

25
2e



*Universidad Nacional Autónoma
de México*

*Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia*

*“Frecuencia de Campylobacter jejuni, Salmonella spp.
y parvovirus canino en perros con gastroenteritis en
la ciudad de México”*

T E S I S
*Que para obtener el título de
Médico Veterinario Zootecnista
p r e s e n t a*

BERTHA LOURDES BASURTO BORBOLLA



M.V.Z. Raúl Vázquez Martínez
M.V.Z. José T. Torres Montoya
M.V.Z. Juan Palacios Arriaga

México, D. F.

1988



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.

C O N T E N I D O

	<u>Página</u>
I Resumen	1
II Introducción	2
III Material y Métodos	13
IV Resultados	18
V Discusión	19
VI Conclusiones	23
VII Cuadros de resultados	24
VIII Literatura citada	27

RESUMEN

BASURTO BORBOLLA BERTHA LOURDES . Frecuencia de Campylobacter jejuni, Salmonella spp. y parvovirus canino en perros con gastroenteritis en la ciudad de México. (Bajo la dirección de MVZ Raúl Vázquez Martínez, MVZ José T. Torres Montoya y MVZ Juan Palacios Arriaga).

Con el propósito de contribuir al estudio de los principales agentes etiológicos involucrados en los problemas gastrointestinales de la especie canina, se eligieron 3 importantes agentes biológicos capaces de producir gastroenteritis en perros. Se muestrearon heces fecales de 50 perros con cuadro clínico de gastroenteritis, 62% con gastroenteritis de tipo hemorrágica. La edad de los animales fluctuó de 1 a 6 meses (64%), de 7 a 12 meses (14%) y mayores de 1 año (22%). El trabajo se orientó al aislamiento de Campylobacter jejuni, Salmonella spp. y la detección de hemoaglutininas parvovirales en heces. En 10% de los animales muestreados se aisló Campylobacter jejuni; en 2% Salmonella spp. y en 88% de las muestras solo se aisló flora bacteriana normal; se detectaron hemoaglutininas en 14% de las muestras, lo que significa que son sospechosas a parvovirus canino (PVC). No se detectaron dos o tres agentes en un mismo animal.

INTRODUCCION

Las enfermedades gastrointestinales son frecuentes en la práctica clínica de los caninos; estudios realizados en Estados Unidos han determinado que ocupan el segundo lugar en importancia (13,34,71).

La gastroenteritis es la inflamación causada por un agente etiológico que actúa directamente sobre la mucosa gastroentérica alterando su estructura e interfiriendo con la función celular (88).

Los mecanismos de homeostásis que el cuerpo emplea para evitar la invasión de microorganismos patógenos son: la microflora normal que impide la invasión de bacterias patógenas produciendo sustancias bactericidas; los movimientos peristálticos intestinales que arrastran en dirección caudal a los microorganismos patógenos; las inmunoglobulinas que se secretan en el intestino impidiendo la adherencia de agentes patógenos a la mucosa. Cualquier cambio en estos mecanismos de homeostásis permite la colonización de microorganismos patógenos produciéndose la enteritis (92).

Los agentes que pueden estar involucrados en la presentación de gastroenteritis en perros son muchos; se pueden mencionar algunas bacterias como Salmonella spp., Campylobacter jejuni, Escherichia coli enterotoxigénica; virus como Distemper canino, Coronavirus, Rotavirus y Parvovirus canino; hongos como Histoplasma capsulatum; parásitos intestinales como Ancylostoma caninum, Toxocara canis, Trichuris vulpis, Isospora spp., Giardia canis; drogas y químicos como los salicilatos, los antiinflamatorios, insecticidas, fertilizantes, metales pesados; enfermedades sistémicas como nefropatías, enfermedades hepáticas, inmunodeficiencias, malabsorción, neoplasias, stress fisiológico (4,6,7,8, 10,13,20,31,33,41,43,45,48,57).

La forma en que la mayoría de éstos agentes producen gastroenteritis es alguna o algunas de las siguientes : a) por la producción de enterotoxinas, algunas de las cuales se unen en una parte de la mucosa y activan el mecanismo secretorio adenilciclasa de la membrana basal celular, ésto hace que se produzca 3'5 adenosin monofosfato y se inicie la secreción de líquidos , prolongándose esta última por 2 a 5 días o hasta que la célula secretoria se descama y sea remplazada por nuevas células maduras que migran a las criptas; otro tipo de toxinas producen lisis celular . b) por la invasión a la mucosa o submucosa del agente etiológico, causando una reacción inflamatoria en el borde de cepillo destruyéndolo (92),

La enteritis que se produce generalmente es de tipo catarral, los cambios que se presentan son necrosis del epitelio y en ocasiones del estroma subyacente, hiperemia moderada e infiltración linfocítica moderada en las porciones mas profundas de la mucosa (88).

El signo primario de la gastroenteritis aguda es la diarrea, que puede aparecer acuosa, con moco, sangre o con alimento no digerido; además pueden presentarse signos como vómito, distensión y dolor abdominal, flatulencia, horborigmos, prurito anal, halitosis, estreñimiento, tenesmo, anorexia, depresión, pérdida de peso y deshidratación (92).

El diagnóstico de la gastroenteritis aguda generalmente se basa en la historia clínica y el exámen físico, pero cuando se requiere establecer un diagnóstico etiológico, es de gran utilidad un exámen coproparasitoscópico para buscar huevecillos de parásitos o protozoarios; un coprocultivo para detectar la presencia de bacterias patógenas; un exámen general de orina, hemograma, química sanguínea, pruebas de función intestinal, rayos X y endoscopia (13,92).

Los cambios morfológicos microscópicos postmortem pueden ayudar a identificar la etiología y patogenia de ciertos agentes involucrados en la gastroenteritis, sin embargo, hay que considerar que los procesos de autólisis se aceleran por bacterias y proteasas del lumen intestinal (92).

El pronóstico de la gastroenteritis dependerá del agente involucrado y de la prontitud con que se inicie la terapia apropiada (92).

La enfermedad causada por Campylobacter jejuni (C. jejuni), ha adquirido gran importancia en varias partes del mundo por su elevada frecuencia. Los aspectos epidemiológicos de la enfermedad en perros se han estudiado en varios países, sin embargo, en México los trabajos relacionados al respecto son escasos aún (10,14,15,30,35,42,61,64,78,96,98),

C. jejuni es un bacilo gram negativo, delgado y curvo que mide de 0.2 a 0.8 micras de ancho por 0.5 a 5 micras de largo, presenta uno o dos flagelos en los polos que le permiten tener un movimiento serpenteante o de dardo muy característico (55). Es microaerofílico, crece a temperatura de 42 °C es oxidasa y catalasa positivo y es el único en su género que hidroliza el hipurato (48,55).

Permanece viable en medios húmedos (heces, orina, leche y agua) a temperatura de 4°C durante 3 a 4 semanas y solamente 2 a 9 días en esos mismos medios a temperatura ambiente (98).

La clasificación del género Campylobacter fué establecida por Sebald y Veron en 1963 de la siguiente manera: (87).

