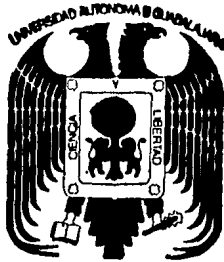


870127
12/20/20

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**PREVALENCIA DE SALMONELLA Y SHIGELLA Y SU RELACION
CON CAMPYLOBACTER FETUS EN HECES
OBTENIDAS DE LACTANTES**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ALVARO LOZANO DURAZO

GUADALAJARA, JALISCO 1981.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	<u>Pág.</u>
CAPITULO I. INTRODUCCION.	1
CAPITULO II. GENERALIDADES.	4
CAPITULO III. MATERIAL Y METODOS.	22
CAPITULO IV. RESULTADOS.	32
CAPITULO V. DISCUSION Y CONCLUSIONES.	38
CAPITULO VI. BIBLIOGRAFIA.	41

CAPITULO I.
I N T R O D U C C I O N

Las infecciones diarréicas son causadas por un gran número de microorganismos. Aún a fines de los sesentas, la etiología de la mayoría de casos de diarrea era obscura, - excepto en casos epidémicos o brotes localizados. En sólo - del 10 al 20% de los casos esporádicos se podía aislar la - bacteria enteropatógena (Salmonella, Shigella o Escherichia Coli enteropatógena). El resto eran consideradas no específicas o virales como falta de una etiología más precisa. Esta situación ha cambiado drásticamente con el reconocimiento del rotavirus, la Escherichia Coli enterotoxigénica y - otras bacterias que recientemente han sido implicadas como patógenas (Campylobacter fetus, Vibrio parahemolítico). Hoy en día los laboratorios equipados para identificar todo el grupo de bacterias enteropatógenas conocidas, pueden hacer un diagnóstico etiológico en un 60 a 80% de los casos. Obviamente, existe todavía un pequeño grupo pero significativo de casos indeterminados.

Las infecciones diarréicas pueden ser causadas por - bacterias, virus, y protozoarios. Rotavirus, es la mayor - causa de diarreas severas en niños de edades entre 6 meses a 2 años en áreas tropicales y no tropicales de todo el mundo. Los parvovirus, son reconocidos como causa primaria de epidemias localizadas de diarreas en todas las edades. Entamoeba histolytica y Giardia lamblia, son los protozoarios - más comunes en producir un cuadro diarréico severo; otros - parásitos mayores no son responsables de este síndrome.

El agente etiológico causante de una diarrea infecciosa, puede sugerirse por diversos factores, como lo son, edad, ingestiones recientes de ciertos tipos de alimentos, agua, viajes, etc. El trabajo de laboratorio clínico, es - aquí muy importante para una óptima identificación del agente causante.

El laboratorio no puede buscar ciegamente, a todas las bacterias posibles patógenas en el excremento, la tarea del laboratorio clínico de microbiología, en el diagnóstico de una diarrea bacteriana, es el de aislar e identificar en tre toda la microflora fecal, aquellas bacterias mayormente implicadas como agentes causantes de la diarrea.

Se ha comprobado, que bacterias que son reconocidas como altamente patógenas (Salmonella, Shigella), y otras de patogenicidad menor (Campylobacter fetus), tienen una mayor incidencia en niños lactantes, ocasionando una alta tasa de mortalidad, debido a la patogenicidad de las bacterias, suada a la corta edad del paciente.

El propósito de este estudio es, detectar la preva - lencia de Campylobacter fetus, y su relación con los géne - ros Salmonella y Shigella, con el fin de establecer el po - der patógeno de esta bacteria, ya que en estudios anterio - res realizadós en heces de adultos, se encontró asociación de Campylobacter fetus, con estos géneros de bacterias am - pliamente reconocidas como patógenas.

CAPITULO II.
GENERALIDADES

Las heces fecales de un adulto normal contienen de 10^{12} a 10^{13} bacterias viables por gramo. La mayoría de estas bacterias se encuentran en el colon. En el intestino delgado, los fluidos contienen de 10^2 a 10^3 bacterias por ml., y en el ileon terminal, la cuenta no excede de 10^7 bacterias por ml. La flora bacteriana del tracto gastrointestinal, se establece a las pocas semanas de nacimiento, y, excepto por intromisiones de bacterias patógenas o antibióticos, permanece estable de por vida.

Las bacterias predominantes en materias fecales, son bacilos anaeróbicos no esporulados, pero también bacterias gram(-) anaeróbicas facultativas, tales como Escherichia coli y otros miembros de la familia Enterobacteriaceae están normalmente presentes.

El daño diarréico agudo varía de ligero a severo, y (con algunas excepciones), el cuadro clínico no es de mucha ayuda en la identificación del agente etiológico. Todos tienen en común el paso de excremento líquido en grandes volúmenes anormales o con una frecuencia creciente. Existen también cuadros de portadores asintomáticos, descritos para todas las bacterias enteropatógenas. Dependiendo del microorganismo puede ésto ser seguido de recuperación del daño clínico.

El cuadro clínico es dependiente de la patogenia y fisiopatología de la infección, evacuaciones diarréicas voluminosas, en las que no existe sangre o leucocitos, y asociada sólo con signos de deshidratación y sin fiebre significativa, sugiere una infección no invasiva del intestino delgado por un organismo enterotoxigénico. En contraste, evacuaciones diarréicas frecuentes en volúmenes pequeños, conteniendo células de pus, de sangre, asociadas con dolor abdominal, fiebre y con deshidratación ligera, sugieren una

infección del intestino grueso por un organismo invasivo.

Afortunadamente un tratamiento clínico inmediato no es fuertemente dependiente al diagnóstico etiológico. El reemplazamiento de líquidos y electrolitos, venosa u oralmente, corregirá la deshidratación. La terapia antimicrobiana, es indicada sólo cuando se ha aislado alguna bacteria, o se sospecha altamente de alguna, como en el cólera o una Shigelosis severa. De cualesquier forma, el diagnóstico etiológico, es importante, para el tratamiento clínico, principalmente guiando el uso de agentes antimicrobianos.

PATOGENIA Y FISIOPATOLOGIA: Las bacterias causan síndromes diarreicos por dos mecanismos predominantes: (I) La producción de enterotoxinas o (II) Invasión de la mucosa intestinal. Estos 2 mecanismos usualmente se presentan uno u otro, aunque pueden presentarse mutuamente donde uno de los 2 mecanismos predomina.

