

A
24.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO A
16 AGENTES ANTIMICROBIANOS CONTRA
Campylobacter fetus subespecie jejuni - subespecie coli

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

PATRICIA BOUCHAN VALENCIA

FALLA DE ORIGEN



DIRECTORES DE TESIS:
DR. JORGE TANAKA KIDO
Q.F.I. ANDREA A. BECERRIL OSNAYA



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.

	Pàg.
Lista de Abreviaturas	1
Lista de Cuadros	2
Lista de Tablas	3
Lista de Esquemas y Figuras	6
1. I N T R O D U C C I O N	8
2. Planteamiento del Problema	11
3. G E N E R A L I D A D E S	12
3.1. <u>Campylobacter jejuni</u> y <u>Campylobacter coli</u>	12
3.1.1. Taxonomía	14
3.1.2. Caracterización Morfológica	19
3.1.2.1. Descripción General	19
3.1.2.2. Membrana Exterior y Pared Celular	19
3.1.2.3. Flagelo	25
3.1.2.4. Producción de Toxinas	25
3.1.2.5. Plásmidos	26
3.1.3. Caracterización Microbiológica	26
3.1.3.1. Generalidades	26
3.1.4. Serotipificación	31
3.1.5. Importancia Clínica	32
3.1.6. Patogénesis	35
3.1.7. Invasión	35
3.1.7.1. Respuesta Inmune	36
3.1.8. Epidemiología	36
3.1.9. Tratamiento	37
3.2. <u>Susceptibilidad</u>	39
4. O B J E T I V O S	49

5. MATERIAL Y METODOS.

5.1. Material	50
5.1.1. Material Biológico	50
5.1.2. Medios de Cultivo de Recuperación y Mantenimiento de la Viabilidad de las cepas de <u>Campylobacter</u>	50
5.1.3. Reactivos	52
5.1.4. Material de Vidrio e Instrumentos	53
5.2. Métodos	54
5.2.1. Recuperación de la viabilidad de las Cepas de <u>Campylobacter</u>	54
5.2.2. Realización del "overnight" para las Cepas de <u>Campylobacter</u>	55
5.2.3. Dilución Seriada en Placa	61

6. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS.

6.1. Viabilidad de las Cepas de <u>Campylobacter</u>	65
6.2. Realización del "overnight" para las Cepas de <u>Campylobacter</u>	65
6.3. Susceptibilidad a los agentes Antimicrobianos	73

7. DISCUSION	81
8. CONCLUSIONES	84
9. BIBLIOGRAFIA	86

L I S T A D E A B R E V I A T U R A S .

- 1. C. jejuni Campylobacter jejuni.
- 2. C. coli Campylobacter coli.
- 3. subsp. subespecie.
- 4. GI Gastrointestinal.
- 5. GU Genitourinario.
- 6. IgM Inmunoglobulina M.
- 7. IgA Inmunoglobulina A.
- 8. IgG Inmunoglobulina G.
- 9. CJT Toxina de Campylobacter jejuni
- 10. CT Toxina de Cholerae.
- 11. Medio S-T Medio Soya-Tripticasa.
- 12. Medio W-C Medio Wilkins-Changred.
- 13. Medio Thio Medio Thioglicolato.
- 14. CIM₅₀ Concentraci3n Inhibitoria M3nima cincuenta.
- 15. CIM₉₀ Concentraci3n Inhibitoria M3nima noventa.
- 16. °C. Grados Cent3grados.
- 17. TMP - SMX Trimetoprim-sulfametoxazol.
- 18. ug microgramos.
- 19. ml mililitros.
- 20. R. de D3sis Rango de D3sis.
- 21. nm nan3metros.
- 22. mg miligramos.
- 23. CIM Concentraci3n Inhibitoria M3nima.
- 24. NCCLS National Committe for Clinical Laboratory Standard.

L I S T A D E C U A D R O S .

	Pàg.
I. Propiedades Farmacológicas de Algunos Agentes Antimicrobianos Aminoglucósidos y Tetraciclina...	48
	bis 1
II. Propiedades Farmacológicas de Algunos Agentes Antimicrobianos Beta-Lactámicos	48
	bis 2
III. Curva de Calibración Experimental del Nefelómetro Estándar de Mc. Farland	59
IV. Curva de crecimiento Experimental a 4 Cepas - de <u>Campylobacter</u> en 4 medios de Cultivo Diferentes	69
V. Incremento del Desarrollo de 5 Cepas de <u>Campylobacter</u> en medio Soya-Tripticasa modificado 2	71
VI. Medición del pH a 2 Agentes Antimicrobianos a Diferentes Concentraciones después de Incubación a 37°C por 48 horas.	72

L I S T A D E T A B L A S .

