

Toxina de distensión citoletal (CDT) de *Campylobacter* spp. y sus efectos fisiopatológicos sobre el epitelio gastrointestinal.

Cytolethal Distending Toxin (CDT) from *Campylobacter* spp. and its pathophysiological effects on the gastrointestinal epithelium.

Gabriela Felicita Collaguazo¹, Sonia Estrella¹, Heriberto Fernandez²

¹Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Quito, Ecuador

²Universidad Austral de Chile, Instituto de Microbiología Clínica, Facultad de Medicina, Valdivia, Región de Los Ríos, Chile

gefelicita@puce.edu.ec

Resumen.-

Campylobacter es un género bacteriano considerado de gran importancia, en términos de salud pública, a nivel mundial al ser reconocido como patógeno diarreico de origen zoonótico, causante de Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETAs). Además, posee genes de resistencia a los antibióticos, así como diferentes factores de virulencia entre ellos: la Toxina de Distensión Citoletal (CDT) que afecta directamente al ciclo celular del hospedador. Aunque la patogenicidad de *Campylobacter* spp. ha sido ampliamente estudiada, existe poca información de sus efectos en el epitelio gastrointestinal. Esta revisión bibliográfica trata de reflejar el estado del arte en relación a CDT y sus efectos en el epitelio intestinal. Así mismo, procura describir la prevalencia de producción de esta toxina en las diferentes especies de *Campylobacter* spp. Para esto se realizó una revisión de artículos científicos, publicados en revistas indexadas entre el año 2000 y 2021. Se concluyó que *Campylobacter* spp tiene mayor afinidad por el colon en donde se encuentran células como: enterocitos, células enteroendócrinas, células de Paneth. En cuanto a la CDT, estudios histopatológicos indican un daño celular visible como: separación de las criptas

de Lieberkühn, presencia de abscesos en las mismas, aparición de úlceras, entre otras, que pueden darse por esta toxina.

Palabras Clave: *Campylobacter* spp., células del epitelio gastrointestinal, colon, Toxina de Distensión Citoletal.

Abstract.-

Campylobacter is a bacterial genus considered of great importance, in terms of public health, worldwide as it is recognized as a diarrheic pathogen of zoonotic origin, causing Foodborne Diseases. In addition, it has antibiotic resistance genes, as well as different virulence factors including: Cytolethal Distension Toxin (CDT) that directly affects the host cell cycle. Although the pathogenicity of *Campylobacter* spp. has been extensively studied, there is little information on its effects on the gastrointestinal epithelium. For this reason, this bibliographic review tries to reflect the state of the art in relation to CDT and its effects on the intestinal epithelium. Likewise, it seeks to describe the prevalence of production of this toxin in the different species of *Campylobacter* spp. For this, a review of scientific articles, published in indexed journals between 2000 and 2021, in reference to CDT in *Campylobacter* spp, was carried out. It was concluded that *Campylobacter* spp. has a greater affinity for the colon where cells such as: enterocytes, enteroendocrine cells, Paneth cells are found. As for CDT, histopathological studies indicate visible cell damage such as: separation of the crypts of Lieberkühn, presence of abscesses in them, appearance of ulcers, among others, which can be caused by this toxin.

Key Words: *Campylobacter* spp., gastrointestinal epithelial cells, colon, Cytoletal Distending Toxin.

Introducción

Campylobacter es uno de los géneros de patógenos bacterianos de mayor relevancia a nivel mundial (1). Los organismos pertenecientes a este género son causantes de campylobacteriosis (2). Esta enfermedad es transmitida por alimentos contaminados con células viables de *Campylobacter* spp. y puede provocar diarreas acuosas, fiebre, dolor abdominal, o incluso complicaciones graves como bacteriemias y enfermedades autoinmunes, incluyendo el síndrome de Guillain-Barré y Miller Fisher. Por ende, reconocer sus factores de virulencia y su impacto en el hospedador resulta muy pertinente (3; 4; 1; 5).

Esta bacteria perteneciente a la clase Epsilonproteobacteria, es un bacilo Gram negativo curvo, con peculiar morfología semejante a alas de gaviota (2). Además, las diferentes especies de este género se desarrollan en condiciones microaerofílicas (5 – 10% de oxígeno y 3 – 10% de dióxido de carbono), y son termotolerantes. Aunque se han descrito quince especies emergentes, cuatro son las patógenas con mayor prevalencia en humanos. Principalmente, se ha reportado la ocurrencia de *C. jejuni* y *C. coli*, y, con menor frecuencia, *C. lari* y *C. upsaliensis* (2; 6). Estas especies son de gran importancia clínica y provocan mayor daño en niños, ancianos, personas inmunodeprimidas y embarazadas. Aparece con mayor frecuencia en países industrializados como Estados Unidos y Reino Unido, donde se presentan más de un millón de casos anuales (5), aunque también se reporta en países en vías de desarrollo como Colombia o Ecuador (7; 4). En este último, los estudios de pacientes diagnosticados con campylobacteriosis son escasos y se han encontrado porcentajes del 6,3% de infecciones gastrointestinales (2) esto puede deberse a la dificultad de aislar la bacteria y la subestimación de este microorganismo dentro de los protocolos de diagnóstico de patógenos diarreicos primordiales. A pesar de esto, en el mismo país se obtienen altos porcentajes de aislamientos en aves de corral y pollos de engorde, con

aproximadamente un 76% (8; 9; 10), por lo que su prevalencia es considerada alta. Además, *Campylobacter* spp. es una bacteria que provoca Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) y al ser parte de la microbiota normal de las aves de corral y pollos de engorde, estos serían su principal reservorio y foco de transmisión al humano.

Entre los factores de virulencia presentes en *Campylobacter* spp se encuentran sus flagelos, lipopolisacáridos y la Toxina de Distensión Citoletal (CDT). La toxina fue identificada por primera vez en el año 1988 en aislados clínicos de bacterias Gram negativas como *Campylobacter* spp y *E. coli*, etc., (11). El operón codificante de esta toxina está compuesto por tres genes *cdtA*, *cdtB* y *cdtC* que conforman el complejo *cdtABC*. El producto de este operón, ha sido descrito como una toxina termolábil que provoca una mayor inflamación de la mucosa intestinal debido a que afecta al ciclo celular eucariótico deteniendo el paso de la fase G2 a M y alterar el ADN (12; 13). De igual manera, se ha reportado que esta toxina tiene una acción tri-perdicia al iniciar respuestas proinflamatorias, eliminar la inmunidad adquirida del hospedador y romper las barreras epiteliales (11).

De acuerdo con Ge, Schauer y Fox (2008), estudios en ratones han demostrado que la CDT en *C. jejuni* es fundamental para incrementar la inflamación de las mucosas, como una respuesta inmune contra invasores (14); causar una infección constante en el tracto gastrointestinal que comprende el estómago, el intestino delgado y grueso; órganos indispensables en la digestión de alimentos, que se verían afectados por el efecto de la CDT (15).

Taludker et al. (2008) demostraron que la toxina se encontraba en un 97,5% de los aislamientos correspondientes a *C. jejuni* y *C. coli*, obtenidos de pacientes diarreicos en Bangladesh. Asimismo, Kovacs y asociados (2020) estudiaron 192 aislados clínicos de pacientes

hospitalizados y obtuvieron una prevalencia del 100% de *cdtB*, gen fundamental para que la CDT actúe en las células eucariotas. Con base en estos antecedentes, la prevalencia de la CDT en *Campylobacter* spp. es considerada alta.

A pesar de esto, la información descrita en literatura, relacionada a los efectos de la toxina de *Campylobacter* spp. en diferentes tipos de células hospedadoras, es considerablemente limitada. Como consecuencia, en esta investigación se realizará una revisión bibliográfica que analice y sintetice los diversos impactos de esta toxina en el epitelio gastrointestinal. Además, contribuirá significativamente a la comunidad científica al poner a su disposición una herramienta que aporte definiciones, aclaraciones y datos significativos para investigaciones posteriores.

Metodología

Se revisaron diversas bases de datos en línea generados a partir de artículos publicados en revistas indexadas entre los años 2000 - 2021. Para la búsqueda, se utilizaron palabras clave como: *Campylobacter*, Toxina de Distensión Citoletal, epitelio gastrointestinal, células intestinales. Se aceptaron todos los artículos completos de libre acceso que se encontraban relacionados al tema.

Para el procesamiento de los datos obtenidos de los diversos artículos, se clasificaron las investigaciones en las cuales se aislaron bacterias del género *Campylobacter*. La información relacionada se categorizó en tres grandes grupos de acuerdo al origen de los aislamientos: clínicos, animales y conseguidos de alimentos. No se tomó como limitación el eje geográfico de los aislamientos ni la cantidad de aislamientos obtenidos. Aunque el análisis de lo mencionado es importante para obtener estudios epidemiológicos, en el presente estudio únicamente se

consideró la detección de la toxina CDT mediante diversas metodologías inequívocas como la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y la secuenciación de sus productos.