En las enfermedades diarreicas causadas por Staphylococcus aureus y Bacillus cereus, una enterotoxina, producida por el microorganismo creciendo en alimentos es ingerida, - en todos los otros casos, la bacteria enteropatógena debe ser ingerida, pasar a través del ambiente ácido del estómago, y después colonizar o invadir el intestino grueso o el delgado antes de que la enfermedad se manifieste. El tamaño del inóculo varía tremendamente, y sólo puede ser estimado en experimentos utilizando voluntarios. Es conocido que hasta 10 organismos de Shigella pueden causar una enfermedad, mientras que son necesarias 10^6 y 10^{10} organismos, respectivamente, de Vibrio cholerae y Escherichia coli enterotoxigénica para causar una enfermedad. La barrera ácida del estómago es indudablemente de mayor importancia en todos estos casos.

BACTERIAS PRODUCTORAS DE TOXINAS:

Vibrio cholerae o Grupo I. Es uno de los patógenos entéricos que tiene el potencial de producir enfermedad endémica, y es pues, de importancia para salud pública. Sin embargo, puede también producir casos esporádicos de endemias.

Aunque la cólera es la enfermedad diarréica más severa, sólo un pequeño porcentaje (1 a 10%) de personas infectadas con el organismo desarrollan el síndrome clínico. En su forma más severa, la enfermedad empieza con vómitos y diarrea.

En doce horas, el paciente puede chocarse y hasta morir si no se da tratamiento, la mortalidad puede ser de un 50 a un 70%. Paradójicamente, las heces no son de característica fecales sino que son de color blanquecino

En áreas endémicas, la enfermedad ocurre con mayor frecuencia en niños, aunque puede ocurrir a cualquier edad. Se ha visto mayor frecuencia en hombres adultos, y se limita a los hombres. Se ha comprobado que el agua contaminada es el vehículo más importante, aunque también lo pueden ser los mariscos.

Se debe de hacer cultivo cuando se presente un paciente con diarrea de color blanco, al regresar de un área endémica.

Aunque las heces de pacientes con cólera, tienen una gran cantidad de Vibrio cholerae que crecerán profusamente en cultivos primarios, las personas con diarreas menos severas tienen menos organismos en las heces, y estas muestras deben de ser enriquecidas antes de cultivarse.

El enriquecimiento se puede hacer inoculando agua alcalina péptica (1.5% peptona- 0.5% NaCl, ajustando a un pH de 9.0 antes de esterilizar en el autoclave), incubarlo con las heces por 6-12 horas a 35°C, y haciendo un subcultivo - del agua alcalina péptica a un agar de Sales de Tiosulfato Citrato Biliar (TCBC).

Este agar es el medio óptimo para reconocer Vibrio cholerae. Después de una incubación por 18 hrs. a 35°C, se examinan los medios de agar que fueron inoculados. Las colonias de Vibrio cholerae son amarillas, grandes y aplanadas. Hay poca proliferación de la flora fecal en este medio, aunque los enterococos pueden formar colonias chicas y amarillas, y Klebsiella o Enterobacter pueden formar colonias opacas, de color amarillo subido y de regular tamaño. Sin embargo, se puede diferenciar fácilmente a estos organismos del Vibrio cholerae.

Las colonias típicas del Vibrio cholerae, deben de ser subcultivadas del agar de TCBS a un agar nutriente antes de practicar una prueba de aglutinación. Se prueba el antisuero del grupo, y el anti-Inaba y anti-Ogawa. El Vibrio cholerae del Grupo I, deberá aglutinarse con el suero del grupo y en un antisuero específico. La aglutinación puede hacerse con las colonias tomadas directamente del agar, pero puede darnos falsos positivos, por el aspecto granular de la colonia y dará una prueba oxidasa negativa.

Las pruebas de confirmación incluyen el Test de hilo en el cual se emulsifica la colonia en un 0.5% de desoxicolato sódico, y se levanta con una aguja la emulsificación; se formará un "hilo" desde la emulsificación a la aguja. Esta reacción no es específica para Vibriosis. En áreas endémicas, las colonias típicas, que son oxidasa positiva; lisina y ornitina-descarboxilasa positivas; y arginina dehideroxi-

lasa negativas, además que son inhibidas por el agente Vibrio - estático 0/129 y que aglutinan el antisuero grupo O, pueden ser consideradas Vibrio cholerae. Sin embargo, la combinación de una colonia típica en agar TCBS, y una reacción típica de aglutinación, constituye una reacción de presunción. En áreas no endémicas, se deberá de hacer estudios bioquímicos.

Casi todas las cepas son susceptibles a Tetraciclina, la droga de elección para el tratamiento, así que no se indican pruebas de susceptibilidad.

Se puede probar el suero del día 10°, al día 14° de la enfermedad, buscando anticuerpos aglutinógenos o Vibriólidos. Si se obtienen resultados de más de cuatro veces el normal, se puede hacer el diagnóstico. El diagnóstico serológico deberá de hacerse en un laboratorio.

Vibrio cholerae no O Grupo I, antes llamado Vibrio - no cholerae o Vibriosis no aglutinógenos. Estos organismos - pueden producir una enfermedad similar a el cólera. Existen en medios acuáticos y son muy comunes en el mundo animal. - No aglutinan el antisuero cholerae, y son clasificados por serotipo 39.

Escherichia coli. Puede causar enfermedades diarréicas por los mecanismos ya mencionados. Las cepas enterotoxigénicas producen dos tipos de enterotoxinas, una termolábil parecida a la cólerica, y una termoestable. Una cepa puede producir una o ambas enterotoxinas. El material genético - que controla la producción de la toxina, puede ser transferido de una cepa a otra. Estas cepas pueden producir cuadros clínicos similares a el cólera aunque la diarrea puede ser más leve.

Teóricamente, cualquier cepa de Escherichia coli puede ser enterotoxigénica, pero sólo pocas son realmente enterotoxigénicas.