GENERO	ESPECIE	SUBESPECIE
<u>Campylobacter</u>	<u>fetus</u>	<u>jejuni</u>
		<u>fetus</u>
		<u>intestinalis</u>
	<u>sputurom</u>	<u>bubulus</u>
	<u>sputorum</u>	
	<u>fecalis</u>	

En 1971 Cooper (28) logró el primer aislamiento exitoso del microorganismo a partir de las heces de individuos con enteritis, utilizando la técnica de filtrado de heces antes de su cultivo. En 1977 Skirrow (83) simplificó la técnica de filtrado utilizando en su lugar un medio de cultivo selectivo con antibióticos; a partir de entonces han aparecido diferentes aportaciones encaminadas a perfeccionar el aislamiento de éste difícil microorganismo; asimismo, recientemente se hacen ensayos para la aplicación de la prueba de ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) en el diagnóstico temprano de campilobacteriosis, ya que la prueba detecta anticuerpos séricos postinfección (14,42,60,73,80);

Actualmente C. jejuni es ampliamente reconocido como causa directa de enteritis y colitis no específica en humanos; en E.U.A y Canadá se aísla con mayor frecuencia que Salmonella ó Shigella (9,14,15,50,56,85).

C. jejuni se ha aislado de varias especies animales como perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, potros, pollos, ratones y conejos, observándose una amplia distribución geográfica y una marcada estacionalidad en los meses de verano (1,12,16,30,42,78,85,93,98).

La frecuencia de C. jejuni en perros con diarrea se ha estudiado en diversas partes del mundo, demostrándose que es causa frecuente de enteritis (10,11,26,35,37,51,64,78,94).

En el cuadro num. 1 se muestran los resultados de algunos trabajos en relación a la frecuencia de aislamiento de C. jejuni a partir de heces de perros sanos y perros con diarrea, la mayoría coincide al observar una mayor prevalencia en perros jóvenes, perros callejeros y época de lluvias (12,30,35,36,38,50,52,54,64,77,85,94,95,95,98).

Se ha inoculado a cachorros gnotobióticos con C. jejuni aislado a partir de heces de seres humanos y de perros enfermos, reproduciéndose una colitis erosiva superficial moderada (62,67).

La patogenicidad de C. jejuni en perros aún no está muy clara, aunque se sugiere que pudiera ser la misma que en humanos en quienes ejerce una acción invasiva citotóxica (10,62,85,98).

Los signos clínicos de campilobacteriosis incluyen diarrea acuosa con estrías de moco, con o sin sangre y leucocitos, de 3 a 7 días de duración; anorexia, tenesmo, vómito ocasional y fiebre ligera (14,26,29,40,55,62,67,76,86,94,98).

El diagnóstico de C. jejuni es posible mediante la observación directa en el microscopio de campo oscuro o de contraste de fases. El aislamiento del microorganismo a partir de materia fecal es algo lento, requiere de 2 a 5 días y se logra utilizando medio selectivo especial, condiciones de microaerobiosis (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) y temperatura de 42 °C (55).

Los pacientes tratados oportunamente con antibióticos se recuperan clínicamente y previene que éstos se conviertan en portadores de C. jejuni, ya que al parecer los animales infectados son una fuente de infección para el ser humano (39,55,56,85,98).

C U A D R O No. 1

Frecuencia de C. jejuni en perros sanos y perros con diarrea, descrita en diferentes países.

AUTOR	AÑO	PAIS	REF.	% FREC. SANOS	% FREC. DIARREA
Ackerman	1982	E.U.A.	1	15.4	- - -
Blaser <u>et al</u>	1980	E.U.A.	11	8.9	45
Bruce <u>et al</u>	1980	Inglaterra	12	39	4.5
Ferreira	1979	Brasil	35	0	5.5
Fleming	1980	Inglaterra	36	1.8	28.4
Fox	1983	E.U.A.	38	1.6	11.7
Holt	1980	Inglaterra	50	2.6	14
Hosie	1979	Escocia	52	6	8
Jorgensen	1981	Noruega	54	11.1	10.4
Mc Orist	1982	Australia	64	9.5	17.2
Patton <u>et al</u>	1981	E.U.A.	73	30	- - -
Prescott	1981	Canadá	77	0.5	0
Skirrow	1981	Inglaterra	85	49	- - -
Svedhen	1981	Suiza	93	5	- - -
Vandenberghe	1982	Bélgica	94	8	41.9
Vázquez	1986	México	95	11.6	- - -

La bacteria es sensible a un reducido grupo de antibióticos - tales como Eritromicina, Tetraciclina, Cloranfenicol y en mucho menor grado a las Penicilinas; mientras que es resistente a Sulfametoxtasole, Trimetroprim, Bacitracina y varios más (24)

Salmonella spp. es un bacilo gram negativo, móvil, facultativo, no utiliza la lactosa o la sacarosa, crece en medios selectivos a temperatura de 37 °C (22,23).

Stromberg (92) señala que en E.U.A. las especies de Salmonella aisladas con mayor frecuencia en perros son Salmonella typhimurium y Salmonella anatum. Según estudios realizados en diversas partes de E.U.A. existen un gran número de portadores asintomáticos (41,57,69).

La salmonelosis clínica cuando ocurre, generalmente es en animales con tensión, inmunodeprimidos o malnutridos (31,69,92).

Al parecer existe una prevalencia estacional en los meses fríos del año ; los perros provenientes de perreras comerciales son con más frecuencia positivos a salmonelosis que los que provienen de particulares (69).

La infección ocurre por contacto directo con perros infectados, agua contaminada con heces y animales reservorios (69,92).

El mecanismo de patogenicidad es por invasión epitelial con liberación de endo y exotoxinas que algunos serotipos producen, dando lugar a enteritis y septicemia (92).

Los signos clínicos asociados con salmonelosis son compatibles con los de campilobacteriosis o parvovirus; el cuadro que se presenta es agudo, en 48 hs ocurre pérdida de apetito, fiebre, heces progresivamente fluidas y melénicas, deshidratación y muerte; la presentación septicémica de salmonelosis puede presentarse simultáneamente con la enteritis (69,70).

En Inglaterra (85) se ha observado que la frecuencia de Salmonelosis en el ser humano, ha sido rebasada por C. jejuni; éste

mismo fenómeno parece observarse en perros con enteritis, Holt (50) realizó un muestreo en Inglaterra a 197 perros con enteritis y obtuvo 8.6% positivos a Salmonella spp. y 18.7% positivos a C. jejuni; ésto se puede explicar según Holt, porque Campylobacter es mucho mas resistente que Salmonella a elevadas temperaturas; además C. jejuni es capaz de producir una infección con un mínimo de microorganismos, mientras que para que se establezca una infección por Salmonella se requieren grandes cantidades de microorganismos.

El perro al igual que otras especies puede ser fuente de contagio para el ser humano (31,69,92,96).

Parvovirus canino (PVC)

El PVC pertenece a la familia parvoviridae, es un virus ADN, mide de 18 a 22 milimicras de diámetro, es desnudo e icosaédrico, resistente al éter, cloroformo, lípidos solventes y desinfectantes comunes, es estable a 56°C durante 30 min y es notablemente viable a temperatura ambiente, lo cual explica el alto grado de contagio en la población canina (4,20,32).

El PVC afecta principalmente el tracto gastroentérico y miocardio de perros susceptibles de cualquier edad, sexo y raza.