Para la presentación de los datos recolectados se estructuraron tablas que indican el porcentaje de genes del complejo *cdtABC* que fueron detectados en los distintos estudios recopilados. Esto se realizó mediante una relación de proporcionalidad obtenida con el total de aislamientos clínicos, animales y de alimentos.

Composición de la Toxina de Distensión Citoletal

Esta toxina pertenece a la familia de toxinas AB, por lo que, consta de una subunidad activa que es expresada por el gen *cdtB* y dos subunidades de unión a las células expresadas por los genes *cdtA* y *cdtC* (18). El producto del gen *cdtB* presenta homología con la ADNasa I (11). Por lo tanto, hidroliza los enlaces fosfodiéster del ADN y posteriormente se activa, como respuesta, la detención del ciclo celular en la fase G2-M o G1-S. Sin embargo, la reparación de este daño y lo que sucede con el ciclo celular, es decir, las cascadas reguladoras que se activan, varían mucho de acuerdo al linaje celular que ha sido atacado por la CDT (18). En el caso de los linfocitos estos realizan el proceso de muerte celular programada, lo que difiere de células epiteliales donde se da una detención del ciclo celular (19; 18). Además, la CDT actúa como una toxina inmunomoduladora, pues tanto *in vivo* como *in vitro*, se observa la presencia de citocinas provocadas por la CDT. Este conjunto de alteraciones, pueden permitir el crecimiento bacteriano y por ende favorecer el desarrollo de la enfermedad causada por bacterias como *Campylobacter* spp. (18).

Células blanco en la campylobacteriosis

Se debe aclarar que aproximadamente el 97% de especies de *Campylobacter* poseen la CDT (20; 21; 22; 23). Por tal motivo, se puede inferir que la infección de las células afectadas por *Campylobacter* spp. se asocia directamente a los mecanismos de acción de CDT. Así, *Campylobacter* spp. coloniza e infecta el tracto gastrointestinal de varios de sus reservorios como: aves de corral, ovinos, bovinos, porcinos y humanos (6). Por lo tanto, es importante describir las células blanco de *Campylobacter* spp.

El tracto gastrointestinal está compuesto por la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso, recto y el ano. *Campylobacter* spp. tiene mayor afinidad por el intestino grueso debido a que este posee un pH de 7 - 8 y una temperatura de 25 - 37°C, factores que permiten su motilidad y crecimiento (24; 25; 26; 27).

El intestino grueso está compuesto por las criptas de Lieberkühn que son estructuras tubulares rectas, se encuentran muy unidas entre sí y son la base donde se encuentran todas las células que lo componen (Fig 1 y 2). Por consiguiente, se puede decir que *Campylobacter* spp. y la CDT atacarían con gran efectividad a todas las células que se encuentran en las criptas de Lieberkühn (28; 29). De esta manera, se encuentran células como las caliciformes que son las encargadas de secretar mucina y lubricar el intestino (Fig 3). La mucina, no impide la motilidad de *Campylobacter* spp. De hecho, esta viscosidad permite una mayor velocidad, unión e invasión bacteriana (24). Adicionalmente, las células enteroendocrinas que se encargan de producir hormonas como la gastrina que ayuda en la digestión (Fig 4). Los enterocitos poseen la principal

función de la absorción de nutrientes y finalmente, las células de Paneth ayudan a la regulación de la microbiota intestinal (Fig 5 y 6) (28; 29).

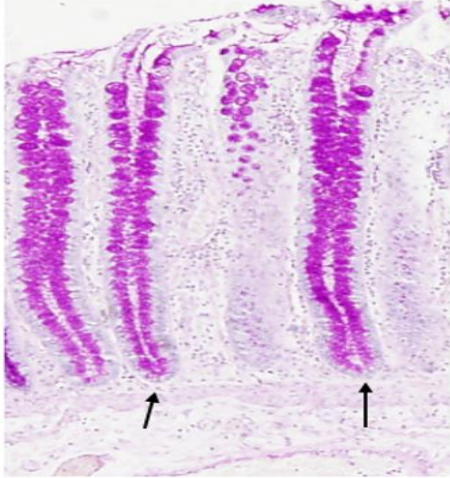


Fig 1. Tinción con PAS-hematoxilina donde se identifica la estructura de las criptas de Lieberkühn. Las flechas indican el fondo de las criptas y así, se puede identificar de mejor manera su característica forma en U (30).

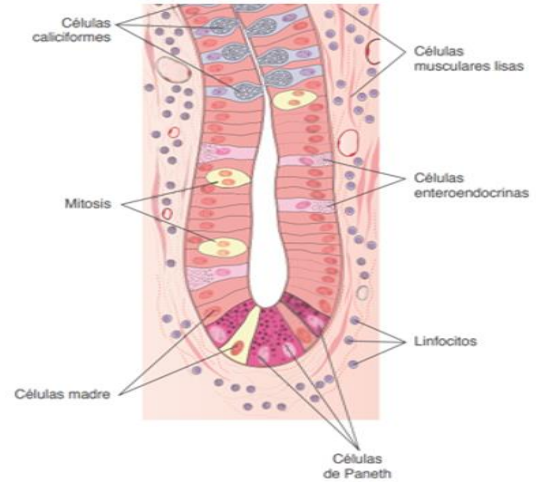


Fig 2. Ilustración gráfica del intestino delgado y sus tipos de células: caliciformes, enteroendocrinas, células de Paneth, células M, se puede apreciar la misma morfología de las criptas que en el intestino grueso, se debe destacar que la única diferencia que poseen entre sí, es la ausencia de las células M (31).

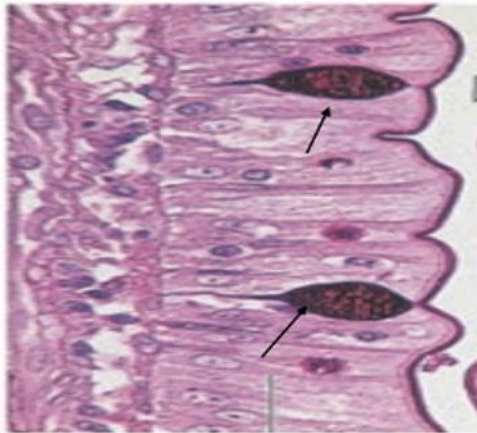


Fig 3. Células Caliciformes. Las flechas indican la presencia de células caliciformes bien diferenciadas gracias a la tinción con ácido periódico-reactivo de Schiff y hematoxilina. Se observa la presencia de moco dentro de las células que le dan la apariencia de gránulos y gracias a la tinción, poseen un color fucsia (31).

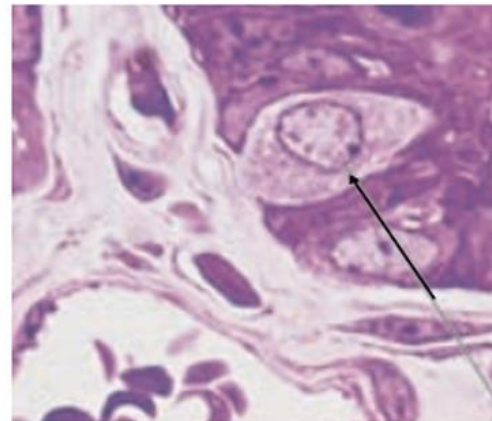


Fig 4. Células Enteroendocrinas. Morfología de las células enteroendocrinas donde se observan sus bordes regulares y forma basal. Tinción con azul de toluidina y fucsina básica (31).

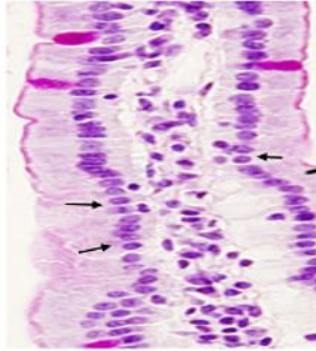


Fig 5. La flecha indica los enterocitos dentro del epitelio intestinal, como se aprecia, es una de las células con mayor cantidad (30).

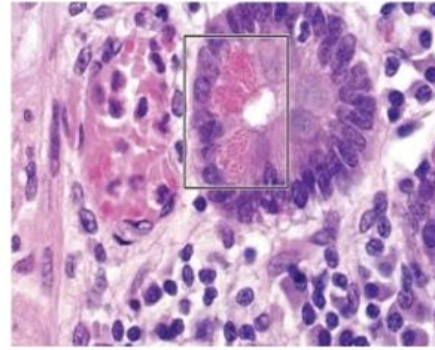


Fig 6. Células de Paneth. La imagen se encuentra teñida con H&E, en la parte izquierda se pueden observar las fibras musculares que conforman la mucosa. La parte que posee un recuadro indica las células de Paneth que poseen gránulos en abundancia y son teñidos fuertemente con la eosina (29).