La Escherichia coli también puede ser invasiva y producir un cuadro clínico similar a la Shigelosis. Estas cepas también están limitadas a unos pocos serotipos, y no pueden ser reproducidos excepto por demostración de sus propiedades invasivas en el ojo del cuyo (prueba de Serény)

Algunos serotipos de Escherichia coli están asociados a diarreas observadas en guarderías, y estas diarreas algunas veces eran fatales. Algunos de los gérmenes aislados también producían enfermedad en los voluntarios. Subsecuentemente, aproximadamente 16 serotipos fueron reconocidos como enteropatogénicos (ECEP), a pesar de que nunca se identificaron específicamente. Cuando fueron identificados en los años 60's, también se estudiaron cepas de ECEP, por su habilidad de producción de enterotoxinas termoestables y termolábiles, y no presentaban toxigenicidad. Sin embargo, estudios con voluntarios han demostrado, que estas cepas son diarrogénicas y la enfermedad que producen era similar a la enfermedad mediada por una enterotoxina.

Ahora hay evidencia que las cepas epidémicas de ECEP, son enterotoxigénicas debido a toxinas no descritas, que son cualitativamente distintas de las toxinas termolábiles y termoestables. Sin embargo, hay poca evidencia para decir que las cepas de ECEP son la causa de casos esporádicos de diarrea.

Las cepas de Escherichia coli enterotoxigénicas producen diarreas en niños pequeños, pero son raramente la causa de casos esporádicos. Son la causa principal de la diarrea del turista.

La Escherichia coli representa parte de la flora intestinal normal en la persona sintomática. No hay diferencias morfológicas entre las cepas causantes de diarrea, y las de la flora normal, así que la enterotoxigenicidad deberá de ser demostrada para identificar las cepas diarréicas.

La producción del enterotoxina termolábil, puede ser demostrada por una cuantificación inmuno-absorbente enzimática o en cultivo de tejido.

La confirmación de invasividad requiere inoculación del saco conjuntival de cuyos.

Hay ciertos casos en los cuales se deberán de aislar las cepas como son:

- I). Si ocurre uno o varios casos en las guarderías.
- II). Cuando el turista regresa a su país natal.

En cualquier caso, se deberán de resembrar 10 colonias y determinar invasividad, enterotoxigenicidad y serotipos.

En casos esporádicos de diarrea, no es necesario recurrir a esto.

Staphylococcus aureus. Puede producir diarrea aguda por la producción de enterotoxinas, o la invasión de mucosa intestinal. El Staphylococcus aureus, que prolifera en las comidas enlatadas o productos lácteos, producen enterotoxinas termoestables que al ser ingeridas producen vómitos y diarrea. El período de incubación es de 2 a 6 horas, después de la ingesta de la comida contaminada y se autolimita en 12 - 18 horas.

Esta forma de intoxicación alimenticia es una de las más comunes, como la producida por Clostridium perfringens, y ocurre en varias personas a la vez.

El Staphylococcus, puede causar enterocolitis pseudomembranosa asociada con antibióticos. Aunque esta entidad fue reportada frecuentemente en los años cincuentas, aún no se reconocía el papel del Clostridium difficile y no se practicaban cultivos.

Sólo se deberá de determinar y aislar el Staphylococcus cuando hay varios casos. En ese caso, los materiales más importantes para cultivar son: Las comidas y las lesiones de las personas que hayan manejado la comida. El cultivo de las heces no es recomendable para hacer el diagnóstico.

Vibrio parahemolítico. Es una bacteria marina que produce diarrea líquida, dolor abdominal, y a veces náuseas 15-24 horas después de la ingesta de mariscos. Los síntomas duran de varias horas hasta 10 días, pero se autolimitan generalmente en 3 días.

El 96% de los pacientes son Kanagawa positivos, o sea que producen una hemolisina detectable en agar sangre con un alto contenido de sal (Wagafsuma agar). Menos del 1% aislado en los mariscos son Kanagawa positivos.

El Vibrio parahemolítico es una bacteria halofílica hallada en aguas costeras. Su distribución está restringida por la temperatura del agua y salinidad. Se detiene el crecimiento en salinidad mayor de 15 a 20% y a una temperatura = 15°C. Colwell ha demostrado que se encuentra en el sedimento del agua en el invierno. La bacteria utiliza un exudado del planctón, y se libera al agua. El Vibrio parahemolítico

tico se encuentra en muchos mariscos como: Camarón, almejas, pulpo y otros. Los pacientes con Vibrio parahemolftico tienen antecedentes de ingesta de mariscos.

Puesto que la infección de Vibrio parahemolftico siempre está asociada a la ingesta de mariscos, no se recomienda el cultivo rutinario. Si no se puede cultivar el espécimen después de 8 horas de su recolección, se debe usar el medio de Cary-Blair para su conservación. Se pueden poner especímenes frescos en agua péptica alcalina por 8 hrs. para enriquecimiento de éstos.

Aunque el Vibrio parahemolftico crece en algunos medios, se recomienda la inoculación en agar de manitol y TCBS, puesto que es selectivo para Vibrio.

Es importante recordar que hay variaciones en cuanto al agar de TCBS. Después de 24 horas de incubación a 35°C el Vibrio parahemolftico forma colonias de 3 a 5 mm de diámetro con centros verdosos. Las pruebas preliminares de estas colonias, incluyen tinción de Gram, reacción de oxidasa y motilidad.

La mayoría de las cepas del Vibrio parahemolftico producen betalactamasa, pero son susceptibles a Tetraciclina, Cloranfenicol, Estreptomina, Kanamicina, Polimixina B, Novobiocina y Oleandomicina. Se puede utilizar la Tetraciclina para el tratamiento de casos severos aunque las pruebas de susceptibilidad no son necesarias normalmente, se puede usar el método de difusión si se agrega de 2-3% de NaCl al agar de Mueller-Hinton. Esta modificación no altera los diámetros de la zona de inhibición de Tetraciclina y Cloranfenicol, pero si disminuye la actividad de la Gentamicina.

Bacillus cereus. Existen dos síndromes clínicos asociados con la intoxicación alimentaria del Bacillus cereus: Diarrea o vómito. Está involucrada una enterotoxina distinta en cada caso. La forma más común es la diarréica con un período de incubación más largo (5-24 hrs), y se caracteriza por síntomas gastrointestinales parecidos al del Clostridium perfringens. La forma hemética tiene un período de incubación de 1-6 horas y se caracteriza por síntomas gastrointestinales como en la intoxicación alimentaria por Sthaphylococcus. El diagnóstico puede confirmarse por aislamiento de 10^5 organismos por gramo de alimento. Puesto que el Bacillus cereus, puede aislarse en las heces de personas sanas, ésto no es suficiente para diagnosticar la infección.