Los primeros reportes de la enfermedad producida por PVC ocurrieron en E.U.A. en 1978 (32).

La reproducción experimental fué posible en 1980 por Carman y Povey (17) luego de inocular por vía endovenosa 1000 unidades hemaglutinantes de PVC a cachorros de 4 semanas de edad ; el experimento se ha repetido por otros investigadores, obteniendo se diferentes grados de severidad (5,53,74,79).

La seroprevalencia de PVC en E.U.A. según Carmichael (20) en 1980 fué de 20 a 50 % dependiendo del área. En México, los primeros brotes de gastroenteritis hemorrágica y miocarditis asociada a PVC, fueron diagnosticados clínicamente en el D.F en -

1980; durante los meses de junio a octubre de ese mismo año - se examinaron 424 perros remitidos al Departamento de Patología de la FMVZ de la UNAM ; 10.6 % de ellos, presentaron a la necropsia lesiones sugestivas de una infección por PVC (91) .

En 1981 se hizo un muestreo serológico de perros no vacunados contra PVC ni contra Paulecopenia. Se muestrearon 193 perros, se encontraron 33 casos positivos (17.04%) de los cuales 26 fueron perros clínicamente sanos y 7 presentaron cuadro clínico de gastroenteritis hemorrágica (2).

Los primeros signos de la enfermedad aparecen 24 a 48 hs post-infección, iniciando con anorexia y depresión, fiebre, leucopenia de 100 a 2000 células/mm³ ; posteriormente se presenta vómito, heces fluídas de color gris o amarillento y en ocasiones con sangre, deshidratación leve o moderada, puede ocurrir shock y muerte del animal (4,5,75,79,90).

La vía de entrada es la oral, el virus inicia su replicación en tonsilas, entre el día 4 y 5 postinfección (p.i.) se inicia su distribución sistémica, en esta fase es cuando el virus podrá recuperarse de tejidos linfáticos, médula ósea, miocardio hígado y pulmón (63,74,79).

La presentación de ésta enfermedad en forma sistémica antes que intestinal se confirma por la aparición de la viremia el día 3 p.i. y la excreción viral en heces hasta el día 5 p.i. (18).

Las lesiones mas características se localizan en intestino delgado y consisten en atrofia de vellosidades y necrosis de las criptas, infiltración de células inflamatorias, depleción de tejido linfoide, pérdida de epitelio digestivo y superficie absortiva (75,89,90).

La excreción viral en heces alcanza su máxima concentración entre el día 5 y 7 p.i. y disminuye abruptamente después del día 7 p.i. (18,21,27) .

El nivel de anticuerpos es elevado cuando los signos clínicos son prominentes (3er día p.i.) pero el título máximo ocurre el día 7 p.i., persistiendo títulos mayores o iguales a 640 - unidades inhibitoras de hemoaglutinación (UIHA) durante 2 años (20,21,62).

El diagnóstico de parvovirus debe fundamentarse no solo en los signos clínicos, también en las siguientes pruebas de diagnóstico : a) Evaluación de la respuesta inmune (IgG, IgM), b) Detección del antígeno viral (hemoaglutinación, inmunofluorescencia), c) Cuenta leucocitaria, d) Lesiones histopatológicas , e) Aislamiento del virus y reproducción de la enfermedad (4,20,21,47,75,89).

Después de los primeros brotes de PVC ocurridos en nuestro país en 1980, una gran cantidad de casos de gastroenteritis - generalmente de tipo hemorrágica son diagnosticados clínicamente como parvovirus, sin embargo, es necesario hacer un diagnóstico mas profundo, para conocer mejor el comportamiento del virus en la población canina de nuestro país, ya que el aislamiento del virus en animales clínicamente sanos y la dificultad que existe para reproducir el cuadro clínico y las lesiones histopatológicas de la enfermedad, son factores que cuestionan la virulencia del virus; es por ello que se hace hincapie en la existencia de otros agentes biológicos y no biológicos capaces de producir gastroenteritis hemorrágica -- (5,17,72,74,79).

La existencia de inmunoglobulinas sérica y antígeno parvoviral en perros con gastroenteritis, no es razón suficiente - para afirmar que el PVC es el causante, por lo que se recomienda además, observar las lesiones histopatológicas compatibles con la infección parvoviral y de ser posible el aislamiento e identificación del agente viral para confirmar el diagnóstico (89).

Por lo anteriormente expuesto y por la similitud del cuadro clínico que presentan los agentes mencionados, el presente trabajo tuvo por objetivo determinar la frecuencia de aislamiento de C. jejuni, Salmonella spp y la detección de hemoaglutininas parvovirales en heces de pacientes caninos que presentaban un cuadro clínico de gastroenteritis aguda inespecífica. El propósito es contribuir al conocimiento de los diferentes agentes etiológicos involucrados con mayor frecuencia en las alteraciones gastrointestinales en los caninos y el papel patógeno que desempeña cada uno de los agentes estudiados .

MATERIAL Y METODOS

Se colectaron 50 muestras de heces fecales de perros con diagnóstico clínico de gastroenteritis, los animales muestreados eran pacientes de clínicas y hospitales de diferentes zonas de la ciudad de México. Para el muestreo se introdujo en el ano 2 hisopos estériles por animal, posteriormente trasladados en medio de Stuart, en condiciones de refrigeración en un lapso no mayor de 24 hs; la primera se llevó al Laboratorio de Bacteriología de la FMVZ y la segunda a los Laboratorios Biotell S.A. donde se mantuvieron a -20°C hasta su posterior utilización en la prueba de hemoaglutinación.

Para el aislamiento de C. jejuni se hizo una primer siembra en medio Butzler oxoide el cual se preparó con los siguientes elementos: Por cada 1000 ml de agua destilada se agregaron 30 g de agar base, 25000 Unidades internacionales (UI) de Bacitracina, 5 mg de Novobiocina, 50 mg de Cicloheximida, 15 mg de Cefalotina, 7000 UI *de Polimixina (Colistina) y 10-15% de sangre de bovino * (14)

Las muestras se sembraron por estría en el medio descrito arriba y se incubaron en condiciones de microaerobiosis utilizando un frasco con vela, temperatura de 42°C durante 48 hs (14,55).

Las colonias de C. jejuni son planas, grises, con borde irregular o elevadas, circulares y con apariencia mucóide; no son hemolíticas y miden 1 a 2 mm de diámetro (55).

Las colonias sospechosas se examinaron al microscopio de campo obscuro para observar la forma y movimientos característicos de la bacteria, posteriormente se procedió a hacer tinción con Gram debiéndose observar en el frotis bacilos gram negativos cortos o en forma de gaviota muy característicos.

Finalmente, éstas colonias sospechosas se resembraron en medio de gelosa sangre (DIFCO) para obtener un cultivo puro necesi-

* Modificado del método original.

rio para identificar a la bacteria, por medio de pruebas bioquímicas, de acuerdo a lo descrito por Kaplan (cuadro num. 2) (55).

Para el aislamiento de Salmonella spp. las muestras se sembraron simultáneamente en caldo selenito (DIFCO) y en agar McConkey (DIFCO). La siembra hecha en caldo selenito se incubó por espacio de 12 a 16 hs a 42°C; la siembra en agar McConkey se incubó durante 24 hs a 37°C. El cultivo en caldo selenito se sembró en agar McConkey e incubado 24 hs a 37 °C (23).