Tabla	Pàg.
1. Agentes Comunmente asociados con diarreas (23)	10
2. <u>Campylobacter</u> Catalasa-positiva <u>Campylobacter</u> Catalasa-negativa	16
3. Clasificación del género <u>Campylobacter</u> (9,30,59,68)	17
4. Sinónimos empleados en el pasado para el género <u>Campylobacter</u> (9,59)	18
5. Características Diferenciales de las Especies de el Género <u>Campylobacter</u>	29
6. Características Adicionales de las Especies y Subespecies del Género <u>Campylobacter</u>	30

Tabla

7.	Signos y Síntomas producidos por <u>Campylobacter jejuni</u> y <u>Campylobacter coli</u>	34
8.	Estándar de Concentración Inhibitoria Mínima ug/ml a tres Categorías de Susceptibilidad	76
9.	Número y Por Ciento de Cepas de - <u>Campylobacter jejuni</u> <u>Campylobacter coli</u> Sensibles a 16 Agentes Antimicrobianos medidas por el Método de Concentración Inhibitoria Mínima - (CIM ug/ml)	77
10.	Concentración Inhibitoria Mínima ₅₀ Concentración Inhibitoria Mínima ₉₀ de 51 Cepas de <u>Campylobacter jejuni</u> y <u>Campylobacter coli</u> a 16 Agentes Antimicrobianos	78

Tabla

11. Número de Cepas de <u>Campylobacter jejuni</u> y <u>Campylobacter coli</u> Susceptibles a Diferentes Concentraciones de 16 Agentes Antimicrobianos, medidas por el Método de Concentración Inhibitoria Mínima	79
12. Por Ciento de Cepas de <u>Campylobacter jejuni</u> y <u>Campylobacter coli</u> Sensibles a Diferentes Concentraciones de 16 Agentes Antimicrobianos medidas, por el Método de Concentración Inhibitoria Mínima	80

L I S T A D E F I G U R A S Y E S Q U E M A S .

Figura.	Pàg.
1. Representaciòn Morfològica de <u>Campylobacter</u> en Forma de S, alas de gaviota, coma y Forma cocoide Mediante la Tècnica de Tinciòn de Gram	21
2. Representaciòn Esquemàtica de la Pared Celular de las Bacteria Gram-negativas	23
3. Representaciòn Esquemàtica de la Estructura General de los Lipopolisacàridos	24
4. Difusiòn de las Enfermedades por <u>Campylobacter</u> (35)	38

Pàg.

Esquemas

1. **Diagrama de Flujo: Recuperación de la viabilidad de las Cepas de Campylobacter** 60

2. **Diagrama de Flujo: Prueba de Susceptibilidad** 64

1. INTRODUCCION .

La elevada prevalencia de las infecciones gastrointestinales (diarreas), son causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo (11,27,49), constituyendo uno de los principales problemas de salud pública en los países en vías de desarrollo (11,23,27,49), incluyendo México, haciendo necesario el estudio de su etiología con la finalidad de hallar su prevención y control.

Las diarreas se encuentran asociadas en la mayoría de los casos con agentes bacterianos, virales, parasitarios y micóticos (23), - Tabla 1 -. Entre los agentes causales implicados e identificados con mayor frecuencia en niños de la Ciudad de México están: Escherichia coli (enterotoxigénica, enteropatogénica y enterohemorrágica), Rotavirus, algunas especies de Salmonella, algunas especies de Shigella, Campylobacter jejuni y Campylobacter coli(23,62); representando alrededor del 80% de todas las causas de origen infeccioso (23,49) principalmente en hospitales, donde son capaces de provocar cuadros epidémicos o esporádicos (36,49).

Los antecedentes epidemiológicos, el cuadro clínico y los exámenes de laboratorio son importantes para establecer un diagnóstico presuntivo de la etiología de la diarrea, siendo la única forma de establecer un diagnóstico real de la misma, el aislamiento del microorganismo causante.

En principio es conveniente dejar establecido que en la mayoría de los cuadros gastrointestinales, no deben emplearse antimicrobianos y solo en casos seleccionados o específicos se uti

lizan. Tal es el caso en los recién nacidos con diarreas bacterianas donde es justificado su empleo, debido al riesgo de diseminación a partir del foco digestivo (23,49).