El Bacillus cereus es un bacilo aeróbico, esporulado, Gram positivo. Ha sido reconocido como causa importante de casos de gastroenteritis. Se ha observado en arroz mal cocido o crudo. Las esporas resisten la cocción.

Es raro el diagnóstico de Bacillus cereus en el laboratorio y sólo se intenta cuando se presentan varios casos.

Puesto que los síntomas son leves y autolimitables no es necesario administrar antibióticos.

Clostridium perfringens. Clostridium perfringens tipo A es el responsable del 15% de las enfermedades alimenticias, raramente se observan el tipo F o el tipo C.

Principalmente se ve involucrado el intestino delgado en la enfermedad causada por el tipo A. El período de incubación varía de 12 a 24 horas. La diarrea es el síntoma principal. No se observan fiebre ni vómitos y la enfermedad puede dejar secuelas. Se establece el diagnóstico por culti

vo anaeróbico del alimento involucrado. A veces se puede -
aislar el organismo de las heces del paciente.

El Clostridium perfringes es anaeróbico y Gram posi-
tivo, presente en heces humanas y de animales. La carne cru-
da se contamina con pocos organismos del tracto gastrointes-
tinal al procesarla. La cocción insuficiente no mata los or-
ganismos y estos se multiplican cuando se dejan en reposo.

No requiere terapia con antibióticos puesto que -
autolimitable.

Patógenos Misceláneos. Probablemente haya otras bac-
terias que no han sido descritas como agentes causales de -
diarreas agudas. Estas son Klebsiella, sp., Enterobacter -
sp., Pseudomonas sp., Pleisiomonas sp., pero es difícil de -
mostrarlo.

Algunos laboratorios si han reportado cultivos de -
Pseudomonas y Pleisiomonas en pacientes inmunosuprimidos.

Recientemente se han aislado Aeromonas hidrófila en
varios niños con diarrea, este organismo crece en medios de
agar entérico y forma colonias chicas, convexas, de uno a -
dos mm de diámetro, lactosa negativas. Las colonias lactosa
positivas pueden semejar a Escherichia coli, pero se dis-
tingue mediante la prueba de la oxidasa Aeromona es positi-
va). En el agar de TCBS, Aeromonas forma colonias chicas, -
amarillas. Se diferencia de los Vibrios por reacciones de -
descarboxilasa, tolerancia salina y aglutinación.

BACTERIAS INVASORAS:

Yersinia enterocolitica. La forma más común de infección clínica con Yersinia enterocolitica en humanos es la - gastroenteritis aguda con dolor abdominal y diarrea sanguinolenta.

Otras formas clínicas pueden ser: Síndrome de pseudo apendicitis, linfadenitis mesentérica o ileftis terminal; - (2) septicemia; (3) meningitis; e, (4) infección del tracto urinario. Las secuelas incluyen artritis, eritema nudoso y síndrome de Reiter. No ocurren casos asintomáticos.

Los mecanismos patogénicos de Yersinia enterocolitica no se comprenden, existen tres posibles factores de virulencia, incluyendo células LE y que producen enterotoxinas termoestables. La puerta de entrada es gastrointestinal.

Las especies sometidas para cultivo de Yersinias, deben ser refrigeradas de 7 a 10 días y cultivadas, puesto - que el organismo prolifera de 4 o 5°C.

La captación inicial requiere inoculación en duplicado de agar Mc Conkey y agar Salmonella- Shigella, seguidas de incubación de 35 y 25°C por 48 horas.

Se puede aislar Yersinia enterocolitica en casos agudos. Pero sin embargo no se sabe si son clínicamente significativos. Algunos son patógenos pero de otros no se sabe. Recientemente, se han desarrollado tres medios útiles para aislar Yersinia enterocolitica: agar de Pectina, agar de Ce lobiosa, y agar Arginina-Lisina. Estos medios han resultado útiles en las pruebas.

La Yersinia enterocolitica es un cocobacilo grande - Gram negativo. Las colonias son de 1-2 mm de diámetro y de

color rosado ténue en agar Mc Conkey después de 24 horas, - No todas las Yersinias crecen en agar de Salmonella-Shige - lla. Se inoculan un TSI, urea, para identificar las colo - nias típicas. Se deben hacer identificaciones confirmativas con métodos convencionales.

Las cepas típicas de Yersinia enterocolitica deberán de distinguirse de otras especies como Yersinia intermedia, que es Ramnosa, Meloblosa y Sacarosa positivas; la segunda especie es Yersinia frederik senii, que Ramnosa y Sacarosa positiva, pero Rafinosa y Meloblosa negativa.

Existen 51 antígenos O (somáticos), y 19 antígenos - flagelares de Yersinia enterocolitica.

Yersinia enterocolitica es susceptible a Kanamicina, Gentamicina, Cloranfenicol, Tetraciclinas, Estreptomocina y Trimetropin-Sulfametoxazol; y resistente a la Cefalosporina. Es útil la terapia con antibióticos en casos crónicos,

Campylobacter fetus. La Campylobacteriosis ha sido - reconocida como una enfermedad del ganado y aves por muchos años y como patógeno humano desde 1947. La enfermedad se ca - racteriza por dolor abdominal, cefalea, fiebre y diarrea, - con o sin sangre, que dura de una a tres semanas. Esta in - fección se observa en personas de todas las edades. Puede - causar inflamación intestinal.

La experiencia sugiere que Campylobacter fetus subes - pecie jejuni puede ser aislado de las heces de los pacien - tes con diarrea tan frecuentemente como Salmonella y Shige - lla. Blaser y colaboradores han sugerido que el cultivo en caldo de Tioglicolato con 0.16% y Vancomicina (10 mg/1), - Trimetropim (5 mg/1.), Polimixina B (2500 U./1.), Anfoteri - cina B (2 mg/1.), aumenta el número de Campylobacter fetus.

Campylobacter fetus subespecie jejuni es un microaerófilo y crece en una atmósfera sin más de 6% de O₂. Aunque este medio puede ser logrado con Gas Pak sin catalizador de Paladio, esto puede ser una práctica peligrosa.