Colonización de *Campylobacter* spp. en el epitelio gastrointestinal

Los mecanismos de invasión del epitelio intestinal por *Campylobacter* spp. aún no han sido completamente dilucidados, pero se conoce que su genoma carece de genes homólogos codificantes de factores de virulencia específicos que se encuentran en otras bacterias (32). Por lo tanto, los genes de *Campylobacter* spp, que participan de manera específica en la adhesión e invasión celular no han sido claramente identificados y por ende, no se los puede comparar con el de otras bacterias Gram negativas.

Se sabe que existen dos maneras en las que una bacteria puede ingresar al epitelio intestinal. La primera es denominada mecanismo de "cremallera" y necesita una unión de alta afinidad entre adhesinas bacterianas y las células, luego, la bacteria es internalizada en una vacuola (33). El segundo mecanismo es llamado "disparador" y en este caso las bacterias utilizan un sistema de secreción tipo III o tipo IV con el que inyectan proteínas efectoras al citoplasma celular y llegan a manipular la señalización de la célula hospedadora. Esto causa una ondulación en la membrana celular y se da paso a una internalización bacteriana mediante una vacuola. Si bien ambos

mecanismos llegan a utilizar una vacuolización de la bacteria, ambos difieren al momento inicial de atacar la célula (33; 26).

Pielsticker, Glünder y Rautenschlein, (2012) recopilaron varios estudios donde se investigaba el mecanismo de colonización de *Campylobacter* spp. En estos, se utilizaron tanto cultivos celulares como biopsias intestinales y se monitoreó la adherencia e invasión bacteriana con microscopía electrónica o inmunofluorescencia. Algunas investigaciones concluyeron que se aprecia una inducción a la ondulación de la membrana celular seguida de la entrada bacteriana con su punta flagelar, características que se comparten de ambos mecanismos anteriormente mencionados (5; 34). De igual manera, indicaron que el mecanismo de invasión de *Campylobacter* spp. es novedoso y único (5; 35).

Burnham y Hendrixson (2018) recalcan el hecho de que esta bacteria posee diferentes factores y vías de colonización e infección a diferencia de otros patógenos entéricos y que estos pueden influir en los resultados de la interacción. En ese contexto, O Cróinín y Backert (2012) ejemplifican esto al señalar que la flagelina; proteína del filamento; y el sistema de glicosilación ligado a N; que modifica varias proteínas extracitoplasmáticas; alteran la adherencia, invasión y colonización bacteriana. Pues, la presencia de mutaciones en estos sistemas y proteínas demostraron una modificación de la colonización e invasión por *Campylobacter* spp., lo que a su vez atribuiría el aumento de las interacciones bacterias-células y podría ser la diferencia entre un resultado de comensalismo en aves de corral y un resultado de enfermedad en los humanos. Asimismo, indican la presencia de un sistema de secreción tipo III (T3SS) ampliado a su uso flagelar (35). Este sistema está compuesto por nanomáquinas cuya función consiste en el paso de proteínas, que en el caso del flagelo; se trata de exportar componentes flagelares. Sin embargo, no se encuentra únicamente ligado a la motilidad de la bacteria, sino que influyen en la interacción

bacteria-célula y esto es inducido por la producción de bilis que posee componentes como la bilirrubina, ácidos biliares, colesterol, agua, metales y sales corporales. Dando como resultado, una invasión más eficaz para *Campylobacter* spp. y una mejor unión celular (35).

Particularmente, existen otros factores de virulencia que apoyan a la colonización e invasión bacteriana, que de igual manera están ligados a la presencia de ciertos componentes como el colesterol (35; 34). Un ejemplo de esto es la CDT, pues estudios de recopilación de datos como el de Taieb, et al. (2016) demuestran que la disminución de colesterol reduce la toxicidad de la CDT.

Por otro lado, diversos estudios al respecto de la toxina discuten su papel como un factor que apoya la invasión celular bacteriana. Por ejemplo, Ge, Schauer y Fox (2008) y Burnham y Hendrixon (2018) mencionan que el papel de la CDT no se reconoce bien y al no estar presente en todos los aislados clínicos no se correlaciona con la campylobacteriosis. Además, destacan el limitado número de estudios *in vivo* que permitirían analizar de mejor manera el rol de esta toxina en la patogénesis de la enfermedad producida por *Campylobacter* spp.

En contraste, en el año 2000 se realizaron investigaciones en ratones inmunodeficientes donde se comparó la actividad de cepas de *C. jejuni* CDT (+) y CDT (-), ahí se obtuvieron resultados que indican claramente su relación y apoyo al desarrollar una infección sistémica, pues las cepas positivas para la toxina lograron invadir el tejido y la sangre de los ratones en gran cantidad (37). En el estudio de Fox, et al. (2004) se explica la dificultad de utilizar animales de experimentación para las investigaciones con *Campylobacter* spp, pues en algunos casos los ratones no se ven afectados por la bacteria. A pesar de esto, en su investigación utilizaron ratones con deficiencia en la subunidad NF-kappaB, que está implicada en la respuesta celular, lo que los hace susceptibles a los microorganismos que causan una inflamación intestinal con úlceras, como es

el caso de la colitis (38). Estos hallazgos sugieren la capacidad proinflamatoria de la CDT y un papel en el que apoya a la bacteria a evadir la vigilancia inmunitaria. En la investigación de Yamasaki, et al. (2006), se indica que la CDT puede ser inmunomoduladora al producir IL-8, esto sugiere un aporte en el desarrollo de la inflamación. Sin embargo, este estudio se ha realizado *in vitro* por lo que hacía falta su desarrollo con modelos animales para relacionar directamente este proceso. En ese contexto, en el año 2008 estudios realizados en ratones de dos días de edad a los que se les administró de manera orogástrica sobrenadantes de *C. jejuni* CDT (+) evidenciaron inflamación en el tracto gastrointestinal: estómago, intestino delgado e intestino grueso (27).

Además, en la actualidad, para tratar de solucionar el problema de utilizar animales de experimentación, pues algunos no responden a la enfermedad por *Campylobacter* spp., u otros que poseen a esta bacteria como microbiota normal, se ha realizado un estudio donde se crea un modelo intestinal tridimensional con la utilización de células Caco-2, que asemejan a los enterocitos del epitelio gastrointestinal, y donde se obtuvieron resultados en los que la infección con *C. jejuni* muestra una pérdida de la integridad epitelial. De igual manera, se aprecia que factores tales como: el flagelo (gen $\Delta flaA$) y la cápsula ($\Delta kpsMT$) son de gran importancia para la colonización bacteriana, pues utilizaron cepas de *C. jejuni* mutantes, que tenían deleciones de estos genes, y obtuvieron un porcentaje significativamente menor de unión celular (32).

Abe, Koyama y Koseki (2020) realizan un estudio donde se obtiene un modelado de la invasión de *Campylobacter jejuni* por inferencia bayesiana. En su investigación muestran que la colonización de *Campylobacter* spp. se da por complejos mecanismos putativos. Las bacterias ingresan a las células por un mecanismo de invasión dependiente de microtúbulos. De esta manera, *Campylobacter* spp. ingresa con su punta y sucesivamente su flagelo. Posteriormente, la

bacteria puede migrar a los tejidos corporales por una transferencia de moléculas y al producir la CDT, causar inflamación. Estos nuevos estudios con el uso de modelos tridimensionales o mediante inferencia bayesiana, podrían seguir desarrollándose más a fondo como una alternativa de gran utilidad para el estudio de la CDT y su papel en la colonización del género *Campylobacter*. Con los hallazgos mencionados, se puede reconocer que existe un papel para la CDT de *Campylobacter* spp. Sin embargo, mediante experimentación se debe proporcionar datos certeros que clarifiquen los escenarios en los que esta toxina actúa, pues a pesar de la variabilidad de la toxina, su importancia al favorecer diferentes maneras de patogenicidad bacteriana, es innegable.

La CDT en el colon

La CDT posee la capacidad de detener el ciclo celular en la fase G1 a S o G2 a M (18). Es en la fase G1 donde se da un crecimiento celular y así la célula prepara componentes moleculares para próximas etapas. De esta manera, la CDT evita que la célula hospedadora alcance la fase S donde se sintetiza el ADN. Por otro lado, en la fase G2 la célula crece más y se prepara para la mitosis y es aquí, donde la toxina evita que la célula fragmente su ADN duplicado y ocurra su propia división, lo que es más conocido como la fase M. Este mecanismo de acción se presenta en todas las células epiteliales, por lo que, sus efectos únicamente difieren según el tipo de epitelio al que afecten.

