una bacteria con forma cilíndrica y alargada.

Bacteria: es un organismo microscópico unicelular, no presenta núcleo, y que se multiplica por división celular sencilla o por esporas.

Cepas: se trata de una variante fenotípica de una especie, multiplicadas clonalmente para su conservación.

Cultivo: método bacteriológico utilizado para el crecimiento de microorganismos, donde se halla un medio óptimo para favorecer la multiplicación.

Enteritis: si se trata de causa infecciosa, es cuando el microorganismo se establece en el intestino, ocasionando inflamación y por ende alteración del funcionamiento intestinal

Especificidad: prueba estadística que permite determinar la probabilidad que una persona sana tenga un resultado negativo.

Gram negativo: son las bacterias que no retienen el colorante cuando se intenta decolorar con alcohol etílico.

Incidencia: se define como los casos nuevos en una población y periodo de tiempo determinado.

Meningitis: inflamación de las meninges, pudiendo ser de causa infecciosa.

Reacción inflamatoria en heces: técnica laboratorial que permite la detección y el conteo de leucocitos en heces.

Sensibilidad: representa la capacidad de una prueba estadística para detectar la enfermedad en sujetos enfermos.

Septicemia: representa una infección grave y se distribuye en todo el organismo humano, debido a un foco infeccioso y el posterior paso a la circulación sanguínea.

Síndrome de Guillain Barré: Enfermedad aguda de origen neurológico que cursa con desmielinización de las terminaciones nerviosas periféricas.

Tinción Gram: Técnica que consiste en la coloración de la pared celular bacteriana, se toma el nombre del médico danés Christian Gram.

Tinción Gram modificada: es aquella tinción donde se realiza una variación en el porcentaje de la concentración del colorante carbón fucsina.

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

Los resultados obtenidos mediante la tinción Gram modificada se correlacionan directamente con los del cultivo con microfiltros en los pacientes pediátricos del Hospital de la Policía en el 2017.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| VARIABLE | CONCEPTUALIZACIÓN | DIMENSIONES O CATEGORIA | TIPO | ESCALA | INDICADORES | TÉCNICA |
|-------------------------|--|---------------------------------|-------------|--|---|------------------------------|
| TINCIÓN GRAM MODIFICADO | Esta tinción emplea fucsina carbólica como colorante de contraste, esta modificación es especial para <i>Campylobacter</i> . ¹⁹ | Análisis de laboratorio Clínico | Cualitativa | Nominal POSITIVO: Evidencia de identificación de <i>Campylobacter sp.</i> por las siguientes características: bacilos curvados, gram negativo con morfología tipo coma, S, o espiral ocasionalmente; a la microscopia de luz (100X) en al menos diez campos observados . NEGATIVO: Ningún organismo por campo, por lo menos en diez campos observados . ² | Bacilos curvos gram negativos | Hoja de recolección de datos |
| CULTIVO BACTERIOLOGICO | Metodología laboratorial para la identificación de bacterias, donde se presentan las sustancias necesarias para su crecimiento y multiplicación de los microorganismos. ⁹ | Análisis de laboratorio Clínico | Cualitativa | Nominal POSITIVO: Aislamiento de colonias sin reacción hemolítica planos y acuosos con irregularidad en el borde y coloración grisácea o parda. ³ NEGATIVO: Ausencia de crecimiento bacteriano. | Colonias grises no hemolíticas a veces sobrepuestas | Hoja de recolección de datos |

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1. Diseño metodológico

Tipo de investigación: No experimental, diseño transversal correlacional descriptivo, cuantitativo y prospectivo.

Ámbito de investigación: Se desarrollara en el Hospital P.N.P Luis N. Sáenz, en el Departamento de Patología Clínica, Servicio de Microbiología y Parasitología.

4.2. Diseño muestral

Población y Muestra

Población: Se considerara la totalidad de muestras de heces de pacientes del grupo etario entre 0 a 5 años, de los cuales se recibieron sus muestras y la solicitud para reacción inflamatoria en heces con formato correctamente llenados por el médico tratante en el servicio de microbiología atendidos en el Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el 2017.

Muestra: Se considerara la totalidad de muestras de heces de pacientes del grupo etario entre 0 a 5 años, de los cuales se recibieron sus muestras y la solicitud para reacción inflamatoria en heces con formato correctamente llenados por el médico tratante en el servicio de microbiología del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el 2017.

Criterios de Selección

- Criterios de inclusión:

- ✓ Muestras de heces dejadas en el Departamento de Patología Clínica, Servicio de Microbiología con formato solicitado por médico tratante para reacción inflamatoria en heces.
- ✓ Muestras de niños de 0 a 5 años.
- ✓ Muestra de heces de recolección inmediata.
- ✓ Recipiente de plástico de tapa rosca.
- ✓ Paciente sin tratamiento farmacológico.