Las colonias de Campylobacter fetus pueden variar en cuanto tamaño. Las colonias pueden ser de color grisáceo o rosadas. Es inerte en carbohidratos y reduce nitratos a nitritos.

No es necesario el antibiograma porque la enfermedad es autolimitable y no requiere de tratamiento. En casos recurrentes, se indica Eritromicina. La susceptibilidad del organismo puede ser tratada con agar diluido o microdilución. Hasta el 8% de los aislados son resistentes a Eritromicina y Tetraciclinas. Sin embargo, la concentración de estas drogas en el cólon son mayores.

Shigella. Aunque la producción de toxinas se ha demostrado en Shigella disenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, el factor de virulencia más importante es la habilidad del organismo para penetrar y multiplicarse en la mucosa del cólon. La diarrea, que ocurre después de un período de incubación de 1-3 días, se caracteriza por heces verdosas con moco, células inflamatorias y ocasionalmente, sangre. Se acompaña de fiebre, dolor abdominal, y poco vómito. Todas las Shigella poseen antígenos O, y algunos poseen antígenos K. Aquellas cepas que poseen el antígeno K aparecen como colonias lisas al crecer en agar.

Utilizando el antígeno O, las Shigellas se dividen en 4 grupos que son el A, B, C y D, que corresponden a Shigella disenteriae, Shigella flexneri, Shigella boydii y Shigella sonnei respectivamente. Cada grupo mayor o especie está también subdividida en tipos basándose en el antígeno

O.

En adultos sanos puede ocurrir la curación espontánea de 2-7 días. En los individuos muy jóvenes o muy viejos así como en los mal nutridos, la enfermedad es más duradera, y la mortalidad debida a la deshidratación y desequilibrio - electrolítico es mayor. La muerte es más común que ocurra en la población pediátrica y cuando Shigella disenteriae es el organismo causante.

La diseminación de Shigella es de hombre a hombre, y los reservorios son portadores que arrojan los organismos - en sus heces fecales. A partir de estos portadores la Shigella puede ser diseminada por moscas, dedos, comida, o heces fecales.

El 75% de los casos son causados por Shigella sonnei siguiendo la Shigella flexneri en un 16% de los casos.

El mejor espécimen para el diagnóstico de Shigellosis es la toma rectal directa o bien la toma de una úlcera hecha por un examen sigmoidoscópico. Las heces fecales también pueden ser utilizadas, pero debido a la sensibilidad - de la Shigella para los ácidos contenidos en los materiales fecales, el intervalo de tiempo entre la colección del espécimen y la inoculación del medio es importante. Los especímenes que no pudiesen ser cultivados inmediatamente, deben de ponerse en un medio de transporte o preparaciones buffer de glicerol.

Es tema de controversia el uso de antibióticos, pero están indicados en casos de disentería. Se deberá de hacer antibiograma, o se puede dar Ampicilina o Trimetoprim-Sulfametoaxazole.

Salmonella. En contraste con el género Shigella, el género Salmonella está compuesto de un grupo de organismos más diverso y complejo. Infectan diferentes especies de animales además del hombre y son capaces de invadir tejido extraintestinal, causando fiebres entéricas siendo la más severa de estas la fiebre Tifoidea.

La Salmonella penetra el epitelio del ileon terminal, y migra hacia la lámina propia. Ahí puede producir toxinas involucradas en enfermedad diarréica. La Salmonella puede producir tres coiciones patológicas: (1) una gastroenteritis autolimitada, (2) fiebre entérica, (3) septicemia.

La gastroenteritis se caracteriza por fiebre, diarrea y dolor abdominal que inicia de 1-3 días después de la ingesta de alimento contaminado, pero es autolimitada.

Deberán de hacerse métodos de enriquecimiento para las Salmonellas. Se usa el agar Entérico para aislarla. El agar de Sulfito de Bismuto es altamente selectivo para Salmonella.

Los antígenos O y H son los más utilizados para tipificar la Salmonella. Los antígenos son similares a aquellos de otras enterobacterias, pero los antígenos H de la Salmonella son difásicos. Esto es, que los antígenos H pueden existir en una de dos fases mayores, la fase 1 o fase específica, y la fase 2 o fase no específica.

Los antígenos de la fase 1 compartidos por unos pocos organismos, y sólo reaccionan con antisueros homólogos, mientras que los antígenos de la fase dos, son compartidos por muchos organismos y pueden dar reacciones cruzadas con organismos heterólogos.

Las Salmonellas son agrupadas en grupos mayores basándose en los antígenos O comunes.

El antígeno capsular juega un papel menor en la clasificación serológica de Salmonella, pero puede tener una importante significancia patológica. El antígeno Vi de virulencia de la Salmonella typhi, puede tener un papel en la prevención de la destrucción intracelular del organismo.

La administración de antibióticos no acorta el curso de la enfermedad diarreica, y puede prolongar el estado de portador. En estos casos el Cloranfenicol es la droga de elección (Ampicilina es alternativa), pero deberá de hacerse antibiograma.

CAPITULO III.
MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS

Para llevar a cabo este estudio, se analizaron 60 - muestras, de heces diarréicas procedentes de lactantes in - ternos en hospitales de la U.A.G., la edad de los pacientes fluctuó de un mes a dos años.

Las muestras fueron transportadas al laboratorio para proceder al estudio de las mismas. Se hizo un primo cultivo sembrando directamente en medios diferenciales y selec tivos, el medio diferencial utilizado fue el agar Mc Conkey, y en los selectivos se utilizaron dos, uno de selectividad moderada que fue el agar Salmonella-Shigella, y otro de alta selectividad que fue el agar Tergitol-7. La muestra tam - bién fue inoculada en un caldo entérico de enriquecimiento, el caldo Tetracionato; este caldo se utilizó principalmente para el enriquecimiento de Salmonella, puesto que Shigella se afsla mejor a partir del primo cultivo de muestras frescas. Todas las siembras fueron hechas utilizando isopos estériles, incubándose después a 37°C por 24 horas en un me - dio de aerobiosis.

El cultivo secundario se hizo a partir del caldo tetracionato incubado 24 horas antes, y se sembró en dos me - dios altamente selectivos que fueron: Agar Tergitol-7 y - agar Verde Brillante, estos se incubaron al igual que el - primo cultivo a 37°C por 24 horas en atmósfera de aerobio - sis.