En 1985, aún no se tenía clara la presencia de la CDT en *Campylobacter* spp. Sin embargo, estudios como los de Van Spreeuwel e investigadores, observaron los cambios histológicos, inmunohistoquímicos y ultraestructurales del epitelio del colon infectado por la bacteria. De esta

manera, indicaron la presencia de ulceraciones superficiales, la existencia de abscesos en las criptas de Lieberkühn debido al paso de células blancas como los granulocitos, que desarrollan una separación entre las mismas y su pérdida. Se resalta el agotamiento de la mucina del epitelio y con el transcurso del tiempo son notorios los signos de inflamación y regeneración epitelial. De esta manera, concluyeron que *Campylobacter* spp. podía poseer una enterotoxina similar a la CTX presente en *V. cholerae* que alternativamente podría causar daño celular, dando respuesta al porqué se presentaron algunos de los cambios celulares.

El-Shaly et al. (2013) menciona que *C. jejuni* produce el síndrome de intestino irritable postinfeccioso (PI-IBS) en porcentajes entre 9-13%. Este síndrome posee la aparición repentina de síntomas del intestino irritable como sangrado rectal, vómitos, dolor recurrente en el abdomen e hinchazón abdominal. Por lo tanto, establecieron una relación en la que los pacientes con síndrome del intestino irritable poseen una predisposición a gastroenteritis bacteriana. En su estudio presentan el caso de una mujer de 50 años diagnosticada con síndrome de intestino irritable que posteriormente presentó diarrea sanguinolenta de la que se aisló *C. jejuni*. Mediante una colonoscopia se observó la inflamación severa del colon, la presencia de edema, úlceras y manchas hemorrágicas. En su biopsia se pudo evidenciar una inflamación de las criptas de Lieberkühn y la presencia de abscesos. Los investigadores exponen la presencia de la CDT en *Campylobacter* spp. y la relacionan con una ileocolitis inflamatoria, también denominada la enfermedad de Crohn en la que se puede apreciar ulceraciones, fibrosis, granulomas, células multinucleadas y una inflamación extendida típica (Fig 7).

De igual manera, este grupo de investigadores (42) indican que la CDT en *Campylobacter* spp. produce inicialmente diarrea y ataca al intestino delgado, luego se da una colonización del íleon y del colon, que puede finalizar extendiéndose al recto. Además, concluyeron que, *C. jejuni*

provoca inflamación y aumento en la densidad de células endocrinas del epitelio intestinal durante la infección, efecto que se mantiene aproximadamente por dos meses, tiempo en el que estas células empiezan a disminuir en densidad.

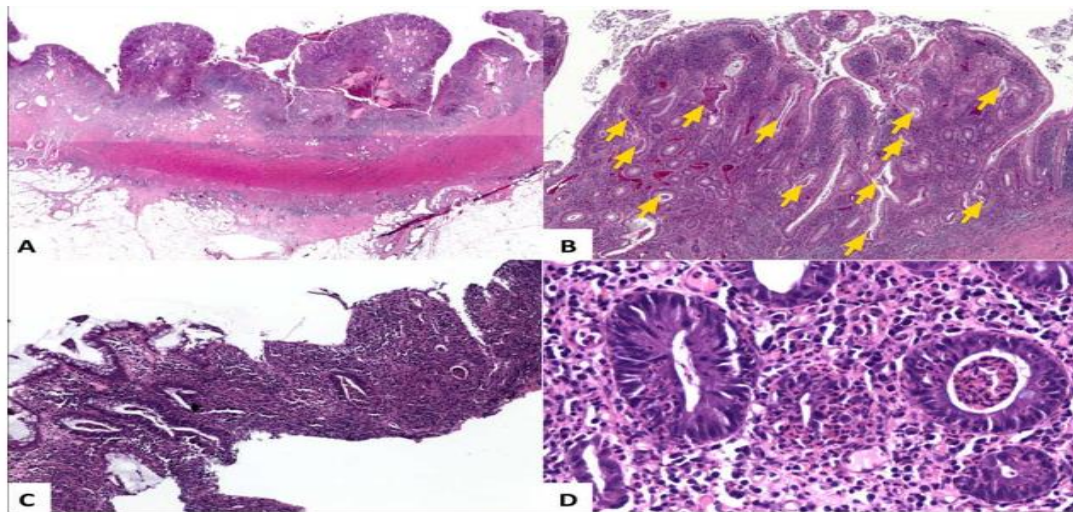


Fig 7. Representación de los efectos en las criptas intestinales dadas por la actividad inflamatoria. A: deformidades visibles en las criptas, perdiendo morfología típica en forma de U. B: las flechas indican la formación de abscesos en las criptas. C: Pérdida visible de la forma de las criptas. D: presencia de ulceraciones en las criptas (43).

Expresión de la CDT en especies de *Campylobacter*

Con todos los estudios sobre la CDT y su papel en la patogenia de *Campylobacter* spp., resulta importante conocer con qué prevalencia ha sido encontrada y la especie que expresa con mayor frecuencia esta toxina. Si bien, no todas las cepas de *Campylobacter* poseen la CDT, la determinación de la frecuencia con la que se ha identificado y en qué reservorio u hospedador se ha podido aislar también es importante. Por tal motivo, se analizaron investigaciones de *Campylobacter* spp. aislado tanto de animales, humanos y alimentos. Así, se recordará el potencial zoonótico que posee la bacteria y su consideración en ser reconocida como una Enfermedad de Transmisión Alimentaria (ETA).

Se debe tener presente que los genes codificantes de la CDT forman parte de un solo complejo *cdtABC*, aunque existen estudios que describen a los genes de forma individual. Por tal motivo, en el presente estudio los datos como complejo *cdtABC* serán iguales para los tres diferentes genes.

Las investigaciones en las que se obtiene una mayor cantidad de la CDT de *Campylobacter* spp. fueron aplicadas en animales como aves domésticas y silvestres, ovinos, perros, cerdos, vacas y monos. Luego, se encuentran los aislados provenientes de pacientes con diarrea. Y al final, investigaciones de *Campylobacter* spp. en alimentos. De manera general, se encuentra una mayor cantidad de aislados que presentan la CDT de *C. jejuni*, seguido de *C. coli*, en menor cantidad *C. hyointestinalis*, *C. lari* y finalmente *C. upsaliensis*.

En el caso de los estudios realizados en pacientes con diarrea, se recolectaron las muestras de heces fecales, tanto de niños, adultos y adultos mayores (44; 45; 17). Se realizó una extrapolación de datos de varios estudios, que identificaron mediante varias técnicas, como biología molecular, a los genes de la CDT. Se encontró la expresión del gen *cdtA* con un 87,88%, para el gen *cdtB* de 89,03% y para el gen *cdtC* 88,38% (Tabla 1). Lo que dio un promedio total de 88,43% de la expresión de la CDT. Si bien, existen estudios que indican al gen *cdtB* como el único causante de los efectos de la toxina en las células, investigaciones como los de Martínez., et al. (2005) y Ripabelli, et al. (2010) identifican la acción de la toxina cuando los tres genes forman el complejo *cdtABC*. Por esta razón, se realiza un aproximado de los datos obtenidos.

En aislados clínicos se obtuvo mayor presencia de la toxina para la especie de *C. jejuni* pues la produjo alrededor de un 89,64% en comparación con *C. coli* que dio un 77%. Además, *C. jejuni* consigue una alta expresión de los tres genes de la toxina en general y *C. coli* presenta más el gen *cdtB* (48; 46; 49; 16; 47; 50; 21; 51; 52; 45; 53; 54; 55; 56; 17). Es importante recalcar que en

algunos estudios únicamente se reportó la presencia de *Campylobacter* sin haber podido alcanzar una identificación a nivel de especie.

Por otro lado, el estudio de Samosornsuk, et al. (2015) logra identificar a *C. hyointestinalis* en baja cantidad. Este microorganismo es considerado un patógeno emergente dentro del género de *Campylobacter*. Inicialmente ha sido aislado de cerdos enfermos, pero se ha visto asociado tanto a enfermedades gastrointestinales como no gastrointestinales humanas (57).

Tabla 1. Cantidad de aislamientos clínicos de *Campylobacter* spp. con la expresión de los genes de la toxina de distensión citoletal.

Especies	No. de aislamientos en pacientes con diarrea	<i>cdtA</i>	<i>cdtB</i>	<i>cdtC</i>	CDT
<i>C. jejuni</i>	1123	1007 (89,67%)	1004 (89,40%)	1009 (89,85%)	89,64%
<i>C. coli</i>	136	98 (72,05%)	115 (84,55%)	101 (74,30%)	77%
<i>C. hyointestinalis</i>	1	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	100%
<i>Campylobacter</i> spp.	135	120 (88,88%)	122 (90,37%)	122 (90,37%)	90%
Total	1395	1226 (87,88%)	1242 (89,03%)	1233 (88,38%)	88,43%

Datos recopilados de: 48; 46; 49; 16; 47; 50; 21; 51; 52; 45; 53; 54; 55; 56; 17.