Las colonias sospechosas de Salmonella spp. son pequeñas, miden 2 a 3 mm de diámetro, son translúcidas, redondas y no fermentan la lactosa; al frotis son bacilos gram negativos; la identificación es con pruebas bioquímicas de acuerdo a lo descrito por Carter (23), como se señala a continuación :

Reacción en medio TSI	2,3,4
Indol	(-)
Citrato	d
Ureasa	(-)
Motilidad	(+)
Acido Sulfhídrico	(+)
V.P.	(-)
L.D.	(-)
P.D.	(-)

- V.P.= Voges-Proskaver
L.D.= Lisina descarboxilasa
P.D.= Fenil alaninadeaminasa
TSI= Triple azúcar hierro
d = diferentes tipos
(-) = Negativo
(+) = Positivo

C U A D R O No. 2

Identificación de las especies de Campylobacter de acuerdo a lo descrito por Kaplan (55)

ESPECIE	CREC42°C	OXIDASA	CATALASA	MOTILIDAD	*	**	AN	C
<u>C. jejuni</u>	+	+	+	+	-	+	S	R
<u>C. fetus</u>	-	+	+	+	-	+	R	
<u>C. sputorum</u>	-	+	-	+	+	+	-	-
<u>C. bubulus</u>	-	+	-	+	+	-	-	-
<u>C. fecalis</u>	-	+	+	+	+	+	-	-

CREC. = Crecimiento

* H₂S en TSI (Producción de ácido sulfhídrico en triple azú car hierro)

** Producción de ácido sulfhídrico en tira de papel acetato de plomo .

AN Acido Nalidixico

C Cefalotina

S Sensible

R Resistente

+ Positivo

- Negativo

- - - No especificado

Para la prueba de hemoaglutinación el procedimiento fué el siguiente :

a) Preparación de soluciones :

Solución amortiguadora de fosfatos (PBS) pH 7.0 .- 0.3 M de fosfato de sodio y 0.15 M de cloruro de sodio (46);

Solución amortiguadora de boratos (BBS) pH 9.0 .- 0.2 M de Cloruro de potasio y 0.2 M de hidróxido de sodio (46).

Solución Alsivers .- 4.2 g de cloruro de sodio, 8 g de citrato trisódico, 0.55 g de ácido cítrico y 20.5 g de glucosa (.10X) (65).

b) Preparación del virus :

El virus utilizado como control positivo fué PVC cepa 780916/LP cultivado en células de riñón felino (CRFK) en concentración de 1.0×10^4 TCID₅₀ (50% dosis infectante en cultivo de tejido) .

c) Preparación de muestras fecales :

Las muestras fecales se diluyeron 1/10 en BBS , luego se centrifugaron a 1000 rpm/10 min , el sobrenadante se decanta y es utilizado para la prueba de hemoaglutinación (21)

d) Preparación de glóbulos rojos :

Se colectaron 20 ml de sangre de un cerdo adulto sano, suspendiéndola inmediatamente en la solución Alsivers a partes iguales para evitar la formación del coágulo. Posteriormente se hizo un lavado de los glóbulos rojos con PBS que consistió en suspender sangre y PBS a partes iguales en un tubo de centrifuga; centrifugar a 1500 rpm/10 min, tirar el sobrenadante y resuspender el paquete de glóbulos rojos en PBS, centrifugar nuevamente y repetir 3 veces mas el lavado. Por último se hizo una

suspensión de glóbulos rojos y PBS a una concentración de 0.75% (v/v) (21).

e) Elaboración de la prueba :

La prueba se elaboró en tubos, se hicieron diluciones dobles a partir de la dilución 1/5 hasta 1/640, en un volumen de 0.5 ml, se agregó un volumen igual de glóbulos rojos, se agitaron los tubos en la gradilla y se mantuvieron a temperatura de 4°C durante 4 hs (21).

Se tuvieron 4 tubos controles, (2 positivos y 2 negativos). Los tubos control negativos contenían : Num 1 : glóbulos rojos y PBS . Num 2 : glóbulos rojos y BBS. En éstos controles deberá observarse SEDIMENTACION (21)

Los tubos control positivos contenían glóbulos rojos y virus PVC vivo modificado CRFK cepa 780916/LP. En éstos controles deberá observarse AGLUTINACION . (21).

La lectura e interpretación de la prueba se hace al observar la sedimentación o aglutinación de los tubos controles, lo cual generalmente ocurre en 4 hs (21).

El título de hemoaglutinación es expresado como el recíproco de la más alta dilución que muestre hemoaglutinación completa ,

RESULTADOS

De los 50 animales muestreados, 5 (10%) fueron positivos al - -
aislamiento de C. jejuni ; 1 (2%) fué positivo a Salmonella spp
y 7 (14%) mostraron título sospechoso de hemoaglutininas parvo-
virales.

Los datos del registro médico y el diagnóstico de laboratorio de
los animales muestreados aparecen en los cuadros 3 y 4 .

DISCUSION

La frecuencia de aislamiento de C. jejuni observada en éste -- trabajo (10%) es similar al observado por Holt (10.5%) (50) y ligeramente menor al promedio obtenido de los trabajos descritos en el cuadro num 2 (\bar{x} 11.6%), en éste cuadro se observan porcentajes desde 4.5% hasta 45% , ésto es porque la frecuencia de aislamiento de C. jejuni a partir de heces de perros en ferros, está condicionado a factores como la edad y habitad del animal, la época del año y la técnica de cultivo empleada para su aislamiento (10,36,50,52,85,95).

Los animales muestreados para éste trabajo fueron generalmente perros con dueño que habitaban en casa, pero que en algunos casos tenían acceso a la calle. Blaser y colaboradores (9) y Fleming (37), observaron una mayor prevalencia de C. jejuni en animales callejeros y animales que vivían en criaderos o en perreras comerciales; mientras que en animales que vivían en casa la prevalencia fué menor.

Respecto a la edad de los animales, Blaser y colaboradores (9) Fleming (37) y Fox y colaboradores (38) han observado una mayor frecuencia de C. jejuni en cachorros; en éste trabajo, el 80% de los animales positivos a C. jejuni eran de 1 a 6 meses de edad.

Los estudios epidemiológicos señalan que C. jejuni ocurre con mayor frecuencia en los meses de lluvia (9,10,36,39,52,54,56,62 85,95,98); el presente trabajo se realizó en los meses de marzo a junio (época seca) éste factor es importante y puede explicar el que se aislara en menos porcentaje de lo esperado.

Existen básicamente 3 medios de cultivo selectivos para el aislamiento de C. jejuni : Butzler (con 2 variantes), Campy-BAP y Skirrow (55). Patton y colaboradores (73) y Goossens y colabo-

radores (44), compararon la efectividad de los 3 medios y obtuvieron una mejor inhibición de la flora bacteriana y un mejor aislamiento de C. jejuni con el método de Butzler virion. El medio selectivo usado así como el método de microaerobiosis son variables que interfieren como las anteriores, en el aislamiento de C. jejuni.