Para el aislamiento de Campylobacter fetus se inocu - ló directamente de la muestra en el medio de Campybab, el - que se incubó a 42°C por 48 horas en una atmósfera óptima - para microaerofílicos, ésto se logró utilizando el Campypak (generador de CO₂).

Para proseguir con la identificación, después de incubar durante 24 horas, las colonias sospechosas se transfirieron a medios bioquímicos para diferenciación de especie y género, los medios utilizados fueron:

TSI, para observar su comportamiento ante glucosa y lactosa, así como la producción de H_2S . Se inocularon también urea de Christensen donde se observó la hidrólisis de la urea, el medio de SIM, para observar motilidad, producción de indol, y producción de H_2S . También se utilizó el medio caldo sacarosa para observar la fermentación de ésta. Estas pruebas bioquímicas se practicaron a colonias sospechosas obtenidas en el primo cultivo y cultivo secundario.

Los resultados obtenidos que indicaron bacterias de los géneros Salmonella o Shigella, fueron comprobados utilizando serotipificación con antisueros específicos para estos géneros, y de esta manera se detectó el grupo.

El medio de Campybab, se revisó a las 24 y 48 horas, haciéndose frotis teñidos al Gram de las colonias sospechosas, para observar la morfología característica del género Campylobacter. Comprobada esta identificación se procedió a las pruebas bioquímicas para la identificación de la especie.

Las pruebas bioquímicas utilizadas fueron: Fermentación de sacarosa, reducción de nitratos, SIM, prueba de la catalasa.

Además como un examen complementario se le practicó a cada una de las muestras diarréicas al llegar al laboratorio un examen coproparasitológico, búsqueda de sangre oculta y búsqueda de moco fecal.

MEDIOS DE CULTIVO:

I. MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO:

A). CALDO BASE DE TETRATIONATO.

II. MEDIOS DIFERENCIALES Y SELECTIVOS.

A). AGAR Mc CONKEY

B). AGAR SALMONELLA- SHIGELLA

C). AGAR TERGITOL-7

D). AGAR VERDE BRILLANTE.

III. MEDIOS DE IDENTIFICACION.

A). TSI

B). SIM

C). UREA DE CHRISTENSEN

D). CALDO DE SACAROSA.

MEDIOS DE ENRIQUECIMIENTO.

CALDO BASE DE TATRIONATO:

El caldo base de Tetracionato es recomendado, como un medio de enriquecimiento, en el aislamiento de Salmonella typhosa y otros miembros del género Salmonella.

Además se obtiene inhibición de muchas otras bacterias, gracias a las sales incorporadas y al yodo.

MEDIOS DIFERENCIALES Y SELECTIVOS.

AGAR Mc CONKEY:

Es una modificación del medio descrito por Mc Conkey en 1905. Es utilizado para la detección de organismos coliformes y también para aislar bacterias enteropatógenas.

Las colonias de bacterias coliformes, son de color rosá violáceo y pueden estar rodeadas de una zona de bilis precipitada. Esta reacción, es debida a la acción de los ácidos producidos por la fermentación de lactosa sobre las

sales biliares y la absorción del rojo neutro.

Los géneros de bacterias que no fermentan la lactosa, no alteran la apariencia del medio, esto lo hace un excelente sustrato para la detección y aislamiento de todos los tipos de bacterias de disentería, tifoidea y paratifoidea, en muestras que contengan estos organismos.

La inhibición del crecimiento de bacterias Gram positivas es debido a las sales biliares que existen en este medio.

AGAR SALMONELLA-SHIGELLA:

El agar Salmonella-Shigella es un medio selectivo diferencial, utilizado para el aislamiento de bacilos enteropatógenos, especialmente para aquellos que pertenecen al género Salmonella y Shigella. Este medio es esencialmente una modificación del agar Desoxycolato-Citrato descrito por Leifson, excepto que este medio de Leifson produce una inhibición de organismos Gram positivos y coliformes, principalmente por la adición de una mezcla de sales biliares.

Las colonias formadas en el agar Salmonella-Shigella por bacterias no fermentadoras de lactosa, son incoloras. Las colonias formadas por bacterias coliformes muestran un color rosa o rojo.

AGAR TERGITOL-7:

Este medio fue descrito por Chapman, es utilizado como un sustrato selectivo para organismos coliformes.

El medio Tergitol-7 es altamente productivo para la detección de organismos coliformes, se han obtenido hasta un 30% más de organismos utilizando este medio en vez de otros medios selectivos.

Las colonias obtenidas en este medio, pertenecientes a bacterias coliformes tendrán un color verde amarillento - dependiendo de la bacterias mientras que los organismos lactosa negativos nos formarán colonias azules.

AGAR VERDE BRILLANTE:

Este es un medio altamente selectivo para el aislamiento de bacterias del género Salmonella, excepto Salmonella typhi, de otros bacilos contenidos en heces fecales u otros materiales.

Este medio es una modificación del medio de Kauffmann, este medio de Kauffmann es utilizado exclusivamente para el aislamiento Salmonella typhi, o Salmonella paratyphi.

Las colonias típicas de Salmonella aparecen en este medio con un color rojo. Las colonias de bacterias fermentadoras de lactosa o sacarosa, aparecen con un color amarillo verdoso y rodeadas por una área amarilla verdosa en el medio.

En este medio, se inhibe casi totalmente el crecimiento de otras bacterias que no sean del género Salmonella aún el género Shigella tiene un raquítico crecimiento en este medio altamente selectivo.

MEDIOS DE IDENTIFICACION.

AGAR TSI:

El agar TSI fue diseñado por Hajna, para la diferenciación de los bacilos entéricos Gram negativos, basándose en su habilidad para utilizar dextrosa, lactosa y sacarosa, así como su capacidad para liberar sulfuros.

El medio de TSI debe de ser sembrado por la técnica

de picadura de estrías.

La formación de ácido a partir de carbohidratos será indicada por un cambio de color a amarillo del indicador - que es el rojo de fenol. El que este medio contenga sacarosa permite la separación de género Proteus tal como Proteus vulgaris de las Salmonellas. Los organismos fermentadores - de lactosa y/o sacarosa, como lo son coliformes, paracolon y Proteus producen un cambio a amarillo en la zona inclinada del medio, lo que impide que se confundan con otras especies.