En cuanto a los aislamientos obtenidos de animales, se realizó una clasificación más específica tomando en cuenta a las aves de granja y aves silvestres, así como, animales de granja y domésticos. Esto se realizó para poder evidenciar la prevalencia de la CDT de *Campylobacter* spp. en aves, pues se encuentra como parte su microbiota normal. La fuente con mayor cantidad de CDT en esta especie se detectó en aves de corral (pollos), así como gallinas ponedoras y por el contrario, se encontró un 59% de los genes de la toxina en aves silvestres. De esta manera, se obtiene gran cantidad de aislados identificados como *C. jejuni* que presentan la toxina en un 88%.

En esta especie el gen *cdtA* consiguió un 91%, el gen *cdtB* un 88% y el gen *cdtC* 86%. Para *C. coli* se llegó a obtener un 93% de los genes de la toxina. Sin embargo, estos aislados son aproximadamente la mitad de aislados de *C. jejuni*. También, para *C. coli* se encontró un 90% del gen *cdtA*, del gen *cdtB* un 98% y del gen *cdtC* 92%. Existió un bajo porcentaje de especies no identificadas que expresan la toxina en un 99,5% y finalmente se obtiene un solo aislado de *C. lari* en aves silvestres con el que se da un 33,3% de la CDT (Tabla 2) (20; 58; 48; 46; 59; 60; 61; 62; 22; 63; 64; 23).

Por otro lado, en los animales de granja como porcinos, bovinos, ovinos y domésticos como canes, la toxina se encuentra en mayor cantidad en aislados de cerdos. Nuevamente, la especie con mayor cantidad de la toxina se encuentra en *C. jejuni* que tiene un 72,55% del gen *cdtA*, para el gen *cdtB* y el gen *cdtC* presenta el 73%. *C. coli* es la segunda especie con mayor presencia de CDT con un 70%; el gen *cdtA* obtiene un 68%, para *cdtB* un 70% y en *cdtC* un 72% (Tabla 3). Además, se aísla *C. hyointestinalis*, donde todos los aislamientos obtenidos presentan la toxina en un 100%. En cambio, *C. lari* presenta dos aislados obtenidos de ovinos y tan solo un aislado es el que presenta la toxina. También, se encuentra *C. upsaliensis* a partir de canes. Bourke, et al. (1998) describe su aislamiento en muestras de heces caninas y al ser una bacteria zoonótica, se menciona su potencial patogénico en humanos al causar diarreas crónicas o complicaciones como el aborto espontáneo o el síndrome urémico hemolítico. Adicionalmente, recalca que a pesar de su potencial patógeno, su identificación, aislamiento y reconocimiento es muy poco. Esto puede deberse a que *C. upsaliensis* es sensible a los antibióticos utilizados en medios selectivos para *Campylobacter* spp. lo que evitaría su aislamiento.

Tabla 2. Cantidad de aislamientos obtenidos de aves de granja y silvestres con la expresión de los genes de la CDT.

Fuente: aves de granja	Especies	No. de aislamientos	<i>cdtA</i>	<i>cdtB</i>	<i>cdtC</i>
Aves de corral (pollos)	<i>C. jejuni</i>	65	65 (100%)	65 (100%)	65 (100%)
	<i>C. coli</i>	170	169 (99%)	169 (99%)	169 (99%)
Total		235	234 (99,6%)	234 (99,6%)	234 (99,6)
Pollos de engorde	<i>C. jejuni</i>	98	93 (95%)	90 (92%)	94 (96%)
	<i>C. coli</i>	51	43 (84,3%)	47 (92,2%)	47 (92,2%)
	<i>Campylobacter</i> spp.	9	9 (100%)	9 (100%)	9 (100%)
Total		158	145 (92%)	146 (92,4%)	150 (95%)
Gallinas ponedoras	<i>C. jejuni</i>	913	913 (100%)	913 (100%)	913 (100%)
	<i>C. coli</i>	345	342 (99,1%)	345 (100%)	341 (98,84%)
Total		1258	1255 (99,8%)	1258 (100%)	1254 (99,7%)
Aves silvestres*	<i>C. jejuni</i>	117	68 (58,11%)	70 (59,82%)	68 (58,11%)
	<i>C. coli</i>	13	10 (77%)	13 (100%)	10 (77%)
	<i>C. lari</i>	3	1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)
	<i>Campylobacter</i> spp.	23	23 (100%)	23 (100%)	23 (100%)
Total		156	102 (65,4%)	107 (68,6%)	102 (65, 4%)

*Cuervos, palomas y patos. Datos obtenidos de: 20; 58; 62; 23.

Tabla 3. Cantidad de aislamientos obtenidos en animales de granja y domésticos con la expresión de los genes de la CDT.

Fuente: animales de granja y domésticos	Especies	No. de aislamientos	<i>cdtA</i>	<i>cdtB</i>	<i>cdtC</i>
--	-----------------	----------------------------	--------------------	--------------------	--------------------

Cerdos	<i>C. jejuni</i>	18	18 (100%)	18 (100%)	17 (100%)
	<i>C. coli</i>	23	22 (95,7%)	22 (95,7%)	23 (100%)
	<i>C. hyointestinalis</i>	12	12 (100%)	12 (100%)	12 (100%)
Total		53	52 (99%)	52 (99%)	52 (99%)
Ovinos	<i>C. jejuni</i>	263	187 (71,1%)	189 (71,9%)	173 (65,8%)
	<i>C. coli</i>	148	61 (41,2%)	65 (44%)	63 (43%)
	<i>C. lari</i>	2	1 (50%)	1 (50%)	1 (50%)
Total		413	249 (60%)	255 (62%)	237 (57,4%)
Bovinos	<i>C. jejuni</i>	23	17 (74%)	17 (74%)	17 (74%)
Total		23	17 (74%)	17 (74%)	17 (74%)
Caninos	<i>C. jejuni</i>	82	37 (45,1%)	38 (46,3%)	43 (52,4%)
	<i>C. upsaliensis</i>	3	3 (100%)	3 (100%)	3 (100%)
Total		84	40 (48%)	41 (49%)	46 (55%)

Datos recopilados de: 48; 46; 59; 60; 61; 22; 63; 64.

Finalmente, los estudios realizados en alimentos como la carne de pollo, ensaladas y lechuga no son demasiados, a pesar de eso, resultan significativos pues indican la presencia de *Campylobacter* spp. y su papel como Enfermedad de Transmisión Alimentaria. De esta manera, se obtiene a *C. jejuni* como la especie con mayor número de aislamientos y también con mayor expresión de la toxina en un 75% para sus tres genes. Se aísla también, a *C. coli*, pero en muy bajo número y con un 8,3% de la presencia de la CDT (Tabla 4).

Tabla 4. Cantidad de aislamientos provenientes de comida con la expresión de los genes de la CDT.

Especies	No. de aislamientos en alimentos**	<i>cdtA</i>	<i>cdtB</i>	<i>cdtC</i>
<i>C. jejuni</i>	104	78 (75%)	78 (75%)	78 (75%)
<i>C. coli</i>	12	1 (8,3%)	1 (8,3%)	1 (8,3%)
Total	116	79 (68,1%)	79 (68,1%)	79 (68,1%)

** Carne de pollo, ensaladas y lechuga. Datos recopilados de: 66; 45; 7; 67.

En todos los estudios provenientes de varias fuentes como: Acik, et al. 2013; de Carvalho, 2014; Khalid, et al. 2015, Somroop, et al., 2017, se concluyó que la especie con mayor expresión de la toxina es *C. jejuni*. Aunque se analizaron varios estudios para llegar a esta conclusión, se debe tener en mente que pueden existir sesgos de información, pues no todas las investigaciones tenían como objetivo aislar y analizar cualquier especie de *Campylobacter*. Algunas de estas investigaciones únicamente trataban de identificar a *C. jejuni* o *C. coli* y en otros estudios la identificación de los aislamientos no alcanzó el nivel de especie. A pesar de esto, se logra determinar la presencia de *C. lari*, *C. upsaliensis* y *C. hyointestinalis*, especies que han sido clasificadas como emergentes y reemergentes y de igual forma consideradas como agentes causales de patologías en humanos.

También, es importante seguir realizando estudios con la CDT para poder dilucidar de manera eficaz si un solo gen es el que predomina y provoca que la toxina cause sus efectos citotóxicos, o, por otro lado, si la formación del complejo *cdtABC* es esencial en la producción de los mismos.