En el presente trabajo se observó que C. jejuni puede estar asociado con enteritis en perros, especialmente en animales menores de 6 meses, por lo que debe ser considerado en la lista de diagnóstico diferencial en perros con gastroenteritis; no obstante, su papel como patógeno primario o de naturaleza oportunista en la presentación de enteritis en perros no está aún claro, ya que se desconoce el mecanismo subordinado por el cual C. jejuni al parecer induce la diarrea en algunos animales, mientras que otros eliminan al microorganismo en sus heces pero permanecen clínicamente normales.

Según lo descrito por Sansted (81), la infección por C. jejuni puede presentarse en forma sinérgica con parvovirus canino, sin embargo, en éste trabajo no se observó ninguna asociación entre ambos agentes.

La frecuencia de aislamiento de Salmonella spp. observada en éste trabajo fué 2 %, el cual es menor al obtenido por Holt (50) en 1980, de 197 perros con diarrea, obtuvo 8.6 % positivos a Salmonella spp., en Gran Bretaña, luego en el mismo lugar pero en 1983, Fox y colaboradores (38) de un total de 57 perros con diarrea obtuvieron 0 aislamientos de Salmonella spp. Sin embargo se sabe que existe un alto índice de portadores asintomáticos, según trabajos realizados con perros sanos pero con la infección latente y que representan un importante foco de diseminación en Norteamérica, Gran Bretaña y Australia (41,50,58,70,71). Los estudios epidemiológicos de la infección por Salmonella han encontrado que existe una mayor incidencia en los meses fríos del año, el presente trabajo se realizó en los meses cálidos (marzo a

a junio); asimismo, se ha encontrado una mayor incidencia de salmonelosis en perros provenientes de perreras comerciales que viven en condiciones de hacinamiento, y una menor incidencia en perros de casa como los de éste trabajo (69).

Salmonella representa aún un serio problema en bovinos, ovinos, cerdos, aves y muchas ~~mas~~ especies de animales incluyendo el ser humano; existen portadores con la infección latente; y es además un problema de salud pública; es por ello que se sugiere que su papel en la presentación de gastroenteritis en perros es importante y debe ser estudiado mas a fondo (41).

La frecuencia de animales sospechosos a PVC en éste trabajo - fué de 14 % utilizando la prueba de hemoaglutinación; éste porcentaje es similar al 13.4 % obtenido por Aguila (2) en 1982 , el cual trabajó con pruebas serológicas a perros aparentemente sanos provenientes de diferentes partes de la República Mexicana, y es un poco mayor si lo comparamos con 10.6 % de 424 animales estudiados que presentaron lesiones sugestivas de PVC, en México D.F. en 1980 (91).

De acuerdo a lo expuesto por Pollock y Carmichael (75), las muestras con títulos de hemoaglutinación (HA) mayores o iguales de $1/64$ se consideran positivas, siempre y cuando se correlacione con la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (IH), por lo tanto, solamente un caso (17) que mostró título de HA de $1/160$ podría considerarse positivo; los 6 restantes mostraron título de HA de $1/20$ hasta $1/40$ y se consideran sospechosos.

La prueba de HA detecta hemoaglutininas virales, sin embargo, ocurre con frecuencia la presencia de hemoaglutininas inespecíficas en pequeñas cantidades (títulos 32), lo cual debe considerarse cuando se interpreten los resultados de los casos sospechosos (21).

La vacunación contra PVC es una práctica que se ha incrementado desde hace algunos años en nuestro país; el virus de las vacunas

es activo modificado y por lo tanto, puede excretarse en heces, sin embargo, ésta excreción viral ocurre en títulos menores de 1/64 UHA (25); la prueba de HA es muy sensible pero poco específica y no detecta un virus patógeno de uno vacunal, es por ello necesario además la detección de anticuerpos específicos (IgM) y de ser posible hacer el cultivo celular a partir de muestras sospechosas para aislar el virus, así como observar las lesiones histopatológicas características de PVC(63).

En éste trabajo solamente uno de los animales que mostraron -- títulos de hemoaglutinación había sido vacunado recientemente contra PVC, su título fué de 1/20 UHA, por lo que podría interpretarse como título vacunal.

Una cantidad pequeña de virus puede ocasionar que éste se adsorba a receptores mucosos o celulares en heces, ocasionando la sedimentación en las primeras fases del proceso de centrifugado, con lo cual la prueba resulta negativa (21).

El virus se excreta en heces a partir del 4o. y 5o. día postinfección continuando hasta el día 7o., posteriormente decrece; es posible entonces, que en algunos animales el virus comenzara a excretarse en el momento del muestreo y por ello se observaron títulos bajos, por lo que hubiera sido mas significativo un muestreo diario, durante un determinado lapso de tiempo; para poder emitir un mejor juicio..

CONCLUSIONES

C. jejuni puede ser una causa de gastroenteritis en perros, especialmente en animales menores de 6 meses de edad, por lo que debe considerarse en la lista de diagnóstico diferencial de éste padecimiento.

Salmonella spp. parece tener poca importancia clínica en éste trabajo, no obstante, se sugiere que su participación en los padecimientos gastrointestinales en perros es mayor, por lo que son necesarios otros trabajos dirigidos a determinar el papel que actualmente desempeña Salmonella spp. en la población canina de México.

La sola presencia de gastroenteritis hemorrágica en perros no justifica el diagnóstico clínico de parvovirus, es necesario considerar otros agentes capaces de producir el mismo cuadro clínico.

La prueba de hemoaglutinación es sensible, sin embargo no es por sí sola, útil para establecer un diagnóstico definitivo, debe complementarse con la detección de anticuerpos específicos (IgM) y de ser posible el aislamiento viral y la observación de lesiones histopatológicas características.

- 24 -
C U A D R O No. 3

No.	SEXO	EDAD	VACUNA		CUADRO		DX. PRESUNTIVO DEL CLINICO	BACTERIA AISLADA	HEMOAGLUTINI NAS *
			P.V.C. NO	SI	GEH	GE			
1	H	6 m	X		X		Parvovirus	<u>C. jejuni</u>	-
2	M	2 m	X		X		Parvovirus	F.normal	-
3	M	5 m		X		X	Campilobact.	<u>C. jejuni</u>	-
4	M	5 A	X		X		Colitis cron	F.normal	-
5	M	9 m	X		X	X	Enteritis	F.normal	20
6	M	2 m	X		X	X	Enteritis	F.normal	-
7	M	7 m		X		X	Distemper c.	F.normal	-
8	M	4 m		X			Parvovirus	F.normal	-
9	H	2 m	X		X		Parvovirus	F.normal	-
10	M	2 m		X		X	Cambio alim.	F.normal	20
11	H	3 A		X		X	Stress lactac	<u>C. jejuni</u>	-
12	H	3 m	X		X	X	Distemper can	F.normal	-
13	H	8 m	X		X	X	Enterotomía	F.normal	40
14	H	3 m	X		X		Parvovirus	F.normal	-
15	H	5 A		X	X	X	Parasitosis	F.normal	-
16	H	3 m	X		X	X	Parvovirus	F.normal	-
17	M	4 m	X		X		Intoxicación	F.normal	160
18	M	4 m	X		X	X	Parasitosis	F.normal	-
19	M	4 m	X		X	X	Parasitosis	F.normal	-
20	H	3 m	X		X	X	Parasitosis	F.normal	-
21	H	1 A	X		X	X	Parasitosis	F.normal	-
22	M	3 m	X		X	X	Enteritis	<u>Salmonella</u>	-
23	M	3 m	X		X		Parvovirus	F.normal	-
24	M	2 A		X		X	Distemper	F.normal	-
25	M	2 A		X		X	Distemper	F.normal	-
26	M	2 m	X		X		Parvovirus	F.normal	-
27	M	3 A	X		X		Colitis	F.normal	-
28	H	5 m	X		X		Parvovirus	<u>C. jejuni</u>	-
29	M	6 A		X		X	Enteritis	F.normal	-
30	H	4 m	X		X	X	Distemper	F.normal	-
31	M	4 m		X		X	Distemper	F.normal	-
32	H	3 m	X		X		Parvovirus	F.normal	-
33	M	6 m		X		X	Enteritis	F.normal	-
34	M	3 A	X		X		Distemper	F.normal	-
35	M	4 A		X		X	Coccidiosis	F.normal	-
36	M	5 A		X		X	Enteritis	F.normal	-
37	M	2 m	X		X		Inges. vidrio	F.normal	-
38	H	5 m	X		X	X	Distemper	F.normal	-
39	H	5 A	X		X		Coccidiosis	F.normal	-
40	H	3 m	X		X	X	Prolapso	F.normal	-