Los miembros del género Salmonella, que son, dextrosa positiva, lactosa negativa, todas causan un enrojecimiento de la zona inclinada del medio, y un cambio a amarillo - en la base del agar.

Típico es que Salmonella paratyphi A, no produce H_2S ; pero otros tipos de Salmonella, tal como Salmonella paratyphi B (Salmonella schottmuelleri) y otras, producen un rápido ennegrecimiento del medio, pero el bacilo disentérico no lo provoca.

Las reacciones de fermentación, en tubos inclinados de agar TSI son indicados con un cambio de color rojo, a - amarillo, en el medio, siendo el cambio en la parte del fondo (base) del agar, cuando se ha fermentado la glucosa con o sin producción de gas.

La fermentación de lactosa y sacarosa se leerá en la zona inclinada del agar.

Además de estas reacciones de fermentación, el agar TSI, indica si hay o no producción de sulfuro de hidrógeno, esto se refleja con el ennegrecimiento del medio.

MEDIO DE SIM:

Este medio es utilizado para determinar la producción de H_2S , formación de indol, y motilidad de los bacilos entéricos.

Este es un medio semisólido, utilizado como medio de rutina para la identificación en un cultivo de miembros de los grupos de Shigella y Salmonella.

La motilidad en este medio de SIM, se manifiesta por el crecimiento difuso, o turbidez alejada de la línea de inoculación. La producción de H_2S , está indicada por un ennegrecimiento del medio a lo largo de la línea de inoculación o en el fondo del tubo.

El alto contenido de triptófano en el medio, lo hace ideal para la producción de indol. La determinación puede hacerse utilizando el reactivo de Erlich-Kovac's, o empleando papel oxalatado dentro del tubo. La presencia de indol estará indicada por un color rosa en el papel oxalatado, o por un color que va de rosa a rojo agregar al reactivo de Erlich-Kovac's.

Es importante hacer primero las lecturas de motilidad y formación de H_2S , antes de la prueba de indol cuando se utiliza el reactivo de Erlich-Kovac's.

UREA AGAR BASE DE CHRISTENSEN:

La urea agar base, es utilizada para la diferenciación de organismos, especialmente bacilos entéricos basándose en su actividad sobre la urea.

Christensen ideó el medio urea agar, en el cual incluyó, peptona y dextrosa, y disminuyó el contenido de buffer. Este medio presentaba un crecimiento mayor de bacilos

entéricos Gram negativos, y permite la observación rápida de la formación de ureasa, la cual hidrolisa la urea. Esto es llevado a cabo por el género Proteus y miembros del grupo Klebsiella-Enterobacter-Serratia.

Los miembros del género Proteus, atacan rápidamente la urea y después de 2 a 4 horas de incubación, el color cambia debido a la producción de amoníaco que ha penetrado profundamente en el medio, haciendo que este tome un color rosado violeta en su totalidad, dependiendo de la especie va a ser la rapidez con que se hidrolice la urea.

PRUEBA PARA FERMENTACION DE CARBOHIDRATOS:

Esta prueba es utilizada para determinar la habilidad de un organismo, para fermentar un carbohidrato específico incorporado en un medio basal produciendo ácido, o ácido con gas visible.

Los patrones de fermentación, son generalmente característicos de grupos específicos o especies de bacterias.

La fermentación es un proceso metabólico anaeróbico, de óxido-reducción, en el cual el sustrato orgánico, sirve como aceptador final de hidrógeno en vez de oxígeno.

Las bacterias fermentadoras de carbohidratos, son normalmente anaerobios facultativos. No todos los monosacáridos son degradados por todas las especies de bacterias, sus patrones de fermentación son diferentes, lo cual ayuda a la diferenciación de especies.

INTERPRETACION DE RESULTADOS:

Caldo rojo de fenol carbohidratado.

Positivo: Acido a PH de 6.8, color amarillo, produc-

ción de gas variable.

Negativo: No existe cambio de color en el medio.

CAPITULO IV.

R E S U L T A D O S

R E S U L T A D O S

Las bacterias que se lograron aislar fueron:

Bacteria	No. de casos positivos	% en relación al total de muestras
A). <u>Salmonella</u>	6	10.00
a). <u>Salmonella enteriti</u> <u>dis</u>	3	5.00
b). <u>Salmonella paraty -</u> <u>phi B</u>	2	3.34
c). <u>Salmonella paraty -</u> <u>phi A</u>	1	1.67
B). <u>Shigella</u>	9	15.00
a). <u>Shigella boydii</u>	4	6.68
b). <u>Shigella flexneri</u>	3	5.00
c). <u>Shigella sonclei</u>	1	1.67
d). <u>Shigella disenteriae</u>	1	1.67
C). <u>Campylobacter</u>	5	8.30
a). <u>Campylobacter fetus</u>	5	8.30
D). <u>Proteus</u>	24	
a). <u>Proteus mirabilis</u>	15	25.00
b). <u>Proteus vulgaris</u>	9	15.00
c). <u>Proteus morganii</u> (<u>Morganella morganii</u>)	3	5.00
d). <u>Proteus retegeri</u> (<u>Providencia rettgeri</u>)	2	3.33

Otros organismos encontrados fueron: Klebsiella sp., Citrobacter sp., bacterias fermentadoras lentas de lactosa, y bacterias aromáticas, además de género Escherichia que se encontró en el 100% de las muestras. Estas bacterias no fueron identificadas en especies, por escapar ésto al propósi-

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

to de este trabajo.

Además como un estudio complementario se practicó -- un examen coproparasitológico, donde fueron encontrados 6 tipos diferentes de parásitos en un total de 5 casos, re - presentando éstos el 8.3% de las muestras en total.

Como parte del examen complementario, se encontraron 5 muestras con un alto porcentaje de leucocitos Polimorfo - Nucleares, ésto como causa de la invasión bacteriana así - mismo, se dieron 3 casos de muestras conteniendo un porcentaje medio y 7 casos con escaso porcentaje de Leucocitos Po limorfo Nucleares.

No. de Muestra	Bacteria Aislada:
1	Shigella boydii, Salmonella paratyphi B, - Escherichia, coli.
2	Salmonella enteritidis, Escherichia coli.
3	Escherichia coli, Fermentadoras lentas de lactosa.
4	Escherichia coli.
5	Escherichia coli.
6	Shigella flexneri, Escherichia coli.
7	Klebsiella sp., Escherichia coli.
8	Shigella boydii, Escherichia coli.
9	Escherichia coli.
10	Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, <u>Esche</u> richia coli.