- Criterios de exclusión:

- ✓ Muestras con resultado de reacción inflamatoria en heces con escasa presencia de leucocitos.
- ✓ Muestras de niños que previamente se le haya instaurado cobertura antibiótica.
- ✓ Solicitudes mal redactadas o incompletas por parte del médico tratante.
- ✓ Muestras de niños mayores de 5 años.
- ✓ Muestras contaminadas con orina u otras sustancias.
- ✓ Muestras de heces recolectadas mayor a dos horas.
- ✓ Muestras manipuladas por terceros

4.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Considerando la solicitud con el resultado positivo, se registrará la información en una ficha de recolección de datos creada para tal fin, en donde se registrará toda la información necesaria para cumplir con el proyecto.

4.4. Procesamiento y análisis de información

Considerando cómo se realizará el análisis de la información se optará por utilizar el programa informático estadístico SPSS versión 15.5, el cual servirá para el análisis de la información obtenida

4.5. Aspectos éticos

El crecimiento en publicaciones de investigación científicas a nivel mundial, muchas veces conlleva a no considerar prioritario para la población humana de estudio el aspecto ético, es por esto que se tendrá como punto importante la valoración ética que daremos a nuestros pacientes, respetando sus valores, creencias, costumbres y hábitos de su comunidad, además el manejo de la información será confidencial, mostrando hasta finalizar la investigación respetuosos de los estatutos éticos enmarcados a nivel mundial.

CRONOGRAMA

| MESES 2017 AL 2018 | MAY | JUN | JUL | AGO | SET | OCT | NOV | DIC | ENE | FEB | MAR | ABR | MAY | JUN |
|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ACTIVIDAD MENSUAL | | | | | | | | | | | | | | |
| Presentación proyecto investigación | X | | | | | | | | | | | | | |
| Revisión bibliográfica | X | | | | | | | | | | | | | |
| Solicitud de realización de estudio | X | | | | | | | | | | | | | |
| Procedimiento | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | |
| Registro en formato | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | |
| Análisis de la información | | | | | | | | | | | | | | X |
| Revisión de resultados | | | | | | | | | | | | | | X |
| Elaboración del informe final | | | | | | | | | | | | | | X |
| Presentación de Trabajo de investigación | | | | | | | | | | | | | | X |

PRESUPUESTO

| MATERIALES DE ESCRITORIO Y OTROS | | | |
|---|---|--------------------------|---------------------|
| | CANTIDAD | PRECIO POR UNIDAD | PRECIO TOTAL |
| INTERNET | 80 horas | 1 | 80 |
| MOVILIDAD | 6 meses | 7 | 580 |
| HOJAS DE PAPEL BOND_A4 | 2 ciento | 0.1 | 20 |
| ÚTILES DE ESCRITORIO | Lapiceros, resaltadores Folder, grapas, etc. | 3 | 18 |
| TIPEADO | 100 hojas | 1 | 100 |
| IMPRESIONES | 4 juegos de 50 hojas | 0.1 | 20 |
| CARÁTULA | 4 caratulas a color | 0.5 | 2 |
| ANILLADO | 4 juegos anillado | 2.5 | 10 |
| TOTAL | | | 830 |

| REACTIVO Y MATERIALES DE LABORATORIO | | | |
|---|-----------------------|---------------|--------------|
| | CANTIDAD | PRECIO | TOTAL |
| LAMINAS PORTAOBJETOS | 4 Paquetes x 50 unid. | 5 | 20 |
| ACEITE DE INMERSION | 1 Frasco Gotero | 1 | 10 |
| BATERIA PARA GRAM | 1 Set | 20 | 20 |
| FILTROS DE 0.45 µm | 1 Paquete | 230 | 230 |
| PLACAS PETRI | 1 caja/400 | 250 | 250 |
| PINZA METALICA | 1 | 4 | 15 |
| GUANTES DE LATEX | 2 Cajas | 14 | 28 |
| MASCARILLA | 1 Caja | 10 | 10 |
| ALAMBRE DE MICROM | 2 | 5 | 10 |
| AGAR BASE | 1 frasco | 80 | 80 |
| TOTAL | | | 673 |

RECURSOS HUMANOS

| | CANTIDAD | PRECIO | TOTAL |
|------------------|----------|-------------------|----------|
| PATOLOGO CLINICO | 1 | S/.3000 /proyecto | S/.3 000 |
| TEC. LABORATORIO | 1 | S/1000/proyecto | S/1000 |
| DIGITADOR | 1 | S/500 | S/500 |
| TOTAL | | | S/.4500 |

COSTO TOTAL DEL PROYECTO

| | |
|--------------------------------------|------|
| COSTOS DE LOS MATERIALES | 830 |
| COSTOS DE LOS REACTIVOS Y MATERIALES | 673 |
| COSTOS DE RECURSOS HUMANOS | 4500 |
| TOTAL DEL PROYECTO | 6003 |