DATOS DEL REGISTRO MEDICO DE LOS 50 ANIMALES
MUESTREADOS (Continúa sig. pag.)

C U A D R O No. 3

No.	SEXO	EDAD	VACUNA		CUADRO CLINICO	DX. PRESUNTIVO	BACTERIA AISLADA	HEMOAGLUTINI	
			NO	SI				NAS	*
			GEH	GE					
41	M	9 m	X		X	Parasitosis	F.normal		20
42	M	8 m	X		X	Parasitosis	F.normal		-
43	H	2 m	X		X	Parvovirus	F.normal		-
44	H	1 m	X		X	Destete	F.normal		20
45	M	2 A	X		X	Enteritis	F.normal		-
46	H	4 m	X		X	Parvovirus	F.normal		-
47	H	2 m	X		X	Parvovirus	<u>C. jejuni</u>		-
48	H	3 m	X		X	Parvovirus	F.normal		10
49	M	3 m	X		X	Parvovirus	F.normal		-
50	M	10m	X	X	X	Coccidiosis	F.normal		-

Código

No. = Número de muestra

P.V.C. = Parvovirus canino

DX = Diagnóstico

GEH = Gastroenteritis hemorrágica

GE = Gastroenteritis no hemorrágica

M = Macho

H = Hembra

m = meses

A = Años

- = No se observó reacción.

* = El resultado de esta prueba se expresa en Unidades hemoaglutinantes (UHA).

F = Flora bacteriana

C U A D R O No. 4

Agrupamiento de los animales muestreados

Descripción de grupo	Aislamiento C. jejuni	Bacteriano de <u>Salmonella spp.</u>	Tit.H.A. sospecho so de PVC.	Total (%)
CUADRO CLIN.				
GEH	3	0	2	22 (44%)
GE	2	1	5	28 (56%)
SEXO				
Hembras	4	0	3	21 (42%)
Machos	1	1	4	29 (58%)
EDAD				
1 a 6 meses	4	1	4	31 (62%)
Mas de 6 m	1	0	3	19 (38%)
VACUNADOS CONTRA PVC				
Si	2		1	16 (32%)
No	3	1	6	34 (68%)
TRAT. ABPM				
Si	1	0	3	20 (40%)
No	4	1	4	30 (60%)
TOTAL (%)	5 (10%)	1 (2%)	7 (14%)	50 (100%)

CODIGO

CLIN= Clínico

GEH = Gastroenteritis hemorrágica

GE = Gastroenteritis no hemorrágica

TRAT. ABPM = Tratamiento antibacteriano previo al muestreo

PVC = Parvovirus canino

LITERATURA CITADA

- 1.- Ackerman, J.L., Newcamer, C.E., Fox, J.G.: Intestinal carriage of Campylobacter fetus subesp. jejuni in laboratory animals. Lab. Anim. Sci., 32: 442 (1982).
- 2.- Aguila, T.H.M.: Determinación de anticuerpos contra parvovirus canino en sueros de perros en México. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1982.
- 3.- Appel, M.J.G., Cooper, B.J., Greisen, H., Scott, F., Carmichael, L.E.: Canine viral enteritis I. Status report on Corona and Parvo-like viral enteritides. Cornell Vet., 69: 123-133 (1979).
- 4.- Appel, M.J.G., Menier, P., Pollock, R.V.H.: Canine viral enteritis. Canine Practice, 7: 22 (1980).
- 5.- Azetaka, M., Hirasawa, T., Konishi, S. and Ogata, M.: Studies on canine parvovirus isolation, experimental infection and serologic survey. Jap. Jou. Vet. Sci., 43: 243-255 (1981).
- 6.- Barron, R.M.R.: Contribución al estudio de coccidiosis en perros de México. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1971.
- 7.- Benson, J.A.: Gastrointestinal reaction to drugs. Am. J. Dig. Dis., 16: 357 (1971).
- 8.- Binn, L.N.: Recovery and characterization of a corona virus from military dogs with diarrhea. Proc. 78th annual-meeting Am. Anim. Ass., 78: 359-366 (1974).
- 9.- Blaser, M.J., Berkowitz, I.D., La Force, F.M., Cravens, J., Reller, L.B. and Wang, W.L.: Campylobacter enteritis in clinical and epidemiological features. Annals of internal medicine, 91: 179-185 (1979).
- 10.- Blaser, M.J., Cravens, J., Wang, W.L.: Campylobacter enteritis associated with canine infection. The Lancet, 2: 979-981 (1978).
- 11.- Blaser, M.J., Parsons, R.B. and Wang, W.L.: Acute colitis caused by C. fetus subesp. jejuni, Gastroenterology, 78: 1448-1453 (1980).
- 12.- Bruce, D.Z.W. and Fleming, G.A.: Campylobacteriosis infections in cats and dogs. Vet. Rec., 107: 200-201 (1980).
- 13.- Burrows, C.F.: Chronic diarrhea in the dog. Vet. Clinics of North America. Small Animal Practice. 13: 521-540 (1983).
- 14.- Butzler, J.P., Skirrow, M.B.: Campylobacter enteritis. Clin. Gastroenterology. 8: 737-765 (1979).
- 15.- Butzler, J.P.: Campylobacter enteritis a new disease. Acta gastroenterológica, Bélgica. 44: 301-307 (1981).
- 16.- Caldwell, B., Walker, R., Stewart, S. and Coolbaugh, J.C. Simple adult rabbit model for campylobacter jejuni enteritis. Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Microbiol. New Orleans -