- | | |
|----|--|
| 11 | Proteus vulgaris, Escherichia coli. |
| 12 | Proteus vulgaris, Escherichia coli. |
| 13 | Proteus mirabilis, Escherichia coli. |
| 14 | Proteus mirabilis, Escherichia coli. |
| 15 | Proteus mirabilis, Proteus rettgeri, Escherichia coli. |
| 16 | Klebsiella sp., Escherichia coli. |
| 17 | Shigella boydii, Escherichia coli' |
| 18 | Klebsiella sp., Escherichia coli. |
| 19 | Escherichia coli, Fermentadoras lentas de lactosa. |
| 20 | Klebsiella sp., Escherichia coli. |
| 21 | Proteus morgani, Proteus Mirabilis, Escherichia coli. |
| 22 | Escherichia coli, Fermentadoras lentas de lactosa. |
| 23 | Proteus morgani, Bacterias Aromáticas, Escherichia coli. |
| 24 | Proteus mirabilis, Escherichia coli. |
| 25 | Campylobacter fetus, Shigella boydii, Proteus mirabilis, Klebsiella sp., Escherichia coli. |
| 26 | Proteus vulgaris, Escherichia coli, Bacterias aromáticas. |
| 27 | Proteus mirabilis, Klebsiella sp., Escheri |

No. de Muestra	Bacteria Aislada
	chia coli.
28	Klebsiella sp., Escherichia coli.
29	Citrobacter sp., Escherichia coli.
30	Klebsiella sp., Escherichia coli.
31	Salmonella enteritidis, Escherichia coli.
32	Shigella disenteriae, Escherichia coli.
33	Escherichia coli.
34	Salmonella paratyphi A, Escherichia coli.
35	Campylobacter fetus, Escherichia coli.
36	Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Esche- richia coli.
37	Proteus rettgeri, Fermentadora lenta de - lactosa, Escherichia coli.
38	Escherichia coli.
39	Proteus mirabilis, Escherichia coli.
40	Shigella sonnei, Escherichia coli.
41	Shigella flexneri, Proteus mirabilis, Es- cherichia coli.
42	Proteus mirabilis, Proteus morgani, Citro- bacter sp., Escherichia coli.
43	Escherichia coli.
44	Escherichia coli.

No. de Muestra	Bacteria Aislada
45	Salmonella enteritidis, Escherichia coli.
46	Campylobacter fetus, Proteus mirabilis, Escherichia coli.
47	Proteus vulgaris, Escherichia coli.
48	Escherichia coli.
49	Proteus mirabilis, Escherichia coli.
50	Shigella flexneri, Klebsiella sp., Escherichia coli.
51	Proteus vulgaris, Escherichia coli.
52	Klebsiella sp., Escherichia coli.
53	Proteus vulgaris, Escherichia coli.
54	Campylobacter fetus, Proteus vulgaris, Escherichia coli.
55	Escherichia coli.
56	Salmonella paratyphi B, Escherichia coli.
57	Campylobacter fetus, Escherichia coli.
58	Escherichia coli.
59	Proteus mirabilis, Escherichia coli.
60	Enterobacter sp., Escherichia coli.

CAPITULO V.
DISCUSION Y CONCLUSIONES

DISCUSION Y CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos, nos podemos dar cuenta del alto índice y frecuencia con que se presen-tan microorganismos enteropatógenicos, aún en individuos de tan corta edad. Esto es debido principalmente, a los malos hábitos de higiene de parte de los padres o personas encargadas de su cuidado.

El 30% de las muestras revisadas fueron positivas para bacterias patógenas, además de las muestras en que se en-contraron parásitos que fue un 5% del total.

Otras bacterias como el género Proteus que son causan problemas en lactantes también se aislaron, el género Proteus se aisló de un 40% de las muestras en total.

Los organismos enteropatógenos encontrados, fueron - tanto bacterias y levaduras como también parásitos.

Si bien en hallazgo de levaduras en heces fecales no implica un problema patológico, estos organismos pueden ser causa de evacuaciones líquidas, sobre todo cuando aumentan en número, y se ha roto la relación normal que existe entre levaduras y bacterias, desarrollándose así una suprainfec-ción. Este tipo de problemas generalmente es debido a la ad-ministración de antibióticos que reducen o pueden llegar a suprimir la flora bacteriana normal.

La relación que se observó en estudios anteriores lle-vados a cabo utilizando muestras diarréicas de adultos en-tre los géneros Salmonella y Shigella con Campylobacter fetus, sólo se dio en un caso en este estudio y los otros 4 - casos donde el Campylobacter fetus fue aislado, esta bacte-ria fue la única probable de causar el cuadro patológico, -

por lo que se presume que fue este género de bacterias el -
causante de la enfermedad.

CAPITULO VI.

BIBLIOGRAFIA.

B I B L I O G R A F I A

Davis B.D., Dulbecco R., Eisen H.N., Ginsberg H.S.
Microbiology Including Immunology and Molecular Genetics.
Third Edition. 1980.
Harper & Row. Hagerstown.

B.B.L. Manual de Procedimientos de Laboratorio y de Productos.

Quinta Edición. 1974.

Editores Asociados, S.A. México.

Mac Faddin, J.F.

Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria.
1976.

The Williams & Wilkins, U.S.A.

Joklik, Willet, Amos.

Zinsser Microbiology

Décimo Séptima Edición. 1980

Appleton-Century-Crofts. New York.

Fuerst R.

Microbiología de Frobisher y Fuerst.

Décimocuarta Edición. 1981

Editorial Interamericana, México.

Sack R.B., Tilton R.C., Weissfeld A.S.

Laboratory Diagnosis of Bacterial Diarrhea. 1980

American Society for Microbiology. Washington D.C.

Branson D.

Métodos en Bacteriología Clínica. 1974

Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

Reference Laboratory

Clinical Insight; Campylobacter. 1980

A Damon Laboratory. Santa Bárbara, CA.

Davidsohn I., Henry J.B.

Todd-Sanford Diagnóstico Clínico por Laboratorio

Sexta Edición. 1979

Editorial Salvat. Barcelona España.