Acción de la Toxina de Distensión Citoletal (CDT) de *Campylobacter* spp. sobre las células gastrointestinales

Al hablar de las células gastrointestinales, se debe recordar que todos los mamíferos presentan las criptas de Lieberkühn y por ende todas las células que las componen. De esta manera, es importante el cuestionarse como una bacteria y su toxina con afinidad por células del colon, llega a ser patógena para humanos y no para ciertas especies animales como es el caso de *Campylobacter* spp y las aves de corral o pollos de engorde.

Campylobacter spp. se encuentra como microbiota normal de diferentes animales, especialmente aves como pollos, pavos, aves de corral y patos. En estos se ha logrado encontrar hasta 10^9 ufc/g en el ciego, hígado, bazo, sin causar patologías o dar paso a enfermedades. Además, esto demuestra el poder de diseminación de la bacteria. Sin embargo, lo contrario ocurre en el ser humano, pues se necesita apenas 10^4 ufc para que *Campylobacter* spp. cause campylobacteriosis (1).

A pesar de esta declarada diferencia entre el comensalismo de la bacteria y la patogenicidad de la misma según su hospedador, en los últimos años, algunas investigaciones tratan de aclarar esta relación del género *Campylobacter* con las aves de corral, debido a que se ha observado la presencia de daño a las vellosidades intestinales causadas por esta bacteria y su colonización en aves mayores a dos semanas de nacidas (68). Esta colonización bacteriana que no sucede desde el primer día de nacido de los polluelos, puede darse gracias a los anticuerpos que pasan desde la gallina ponedora hacia los mismos. Así en las aves, se observan anticuerpos dirigidos hacia los factores estructurales de virulencia como: proteínas del flagelo, la membrana externa y lipooligosacáridos bacterianos (69). Con esto en mente, el daño a las vellosidades puede ser causado por la CDT debido a que provoca la pérdida de las criptas intestinales, afecta a las células que las componen y no se ha registrado la creación de anticuerpos para la misma. De esta manera, Hameed (2019) menciona que *Campylobacter* spp. no es una bacteria inocua para los pollos de cualquier tipo de raza, pero, esto puede variar según su dieta y su microbiota acompañante.

Este problema de la corta inmunidad dada hacia *Campylobacter* spp., también es algo que sucede en infecciones humanas. Así, estudios como los de Scuron, et al. (2016) indican que la CDT puede eliminar la inmunidad del hospedador humano, porque es una toxina inmuno-moduladora.

Con esto se debe tomar en consideración, que la bacteria no actúa como cualquier otra patógena causante de enfermedades diarreicas debido a que puede alterar el sistema inmunológico y lo evade con mayor facilidad; también, es una de las bacterias que afecta directamente al ciclo celular y provoca su detención, de esta manera, causa que las células del colon atacadas mueran y deban volver a regenerarse en períodos de tiempo de hasta cuatro semanas. Tiempo en el que la bacteria puede alcanzar una mayor colonización y así, poder presentar cuadros más graves de la enfermedad.

Dhillon et al. (2006) y Gharib-Naseri et al. (2012) en sus investigaciones toman en cuenta a la microbiota y el sistema inmunológico como ejes fundamentales para la salud de los animales y su crecimiento. Así, diversos experimentos en los que se infecta aves de diferentes edades con *Campylobacter* spp., muestran que esta bacteria causa una respuesta inflamatoria del intestino, por lo tanto, no es un comensal sino un posible patógeno (70; 71). También, se observa que las aves colonizadas con *Campylobacter* spp. tienen un desarrollo más lento y, las comunidades microbianas que poseían en su tracto gastrointestinal se ven alteradas y son menos complejas. Esto en algunos casos da paso a una disfunción intestinal (72; 73; 68).

Conclusiones y Recomendaciones

Esta revisión bibliográfica nos permite concluir que las células del colon son las más atacadas por *Campylobacter* spp. Entre estas se puede resaltar a los enterocitos, células enteroendócrinas y células de Paneth. Además, investigaciones experimentales realizadas en cultivos celulares y estudios histopatológicos, demuestran la aparición de un daño celular visible asociado directamente con la CDT. Así, se observa una separación de las criptas de Lieberkühn, la presencia de abscesos y aparición de úlceras, que favorecen a la colonización y patogenicidad de

Campylobacter spp. Por otro lado, la especie en la que existió mayor prevalencia de la CDT fue *C. jejuni*, siendo así, una de las especies con gran importancia clínica como veterinaria. Asimismo, el gen con mayor porcentaje obtenido fue el *cdtB*, que resulta fundamental para la acción de la toxina en el hospedero. Finalmente, se puede apreciar como la CDT apoya en la patogenia sobre el hospedero con la detención del ciclo celular y al ser una toxina inmunomoduladora, provoca la aparición de citoquinas que inhiben las funciones de otras células inmunitarias, como las células dendríticas.

De igual manera, la discusión del género *Campylobacter* como patógeno o microbiota normal de las aves, es algo aún no concluyente, pues en los diversos estudios donde esto se evalúa, no se utilizan las mismas cepas de *Campylobacter*, ni las mismas dosis infecciosas y en muchos casos las condiciones no son las mismas. De esta manera, se sugiere seguir estudiando a este microorganismo pues, a pesar de tener un genoma pequeño (1,6 Mbp) y fisiología-única, existen incógnitas cuyo entendimiento requiere ser profundizado. Esto incluye el mecanismo de invasión al epitelio gastrointestinal (tanto humano como animal), las implicaciones de la ausencia o presencia de la CDT en el desarrollo de la bacteria, la capacidad de supervivencia en un amplio rango de ambientes y hospedadores, a pesar de ser una bacteria fastidiosa o de difícil aislamiento.

Referencias Bibliográficas

1. Polák, P., Juránková, J. y Husa, P. (2014). Kamylobakterioza [Campylobacteriosis]. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*, 20(2), 50–54. Recuperado de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25135140/>
2. Simaluiza, R., Toledo, Z. y Fernández, H. (2018). Prevalencia y caracterización del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en niños con diarrea de la ciudad de Loja, Ecuador. *Revista chilena de infectología*, 35(2), 213-215. Recuperado de: <https://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000200213>

3. Hassane, D., Lee, R. y Pickett, C. (2003). *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin promotes DNA repair responses in normal human cells. *Infection and immunity*, 71(1), 541–545. doi: 10.1128/iai.71.1.541-545.2003
4. Poma, V. (2014). *Aislamiento Y Tipificación Molecular de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli en Contenido Cecal de Pollos Faenados en Camales 52 Industriales en la Provincia de Pichincha*. Tesis de grado no publicada, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6610>
5. Pielsticker, C., Glünder, G. y Rautenschlein, S. (2012). Colonization properties of *Campylobacter jejuni* in chickens. *European journal of microbiology & immunology*, 2(1), 61–65. <https://doi.org/10.1556/EuJMI.2.2012.1.9>
6. Dai, L., Sahin, O., Grover, M. y Zhang, Q. (2020). Estrategias nuevas y alternativas para la prevención, control y tratamiento de *Campylobacter* resistente a antibióticos. *Investigación traslacional: la revista de medicina clínica y de laboratorio*, 223, 76–88. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2020.04.009>
7. de Carvalho, A., da Silva, D., Azevedo, S., Piatti, R., Genovez, M. y Scarcelli, E. (2014). Detection of CDT toxin genes in *Campylobacter* spp. strains isolated from broiler carcasses and vegetables in São Paulo, Brazil. *Brazilian journal of microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 44(3), 693–699. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822013000300005>
8. Park, J. (2020). *Determinación de la resistencia antimicrobiana en cepas de Campylobacter aisladas de pollos de engorde*. Tesis de grado no publicada, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.puce.edu.ec:80/xmlui/handle/22000/18039>
9. Vinueza, C. (2017). *Salmonella and Campylobacter in broilers at slaughter age : a possible source for carcasses contamination in Ecuador*. Ghent University. Faculty of Veterinary Medicine, Merelbeke, Belgium. Recuperado de: <https://pdfs.semanticscholar.org/7f58/9025f8dbd75a1ad803b68d1bf8a932d6c8d9.pdf>
10. Medina, J. (2015). *Cuantificación de Campylobacter spp. en un matadero Semi-industrial de Aves, y posterior identificación de especies (C. jejuni y C. coli) mediante técnicas de Diagnóstico Molecular* (Bachelor's thesis, Quito: UCE). Recuperado de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6787/1/T- UCE-0014-042.pdf>
11. Scuron, M., Boesze-Battaglia, K., Dlakić, M. y Shenker, B. (2016). La toxina de distensión citoletal contribuye a la virulencia microbiana y la patogénesis de la enfermedad al actuar como una toxina tripadicia. *Fronteras en microbiología celular e infecciosa*, 6, 168.
12. Ge, Z., Schauer, D. y Fox, J. (2008). In vivo virulence properties of bacterial cytolethal-distending toxin. *Cellular microbiology*, 10(8), 1599–1607. doi:10.1111/j.1462-5822.2008.01173.x