- p.42 1983 .
- 17.- Carman, P.S., Povey, R.C.: Experimental challenge of dogs with canine parvovirus. Vet. Rec., 107: 447 (1980).
 - 18.- Carman, P.S., Povey, R.C.: Pathogenesis of canine parvovirus-2 in dogs: hematology, serology, virus recovery, -- histopathology and antigen identification in tissues. Research in Vet. Sci., 38: 134-150 (1985) .
 - 19.- Carmichael, L.E., Joubert, J.C. Pollock, R.V.A.: A modified live canine parvovirus strain with novel plaque characteristics I . Viral attenuation and dog response. Cornell Vet., 71: 408-427 (1981).
 - 20.- Carmichael, L.E., Binn, L.N.: New enteric viruses in the dog. Advances in Veterinary Science, Comparative Medicine 25: 1-37 (1981) .
 - 21.- Carmichael, L.E., Joubert, J.C., Pollock, V.H.: Hemagglutination by canine parvovirus: serologic studies and diagnostic applications. Am. J. Vet. Res., 41: 784-791 (1980)
 - 22.- Carpenter, P.L.: Microbiología. Cuarta ed. Interamericana México 1979 .
 - 23.- Carter, G.R.: Bacteriología y Micología Veterinarias- Aspectos Esenciales. El Manual Moderno. México 1984
 - 24.- Chow, A.W., Patten, V., Bednorz, D.: Susceptibility of Campylobacter fetus to twenty-two antimicrobial agents. Antimicrobiol. Agents Chemother., 13: 416-418 (1978) .
 - 25.- Code of Federal Regulation. National Archives of United States 9a. ed. U.S.A. 1987.
 - 26.- Coolins, J.E., Libal, M.C.: Proliferative enteritis in two pups. J. Am. Vet. Med. Ass., 183: 886-889 (1983).
 - 27.- Cooper, B.J., Carmichael, L.E., Appel, M.J.G., Greise, H. Canine viral enteritis II Morfologics lesions in naturally occurring parvovirus infection. Cornell Vet. 69: 134-144 (1979).
 - 28.- Cooper, I.A., Slee, K.J.: Human infections by vibrio fetus Med. Jou. Aust., 1: 1263 (1971) .
 - 29.- Davies, P.A., Gebhart, C.J., Meric, S.A.: Campylobacter associated chronic diarrhea in a dog. J. Am. Vet. Med. Ass. 184: 469-471 (1984).
 - 30.- Dillon, A.R., Wilt, G.R.: Campylobacter species in the dog and cat. Veterinary clinics of North América. Small Animal Practice, 13: 641-651 (1983).
 - 31.- Ettinger, S.J.: Textbook of veterinary internal medicine Vol. II , W.B. Saunders Co. Philadelphia 1975 .
 - 32.- Eugster, A.K., Bendele, R.A., Jones, L.P.: Parvovirus infection in dogs. J. Am. Vet. Med. Ass., 173: 1340-1341 (1978) .
 - 33.- Euzéby, J.: Les coccidies parasites du chien et du chat, incidence, pathogeniques et epidemiologiques. Revue. Med. Vet., 131: 43-46 (1980).
 - 34.- Evans, J.M., Lane, D.R. and Hendy, P.G.: The profile of small animal practice. J. small anim. pract., 15: 595- 597 (1974).

- 35.- Ferreira, C.S., Ribeiro, V.L.S. and Ricciardi, I.D.: Campylobacter dogs and human enteritis. Vet. Rec., 105: 451 (1979).
- 36.- Fleming, M.P.: Incidence of campylobacter infection in - dogs. Vet. Rec., 107: 202 (1980).
- 37.- Fleming, M.P.: Association of campylobacter jejuni with enteritis in dogs. Current Microbiology., 8: 209-213 -
- 38.- Fox, J.G., Moore, R., Ackerman, J.L.: Campylobacter jejuni associated diarrhoea in dogs. J. Am. Vet. Med. Ass., - 183: 1430-1433 (1983).
- 39.- Fox, J.G., Moore, R., Ackerman, J.L.: Canine and feline campilobacteriosis: Epizotiology and clinical and public health features. J. Am. Vet. Med. Ass., 183: 1420-1424 (1983).
- 40.- Fox, J.G., Krakowka, S., Taylor, H.S.: Acute onset campylobacter associated gastroenteritis in adult Beagles. - J. Am. Vet. Med. Ass., 187: 1268-1270 (1985).
- 41.- Frost, A.J., Eaton, N.F., Gilchrist, D.L. and Moo, D.: The incidence of salmonella infection in the dog. Aust. Vet. J., 45: 109-110 (1969).
- 42.- García, M.M., Eaglesome, M.D., Rigby, C.: Campylobacters important in veterinary medicine. Vet. Bull., 53: 793-- 818 (1983).
- 43.- Gómez, D.R.: Contribución al estudio de la incidencia de Trichuris vulpis en perros del D.F. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México D.F. 1973
- 44.- Goossens, H., De Boeck, M., Butzler, J.P.: A new selective medium for the isolation of Campylobacter jejuni from human faeces. Eur. J. Clin. Microbiol., 2: 389-394 (1983)
- 45.- Guy, L.P.: Chronic disorders of the exocrine pancreas, - small bowel and large bowel. Vet. Clinics of North América. Small Animal Practice, 13: 541-549 (1983).
- 46.- Hale, L.J.: Biological laboratory data. Methuens Monographs on biological subjects. Melthued and Co. LTD London, England 1975.
- 47.- Hammond, M.N. and Timoney, P.J.: An electromicroscopic - study of viruses associated with canine gastroenteritis Cornell Vet., 73: 82-97 (1983).
- 48.- Harvey, S.M.: Hipurate hidrolisis by campylobacter fetus J. Clin. Microbiol., 11: 435-437 (1980).
- 49.- Hendrix, C.M. and Blagburn, B.L.: Common gastrointestinal parasites. Vet. Clinics of North América. Small Animal practice, 13: 627-645 (1983).
- 50.- Holt, P.E.: The incidence of campylobacter, salmonella - and shigella infections in dogs in an industrial town. Vet. Rec., 107: 254 (1980).
- 51.- Holt, P.E.: Role of campylobacter spp. in human and animal disease, a review. The Royal Soc. of Med., 74: 437-- 440 (1981).
- 52.- Hossie, B.D., Nicolson, T.B., Henderson, D.B.: Campylobacter infections in normal and diarrhoeic dogs. Vet. - Rec., 105: 80 (1980).