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. S P Kulkarni, S Lever - Detection of campylobacter species: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods. *J Clin Pathol*, 2002;55:749–753
2. Harkanwaldeep Singh, R.S. Rathore – Comparative analysis of cultural isolation and PCR based assay for detection of *Campylobacter jejuni* in food and faecal samples. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2011; 42:181-186
3. A.D.E. Fraser, V. Chandan - Simple and economical culture of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in CO₂ in moist air. *International Journal of Food Microbiology*, 1992; 15:377-382
4. James A. Platts-Mills, Jie Liu - Detection of *Campylobacter* in Stool and Determination of Significance by Culture, Enzyme Immunoassay, and PCR in Developing Countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 2014; 52: 1074–1080
5. Hui Wang, David R. Murdoch - Detection of *Campylobacter* species in faecal samples by direct Gram stain microscopy. *Pathology*, 2004; 36:343–344
6. Martha Fidelis Mushi, Laurent Paterno - Evaluation of detection methods for *Campylobacter* infections among under-fives in Mwanza City, Tanzania. *Pan African Medical Journal*. 2014; 19:392-399
7. Kentaro Kawatsu, Yuko Kumeda - Development and Evaluation of Immunochromatographic Assay for Simple and Rapid Detection of

- Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in Human Stool Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 2008, 46:1226–1231
8. Emilie Bessède, Adline Delcamp - New Methods for Detection of Campylobacters in Stool Samples in Comparison to Culture. *Journal of Clinical Microbiology*, 2011, 49:941–944
 9. Paul A. Granato, Li Chen - Comparison of Premier CAMPY Enzyme Immunoassay (EIA), ProSpecT Campylobacter EIA, and ImmunoCard STAT CAMPY Tests with Culture for Laboratory Diagnosis of Campylobacter Enteric Infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010, 48:4022–4027
 10. Anniina Rintala, Eveliina Munukka - Evaluation of a multiplex real-time PCR kit Amplidiag® Bacterial GE in the detection of bacterial pathogens from stool samples. *Journal of Microbiological Methods*. 2016; 128:61–65
 11. A. Dediste, O. Vandenberg – Evaluation of the ProSpecT Microplate assay for detection of Campylobacter: a routine laboratory perspective. *Clinical Microbiology and Infection*. 2003; 9:1085-1090
 12. Paivi Tissari, Hilpi Rautelin - Evaluation of an enzyme immunoassay-based stool antigen test to detect Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2007; 58:171 – 175
 13. Laura Keller, Stephan Cohen-Bacrie - Evaluation of three rapid assays for direct diagnosis of Campylobacter jejuni and C. coli from stools. *Pathologie Biologie*. 2011; 59:16–18
 14. Herlice do Nascimento Veras, Josiane da Silva Quetz - Combination of different methods for detection of Campylobacter spp. in young children

- with moderate to severe diarrhea. *Journal of Microbiological Methods*. 2016; 128:7–9
15. María Perales D, Máximo Camiña – Infección por *Campylobacter* y *Shigella* como causa de diarrea aguda acuosa en niños menores de dos años en el distrito de la Victoria, Lima – Perú. *Rev Peru med Exp Salud Publica*. 2002; 19:186-192.
16. O. Grados, N. Bravo – Diarrea pediátrica por *Campylobacter* debida a la exposición doméstica a pollo vivos en Lima, Perú. *Bol Of Sanit Panam*. 1989; 106:206-213
17. María José Gonzales- Abad, Mercedes Alonso-Sanz – Incidencia y sensibilidad de *Campylobacter jejuni* en pacientes pediátricos: implicación en bacteriemia. *Rev Esp Quimioter*. 2013; 26:92-96
18. Lilian Patiño Gabriel – Estudio comparativo entre la microscopía convencional y el método de cultivo con microfiltros para la identificación del *Campylobacter* sp. en muestras fecales del HNGAI durante el 2º semestre del 2002. Tesis UNMSM. 2002.
19. Jeel Moya-Salazar, Liz Pio-Dávila – Rendimiento diagnóstico del agar sangre con filtro versus agar Karmali para el diagnóstico de *Campylobacter* en coprocultivos. *Horiz Med*. 2016; 16:58-65
20. Lilia Janet Hurtado Díaz, Rosalyn Susmira Rojas Mendoza – Incidencia de *Campylobacter* sp. en pacientes ambulatorios menores de cinco años con diarrea aguda en dos hospitales de Lima: octubre 2005 – enero 2006. Tesis UNMSM. 2008.