13. Ohara, M., Oswald, E. y Sugai, M. (2004). Cytolethal distending toxin: a bacterial bullet targeted to nucleus. *The Journal of Biochemistry*, 136(4), 409-13. doi:10.1093/jb/mvh154
14. González-Costa, M. y González, A. (2019). La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 18(1), 30-44. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2019000100030&lng=es&tlng=es
15. Paone, P. y Cani, P. (2020). Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? *Gut*, 69(12), 2232–2243. doi: 10.1136 / gutjnl-2020-322260
16. Talukder, K., Aslam, M., Islam, Z., Azmi, I., Dutta, D., Hossain, S., Nur-E-Kamal, A., Nair, G., Cravioto, A., Sack, D. y Endtz, H. (2008). Prevalence of virulence genes and cytolethal distending toxin production in *Campylobacter jejuni* isolates from diarrheal patients in Bangladesh. *Journal of clinical microbiology*, 46(4), 1485–1488. doi: 10.1128/JCM.01912-07
17. Kovács, J., Cox, A., Schweitzer, B., Maróti, G., Kovács, T., Fenyvesi, H., Emődy, L. y Schneider, G. (2020). Virulence Traits of Inpatient *Campylobacter jejuni* Isolates, and a Transcriptomic Approach to Identify Potential Genes Maintaining Intracellular Survival. *Microorganisms*, 8(4), 531. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040531>
18. Faís, T., Delmas, J., Serres, A., Bonnet, R. y Dalmasso, G. (2016). Impact of CDT Toxin on Human Diseases. *Toxins*, 8 (7), 220. doi:10.3390/toxins8070220
19. De Rycke, J., y Oswald, E. (2001). Cytolethal distending toxin (CDT): a bacterial weapon to control host cell proliferation? *FEMS microbiology letters*, 203 (2). 10.1111 / j.1574-6968.2001.tb10832.x
20. Bang, D., Nielsen, E., Scheutz, F., Pedersen, K., Handberg, K. y Madsen, M. (2003). PCR detection of seven virulence and toxin genes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from Danish pigs and cattle and cytolethal distending toxin production of the isolates. *Journal of applied microbiology*, 94(6), 1003-1014.
21. Arzu, F., Tuba, I., Ertan, E., Duygu, P., Tahsin, O. y Alper, C. (2011). Tipificación molecular y prevalencia de genes de *Campylobacter jejuni* aislados de diversas fuentes. , 43 (3), 711–719. doi: 10.1007 / s11250-010-9758-0
22. Somroop, S., Hatanaka, N., Awasthi, S., Okuno, K., Asakura, M., Hinenoya, A. y Yamasaki, S. (2017). *Campylobacter upsaliensis* isolated from dogs produces high titer of cytolethal distending toxin. *The Journal of veterinary medical science*, 79(3), 683–691. doi: 10.1292/jvms.16-0654
23. Selwet M. (2019). Prevalencia de genes de virulencia y resistencia a múltiples fármacos en *Campylobacter* Spp. Termófilo. Aislado de perros. *Ciencias de la vida abierta*, 14, 681–687. <https://doi.org/10.1515/biol-2019-0077>

24. Szymanski, C., King, M., Haardt, M. y Armstrong, G. (1995). *Campylobacter jejuni* motility and invasion of Caco-2 cells. *Infection and immunity*, 63(11), 4295–4300. <https://doi.org/10.1128/iai.63.11.4295-4300.1995>
25. Black, R., Levine, M., Clements, M., Hughes, T. y Blaser, M. (1988). *Infección experimental por Campylobacter jejuni en humanos*. *Revista de enfermedades infecciosas*, 157 (3), 472–479. doi: 10.1093 / infdis / 157.3.472
26. Smith, J. y Bayles, D. (2006). The contribution of cytolethal distending toxin to bacterial pathogenesis. *Critical reviews in microbiology*, 32(4), 227–248. <https://doi.org/10.1080/10408410601023557>
27. Jain, D., Prasad, K., Sinha, S. y Husain, N. (2008). Differences in virulence attributes between cytolethal distending toxin positive and negative *Campylobacter jejuni* strains. *Journal of medical microbiology*, 57(Pt 3), 267–272. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47317-0>
28. Cormack, D. (2010). *Histología de HAM*. (9na ed.). Harla.
29. Pawlina, W. y Ross, M. (2020). *Ross Histología Texto y Atlas*. (8va ed.). Wolters Kluwer.
30. Megías M, Molist P, Pombal MA. (2019). *Atlas de histología vegetal y animal. Tejidos vegetales*. Recuperado de : <http://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/inicio.html>
31. Junqueira, L. y Carneiro, J. (2015). *Histología básica*. In *Histología básica* (12va Ed). Medica Panamericana.
32. Alzheimer, M., Svensson, S., König, F., Schweinlin, M., Metzger, M., Walles, H. y Sharma, C. (2020). A three-dimensional intestinal tissue model reveals factors and small regulatory RNAs important for colonization with *Campylobacter jejuni*. *PLoS pathogens*, 16(2), e1008304. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008304>
33. O Cróinín, T. y Backert, S. (2012). Host epithelial cell invasion by *Campylobacter jejuni*: trigger or zipper mechanism? *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 25. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00025>
34. Taieb, F., Petit, C., Nougayrède, J. y Oswald, E. (2016). The Enterobacterial Genotoxins: Cytolethal Distending Toxin and Colibactin. *EcoSal Plus*, 7(1), 10.1128/ecosalplus.ESP-0008-2016. <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0008-2016>
35. Diepold, A. y Armitage, J. (2015). Type III secretion systems: the bacterial flagellum and the injectisome. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 370(1679), 20150020. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0020>
36. Burnham, P. y Hendrixson, D. (2018). *Campylobacter jejuni*: componentes colectivos que promueven un estilo de vida entérico exitoso. *Nat Rev Microbiol* 16, 551–565. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0037-9>

37. Purdy, D., Buswell, C., Hodgson, A., McALPINE, K., Henderson, I. y Leach, A. (2000). Characterisation of cytolethal distending toxin (CDT) mutants of *Campylobacter S jejuni*. *Journal of medical microbiology*, 49(5), 473–479. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-49-5-473>
38. Fox, J., Rogers, A., Whary, M., Ge, Z., Taylor, N., Xu, S., Horwitz, B. y Erdman, S. (2004). Gastroenteritis in NF-kappaB-deficient mice is produced with wild-type *Campylobacter jejuni* but not with *C. jejuni* lacking cytolethal distending toxin despite persistent colonization with both strains. *Infection and immunity*, 72(2), 1116–1125 doi: 10.1128/IAI.72.2.1116-1125.2004
39. Yamasaki, S., Asakura, M., Tsukamoto, T., Faruque, S., Deb, R. y Ramamurthy, T. (2006). TOXINA CITOLETAL DISTENDENTE (CDT): DIVERSIDAD GENÉTICA, ESTRUCTURA Y PAPEL EN LA ENFERMEDAD DIARREAL. Revisiones de toxinas, 25 (1), 61-88. doi: 10.1080 / 15569540500320938
40. Abe, H., Koyama, K. y Koseki, S. (2020). Modelado de la invasión de *Campylobacter jejuni* en células similares al epitelio del intestino delgado humano por inferencia bayesiana. *Microbiología aplicada y ambiental*, (), -. doi: 10.1128 / aem.01551-20
41. Van Spreeuwel, J., Duursma, G., Meijer, C., Bax, R., Rosekrans, P. y Lindeman, J. (1985). Colitis por *Campylobacter*: hallazgos histológicos inmunohistoquímicos y ultraestructurales. *Gut*, 26 (9), 945–951. <https://doi.org/10.1136/gut.26.9.945>
42. El-Salhy, M., Mazzawi, T., Gundersen, D. (2013). Changes in the symptom pattern and the densities of large-intestinal endocrine cells following *Campylobacter* infection in irritable bowel syndrome: a case report. *BMC Res Notes* 6, 391. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-6-391>
43. Carrasco-Avino, G. (2019). Histología en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 30(4), 283-298. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2019.06.005>
44. Mortensen, N., Schiellerup, P., Boisen, N., Klein, B., Loch, H., Abuoun, M., Newell, D. y Krogfelt, K. (2011). The role of *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin in gastroenteritis: toxin detection, antibody production, and clinical outcome. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 119(9), 626–634. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2011.02781>.
45. Silva, D., Tejada, T., Cunha, C., Lopes, N., Agostinetto, A., Collares, T. y Timm, C. (2014). Occurrence of *Campylobacter* in poultry, meat chicken and human feces, and cdt genes research. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 66(1), 297-304.
46. Martínez, I., Mateo, E., Churrua, E., Girbau, C., Alonso, R. y Fernández-Astorga, A. (2006). Detection of cdtA, cdtB, and cdtC genes in *Campylobacter jejuni* by multiplex PCR. *International journal of medical microbiology: IJMM*, 296(1), 45–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2005.08.003>
47. Ripabelli, G., Tamburro, M., Minelli, F., Leone, A. Y Sammarco, M. (2010). Prevalence of virulence-associated genes and cytolethal distending toxin production in