- 53.- Jansen, D.L., Bartz, C.R., Bush, M., Marchwicki, R.W., Grate, S.J., Montali, R.J.: Parvovirus enteritis in vaccinated juvenile bush dogs. J. Am. Vet. Med. Ass., **18**: 1225-1227 (1982).
- 54.- Jorgensen, K.: Prevalence of C. fetus subesp. jejuni in Danish dogs. Nor. Vet. Med., **33**: 42-45 (1981).
- 55.- Kaplan, R.L.: Manual of clinical microbiology. American Society for Microbiology. Third ed. 1980.
- 56.- Karmali, M.A., Fleming, M.B.: Campylobacter enteritis. Can. Med. Ass. J., **120**: 1525-1532 (1979).
- 57.- Kirk, R.W.: Terapéutica Veterinaria. Práctica Clínica en pequeñas especies Vol II Caps. 10 y 11 CECSA México D.F. 1980
- 58.- Koopman, J.P. and Jansen, F.G.: Salmonella in animals purchased for experimental studies. Tijdschr Diergeneesk. **98** 1111 (1973).
- 59.- Kramer, J.M., Meunier, P.C. and Pollock, R.V.H.: Canine parvovirus update. Vet. Med. Small Anim. Clin., **75**: 1541-1555 (1980).
- 60.- Luechtefeld, N.W., Reller, L.B., Blaser, M.J., Wang, W.L.: Comparison of atmospheres of incubation for primary isolation of C. fetus subesp. jejuni from animal specimens. - 5% Oxygen versus candle jars. J. Clin. Microbiol., **15**: 53-57 (1982).
- 61.- Leuchtefeld, N.W., Wang, W.L., Blaser, M.J., Reller, L.B.: Campylobacter fetus subesp. jejuni background and laboratory diagnosis. Lab. Med. **12**: 481-487 (1981).
- 62.- Macartney, L., McCandlish, I.A., Mashat, R.R., Thompson, H. Cornwall, H.J.: Natural and experimental enteric infections with Campylobacter fetus subesp. jejuni in dogs in Newell. Campylobacter, epidemiology, pathogenesis and Biochemistry. Hingman Mass. Press Inc LTD England 1981.
- 63.- Macartney, L., McCandlish, A.P., Thompson, H., Cornwall, H.J.C.: Canine parvovirus enteritis 2 : Pathogenesis. Vet. Rec., **115**: 453-460 (1984).
- 64.- Mc. Orist, S., Browning, J.W.: Carriage of Campylobacter jejuni in healthy and diarrhoeic dogs and cats. Aust. Vet J., **58**: 33-34 (1982).
- 65.- Merchant, D.J., Kahn, R.H., Murphy, W.: Handbook of cell and culture. Burgess Publishing Co. Minnesota E.U.A. 1964
- 66.- Meyer, E.A.: Giardia and Giardiasis. Advances in parasitology, **17**: 1-29 (1979).
- 67.- Michalák, M.D., Carney, A.J., Dozonis, R.R., Gilchrist, J. M. Perrault, J. and Sheedy, F.P.: C. fetus subesp. jejuni A cause of massive lower gastrointestinal hemorrhage. Gastroenterology, **79**: 742-745 (1980).
- 68.- Moad, M.E.: Contribución al estudio de parásitos gastrointestinales en animales domésticos del D.F. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México (1971).
- 69.- Morse, E.V., Duncan, M.A.: Canine salmonellosis. Prevalence, epizootiology, signs and public health significance. J. Am. Vet. Ass. **167**: 817-820 (1975).
- 70.- Nation, P.N.: Salmonella dublin, septicemia in two puppies. Can. Vet. J., **25**: 324-326 (1984).

- 71.- Osborne, A.D.: Bacteriological and pathological aspects - of diarrhea in the dog. J. Small Animal. Pract., 8: 117-121 (1967) .
- 72.- Parrish, C.R. and Carmichael, L.E.: Natural variation of canine parvovirus. Am. Ass. Adv. Sci., 230: 1046-1048 - (1985) .
- 73.- Patton, CH. M., Mitchell, S.W., Potter, M.E. and Kaufmann A.F.: Comparison of selective media for primary isolation of Campylobacter fetus subesp. jejuni. J. of Clin. Microbiology, 13: 326-330 (1981) .
- 74.- Pollock, R.M., Baker, J.A.: Experimental canine parvovirus infection in dogs. Cornell Vet. 72: 103-119 (1982) .
- 75.- Pollock, R.V.H. and Carmichael, L.E.: Canine viral enteritis. Vet. Clinics of North America. Small Animal Practice, 13: 551-556 (1983) .
- 76.- Prescott, J.F. and Barker, I.K.: Campylobacter colitis in gnotobiotic dogs. Can. J. Comp. Med. 45: 377-383 (1981).
- 77.- Prescott, J.F., Bruin, M.C.W.: Carriage of campylobacter jejuni in healthy and diarrhoeic animals. Am. J. Vet. Res. 42: 164-165 (1982) .
- 78.- Prescott, J.F., Monroe, D.L.: Campylobacter enteritis in - man and domestic animals. J. Am. Vet. Med. Ass., 181: 1524-1530 (1982) .
- 79.- Robinson, W.F., Wilcox, G.E., Flower, R.L.P.: Canine parvo viral disease: Experimental production of the enteric form with parvovirus isolated from a case of myocarditis. Vet. Path. 17: 589-599 (1980) .
- 80.- Rogol, M., Shpak, B.: Enrichment medium for isolation of - isolation of campylobacter jejuni. Appl. Environ. Microbiol 50: 125-126 (1985) .
- 81.- Sandsted, K. and Wierup, M.: Concomitant occurrence of campylobacter and parvovirus in dogs with gastroenteritis. -- Current Microbiology. 8: 209-213 (1983) .
- 82.- Senda, M., Hirayama, N. and Yamamoto, H. and Kurata, K.: _ An improved hemagglutination test for study of canine parvovirus. Vet. Microbiol. 12: 1-6 (1986) .
- 83.- Skirrow, M.B.: Campylobacter enteritis a new disease. Br.-Med. J. 2: 9-11 (1977) .
- 84.- Skirrow, M.B.: Campylobacter enteritis in dogs and cats. A new zoonosis. Vet. Res. Comm. 5: 13-19 (1981).
- 85.- Skirrow, M.B.: Campylobacter epidemiology, pathogenesis - and biochemistry. Lancaster MTP Press LTD England 1982 .
- 86.- Slee, A.: Haemorrhagic gastroenteritis in a dog. Vet. Rec.-104: 14 (1979) .
- 87.- Smibert, R.M.: The genus campylobacter. Ann. Rev. Microbiol 32: 673-709 (1974) .
- 88.- Smith, H.A., and Jones, T.C.: Patología Veterinaria UTEHA - 2a. ed México 1980 .
- 89.- Soto, M.A.: Lesiones histopatológicas y su posible asociación con la infección por parvovirus canino (PVC). Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México . México 1986

- 90.- Stann, S.E., Ronald, F., DiGiacomo, V.M.D.: Clinical and pathological features of parvovirus diarrhea in pound - source dogs. J. Am. Vet. Med. Ass., 185: 651-655 (1984).
- 91.- Stephano, H.A.: Epizotia de enteritis viral canina en México, posible infección por parvovirus. Vet. Mex., 11: 141-147 (1980).
- 92.- Strombeck, D.R.: Small Animal Gastroenterology. Stonegate Publ. Co. Davies California (1979).
- 93.- Svedhen, A. and Kaijser, J.: Isolation of campylobacter jejuni from domestic animals and pets, probable origen - of human infection. Journal of infection, 3: 37-40 (1981)
- 94.- Vandenberghe, J., Lawer, S. and Plehier, P. and Hoorens, J.: Campylobacter jejuni related with diarrhoea in dogs. Br. Vet. J., 138: 356-361 (1982).
- 95.- Vázquez, M.R., Millé, L.: Aislamiento de C. jejuni a partir de perros callejeros. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. SARH-UNAM p 267 (1986).
- 96.- Voigt, A. and Klaine, F.D.: Zoonosis. Acribia, Zaragoza España 1975.
- 97.- Wright, E.P.: The occurrence of campylobacter jejuni in - dog faeces from a public park. J. Hyg. Camb., 89: 191-194 (1982).
- 98.- Zambrano, R.D.: Historia natural de la enfermedad causada por Campylobacter fetus subesp. jejuni, como zoonosis, estudio recapitulativo. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México 1985