21. Leonardo Chanqueo C, Patricia Gracia C. – Evaluacion de la tinción de Hucker para la búsqueda rutinaria de Campylobacter sp en el estudio de un síndrome diarreico agudo. Rev Chil Infect. 2005; 22:242-246
22. Ban Mishu Allos, Albert J. Lastovica. Campylobacter Infections. Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice. Tercera edición. Estados Unidos: Elsevier; 2011. 145-149
23. Steven L. Percival. Campylobacter. Microbiology of Waterborne Diseases. Segunda edición. Estados Unidos: Elsevier; 2014. 65-78.
24. Paola J. Mautua-Neumann, Richard A. Oberheiman. Campylobacter Infections. Hunter`s Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease. Novena edición. Estados Unidos: Elsevier; 2013, 468-470
25. Nadeem O. Kaakoush, Hazel M. Mitchell. Campylobacter. Molecular Medical Microbiology. Segunda edición. Estados Unidos: Elsevier; 2015. 1187-1236
26. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal. Campylobacter y Helicobacter. Microbiología Médica. Octava Edición. España: Elsevier; 2017. 280-286
27. Washintong C. Winn, Stephen D. Allen. Campilobacterias y vibriones. Koneman Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas en color. Sexta edición. España: Panamericana; 2006. 372-406

ANEXOS

ANEXO 01

| Título de la investigación | Pregunta de Investigación | Objetivos de la Investigación | Hipótesis | Tipo y diseño de estudio | Población de estudio y procesamiento de datos | Instrumento de recolección |
|---|---|---|---|---|--|-------------------------------|
| Tinción gram modificada y el cultivo en <i>Campylobacter</i> sp en pacientes pediátricos del Hospital Luis N. Sáenz | ¿Cuál es la correlación de tinción gram modificada con el cultivo en la detección del <i>Campylobacter</i> en población pediátrica del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el 2017? | <p>Objetivo general: Hallar la relación de la tinción Gram modificada y el cultivo con microfiltros para la identificación de <i>Campylobacter</i> sp. en pacientes pediátricos del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz, en el 2017.</p> <p>Objetivos específicos: Determinar la sensibilidad y especificidad de la tinción gram modificada respecto al cultivo con microfiltros para la identificación de <i>Campylobacter</i> sp. en muestras de heces con reacción inflamatoria positiva en pacientes pediátricos del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el 2017. Determinar el valor predictivo positivo y negativo de la tinción gram modificada relacionado al cultivo con microfiltros para la identificación de <i>Campylobacter</i> sp. en</p> | Los resultados obtenidos mediante la tinción gram modificada se correlacionan directamente con los del cultivo con microfiltros en los pacientes pediátricos del Hospital de la Policía en el 2017. | Es de tipo no experimental, y diseño transversal correlacional descriptivo, cuantitativo y prospectivo. | Se considerara la totalidad de muestras de heces de pacientes del grupo etario entre 0 a 5 años, de los cuales se recibieron sus muestras y la solicitud para reacción inflamatoria en heces con formato correctamente llenados por el médico tratante en el servicio de microbiología atendidos en el área de microbiología del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz el 2017. | Ficha de recolección de datos |

| | | | | | | |
|--|--|---|--|--|--|--|
| | | <p>muestras de heces con reacción inflamatoria positiva en pacientes pediátricos del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el periodo Julio 2017 a Diciembre del 2017. Demostrar si existe relación entre la tinción gram modificada y el cultivo con microfiltros en la identificación de <i>Campylobacter sp.</i> en muestras de heces con reacción inflamatoria positiva en pacientes pediátricos del Hospital de la Policía Luis N. Sáenz en el 2017.</p> | | | | |
|--|--|---|--|--|--|--|

Anexo 02 **FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Edad:..... Sexo:.....

Hora recepción:..... Hora entrega de resultados:.....

Procedencia:.....

Microscopía:

| Técnica Laboratorial | | | RESULTADO |
|------------------------------|---------------|----------------|-----------|
| Reacción Inflamatoria | L | 0 – 15 x campo | |
| | E | | |
| | U | 16–30x campo | |
| | C | 31-50 x campo | |
| | O | | |
| | C | >50 x campo | |
| | I | | |
| | T | >100 x campo | |
| | O | | |
| | S | | |
| | H | 0 – 5 x campo | |
| | E | | |
| | M | 6– 10 x campo | |
| | A | | |
| T | 11-50 x campo | | |
| I | | | |
| E | >50 x campo | | |
| S | >100 x campo | | |

| | | | |
|--|----------------------------|------------------|--|
| | M O C O | | |
| | | AUSENCIA DE MOCO | |
| | | 1 (+) | |
| | | 2 (+) | |
| | | 3 (+) | |

| | | |
|---------------------------------------|----------|--|
| Técnica laboratorial | | |
| <i>Tinción Gram Modificada</i> | NEGATIVO | |
| | POSITIVA | |