- Campylobacter* spp. isolated in Italy. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 33(4), 355–364. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2008.12.001>
48. Rozynek, E., Dzierzanowska-Fangrat, K., Jozwiak, P., Popowski, J., Korsak, D. y Dzierzanowska, D. (2005). Prevalence of potential virulence markers in Polish *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. *Journal of medical microbiology*, 54(7), 615-619.
49. Van Deun, K., Haesebrouck, F., Heyndrickx, M., Favoreel, H., Dewulf, J., Ceelen, L., Dumez, L., Messens, W., Leleu, S., Van Immerseel, F., Ducatelle, R. y Pasmans, F. (2007). Virulence properties of *Campylobacter jejuni* isolates of poultry and human origin. *Journal of medical microbiology*, 56(Pt 10), 1284–1289. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47342-0>
50. Fernandes, M., Mena, C., Silva, J. y Teixeira, P. (2010). Study of cytolethal distending toxin (cdt) in *Campylobacter coli* using a multiplex polymerase chain reaction assay and its distribution among clinical and food strains. *Foodborne pathogens and disease*, 7(1), 103–106. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0326>
51. Kabir, S., Kikuchi, K., Asakura, M., Shiramaru, S., Tsuruoka, N., Goto, A., Hinenoya, A. y Yamasaki, S. (2011). Evaluation of a cytolethal distending toxin (cdt) gene-based species-specific multiplex PCR assay for the identification of *Campylobacter* strains isolated from diarrheal patients in Japan. *Japanese journal of infectious diseases*, 64(1), 19–27.
52. Shiramaru, S., Asakura, M., Inoue, H., Nagita, A., Matsuhisa, A. y Yamasaki, S. (2012). A cytolethal distending toxin gene-based multiplex PCR assay for detection of *Campylobacter* spp. in stool specimens and comparison with culture method. *The Journal of veterinary medical science*, 74(7), 857–862. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0574>
53. Samosornsuk, W., Asakura, M., Yoshida, E., Taguchi, T., Eampokalap, B., Chaicumpa, W. y Yamasaki, S. (2015). Isolation and Characterization of *Campylobacter* Strains from Diarrheal Patients in Central and Suburban Bangkok, Thailand. *Japanese journal of infectious diseases*, 68(3), 209–215. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2014.229>
54. Ghorbanalizadgan, M., Bakhshi, B. y Najar-Peerayeh, S. (2018). Heterogeneity of cytolethal distending toxin sequence types of *Campylobacter jejuni* and correlation to invasion/cytotoxicity potential: The first molecular survey from Iran. *Microbial pathogenesis*, 114, 213–218. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.11.035>
55. Abd, N., Samir, M., El-Naenaey, E. Y., Abo Remela, E., Mosbah, R. y Bendary, M. (2019). Genetic Diversity of *Campylobacter jejuni* Isolated From Avian and Human Sources in Egypt. *Frontiers in microbiology*, 10, 2353. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02353>
56. Redondo, N., Carroll, A. y McNamara, E. (2019). Molecular characterization of *Campylobacter* causing human clinical infection using whole-genome sequencing:

Virulence, antimicrobial resistance and phylogeny in Ireland. *PloS one*, 14(7), e0219088. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219088>

57. Wilkinson, D., O'Donne ll, A., Akhter, R., Fayaz, A., Mack, H., Rogers, L., Biggs, P., French, N. y Midwinter, A. (2018). Updating the genomic taxonomy and epidemiology of *Campylobacter hyointestinalis*. *Scientific reports*, 8(1), 2393. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20889-x>
58. Dassanayake, R., Zhou, Y., Hinkley, S., Stryker, C., Plauche, G., Borda, J. y Duhamel, G. E. (2005). Characterization of cytolethal distending toxin of *Campylobacter* species isolated from captive macaque monkeys. *Journal of clinical microbiology*, 43(2), 641-649.
59. Gargiulo, A., Sensale, M., Marzocco, L., Fioretti, A., Menna, L. Y Dipineto, L. (2011). *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and cytolethal distending toxin (CDT) genes in common teals (*Anas crecca*). *Veterinary microbiology*, 150(3-4), 401-404. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.03.002>
60. Dipineto, L., Gargiulo, A., Russo, T., De Luca Bossa, L., Borrelli, L., Menna, L. y Fioretti, A. (2011). *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and cytolethal distending toxin genes in laying hens. *Avian diseases*, 55(1), 103-105. <https://doi.org/10.1637/9525-091510-ResNote.1>
61. Acik, M., Karahan, M., Ongor, H. y Cetinkaya, B. (2013). Investigation of virulence and cytolethal distending toxin genes in *Campylobacter* spp. isolated from sheep in Turkey. *Foodborne pathogens and disease*, 10(7), 589-594. <https://doi.org/10.1089/fpd.2012.1447>
62. Weis, A., Miller, W., Byrne, B., Chouicha, N., Boyce, W. y Townsend, A. (2014). Prevalence and pathogenic potential of *Campylobacter* isolates from free-living, human-commensal american crows. *Applied and environmental microbiology*, 80(5), 1639-1644. <https://doi.org/10.1128/AEM.03393-13>
63. Lee, J., Jeong, J., Lee, H., Ha, J., Kim, S., Choi, Y. y Lee, S. (2017). Antibiotic susceptibility, genetic diversity, and the presence of toxin producing genes in *Campylobacter* isolates from poultry. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(11), 1400.
64. Hatanaka, N., Kamei, K., Somroop, S., Awasthi, S., Asakura, M., Misawa, N., Hinenoya, A. y Yamasaki, S. (2017). A PCR-RFLP assay to detect and type cytolethal distending toxin (cdt) genes in *Campylobacter hyointestinalis*. *The Journal of veterinary medical science*, 79(2), 336-342. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0263>
65. Bourke, B., Chan, V. y Sherman, P. (1998). *Campylobacter upsaliensis*: waiting in the wings. *Clin Microbiol Rev.* Jul; 11(3):440-9. doi: 10.1128/CMR.11.3.440. PMID: 9665977; PMCID: PMC88890
66. Zheng, J., Meng, J., Zhao, S., Singh, R. y Song, W. (2006). Adherence to and invasion of human intestinal epithelial cells by *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*

- isolates from retail meat products. *Journal of food protection*, 69(4), 768–774. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-69.4.768>
67. Khalid, M., Tang, J., Baharuddin, N., Rahman, N., Rahimi, N. y Radu, S. (2015). Prevalence, antibiogram, and cdt genes of toxigenic *Campylobacter jejuni* in salad style vegetables (ulam) at farms and retail outlets in Terengganu. *Journal of food protection*, 78(1), 65–71. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-109>
68. Awad, W., Hess, C. y Hess, M. (2018). Re-thinking the chicken-*Campylobacter jejuni* interaction: a review. *Avian pathology: journal of the W.V.P.A*, 47(4), 352–363. <https://doi.org/10.1080/03079457.2018.1475724>
69. Hameed A. (2019). Human Immunity Against *Campylobacter* Infection. *Immune network*, 19(6), e38. <https://doi.org/10.4110/in.2019.19.e38>
70. Dhillon, A., Shivaprasad, H., Schaberg, D., Wier, F., Weber, S. y Bandli, D. (2006). *Campylobacter jejuni* infection in broiler chickens. *Avian diseases*, 50(1), 55–58. <https://doi.org/10.1637/7411-071405R.1>
71. Gharib Naseri, K., Rahimi, S. and Khaki, P. (2012) Comparison of the effects of probiotic, organic acid and medicinal plant on *Campylobacter jejuni* challenged broiler chickens. *J Agric Sci Technol* **14**, 1485–1496.
72. Ruiz-Palacios, G., Escamilla, E. y Torres, N. (1981). Experimental *Campylobacter* diarrhea in chickens. *Infection and immunity*, 34(1), 250–255. <https://doi.org/10.1128/iai.34.1.250-255.1981>
73. Johansen, C., Bjerrum, L., Finster, K. y Pedersen, K. (2006). Effects of a *Campylobacter jejuni* infection on the development of the intestinal microflora of broiler chickens. *Poultry science*, 85(4), 579-587.