En la actualidad las infecciones por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, han cobrado gran importancia como productores de infección gastrointestinal, así como de una variedad de enfermedades sistémicas. En la diarrea por Campylobacter, es importante recalcar que no se justifica el uso de agentes antimicrobianos, y sin embargo en casos especiales como en lactantes desnutridos con diarreas crónicas, que condicionan al mal estado, al desequilibrio hídrico y/o electrolítico que afectan el desarrollo y crecimiento del paciente, y a pacientes inmunocomprometidos, sí se justifica su uso (23,49).

La susceptibilidad o resistencia, que manifiesta Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, tiene gran importancia ya que ambos modifican considerablemente su respuesta a los agentes antimicrobianos empleados en la clínica, originando de esta manera un serio problema terapéutico (72 bis).

Esta situación a motivado ha determinar el patrón de susceptibilidad de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli a los agentes antimicrobianos empleados en la clínica.

T A B L A 1

Agentes Comumente asociados con diarreas (23).

Agentes Bacterianos

Campylobacter jejuni - Campylobacter coli.
Salmonella spp. - no typhi.
Shigella spp.
Escherchia coli. (grupos específicos)
Yersinia enterocolitica.
Vibrio cholerae, Vibrio parahaemoliticus.
Aeromonas hydrophila, Pleisomonas shigelloides.
Clostridium difficile, Clostridium perfringens tipo A.
Staphylococcus aureus.
Bacillus cereus.
Pseudomonas spp.

Agentes Parasitarios.

Entamoeba histolytica.
Giardia lamblia.
Helmintos.
Criptosporidium muris.

Virus.

Rotavirus.
Pararotavirus.
Coronavirus.
Adenovirus. tipo 3,4,7.
Coxsackievirus.
Parvovirus.
Agente de Norvolk.
Agente Hawaii.

Agentes micóticos.

Candida albicans.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Recordando que en las diarreas infecciosas agudas producidas por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli tienen una tendencia semilimitada por sí misma. El tratamiento antimicrobiano sólo está indicado en condiciones muy especiales dado el riesgo que implica el uso de estos agentes antimicrobianos y el hecho de que en la mayoría de las ocasiones no es efectivo pudiendo inclusive prolongar la duración de la infección o favorecer superinfecciones.

Así mismo, la rapidez y extensión de la aparición de resistencia de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, ha sido relacionado con el empleo de un agente antimicrobiano particular en un ambiente específico tal como en un hospital y puede ser explicado por la supervivencia de cepas resistentes, ya que la susceptibilidad puede variar de una cepa a otra y de un agente antimicrobiano a otro, y la variación es especialmente con la eritromicina que es el agente antimicrobiano de elección para su tratamiento.

Por lo que la prueba de susceptibilidad a los diferentes agentes antimicrobianos usados en la terapéutica clínica debe realizarse por medio de estudios adecuados, selectivos y confiables para establecer un tratamiento específico y adecuado para dicho organismo.

3. GENERALIDADES.

3.1. Campylobacter jejuni y Campylobacter coli.

Desde principios de siglo las bacterias del género Campylobacter han sido reconocidas como patógenos, asociados principalmente con una variedad de enfermedades en animales. Mc Fadyean en 1913, los consideró como causa de abortos durante la epizootia que se presentó en la Gran Bretaña. Theobald Smith en 1918, al igual que Mc Fadyean, implica a este género de microorganismos en las enfermedades de ovinos y bovinos relacionándolos principalmente con abortos infecciosos bovinos (9,31, 55,59,67,77). Más tarde Smith y Taylor en 1919, aislaron estos microorganismos de fetos bovinos abortados, a los que denominaron Vibrio fetus (67).

Smith y Orcutt en 1927, aislaron unos vibrios microaerofílicos de cultivos de hígado y bazo de terneros con diarrea, que difieren serológicamente de Vibrio fetus y especularon que podrían parecerse a los causantes de la enteritis bovina (67).

Jones y cols., estudiaron el papel de los vibrios microaerofílicos en enteritis bovina y publicaron una relación entre los microorganismos y la disenteria de invierno en el ganado vacuno. Ellos notaron que las cepas de los carneros con enteritis presentaban ciertas diferencias morfológicas tales como: largo, número de espirales y para algunos la extensión de la profundidad de los espirales parecidos a Vibrio fetus, considerándolos un grupo relativo. Jones llamó a estas cepas de terneros con enteritis como Vibrio jejuni (9,67).

Fue en 1940 el más significativo desarrollo de la asociación de los vibrios microaerfílicos con enfermedad humana. -- Boyle en 1944, aisló ciertos microorganismos parecidos a los -- vibrios microaerfílicos, en ganado porcino con disenteria y -- los llamo Vibrio coli. Levy en 1946, describió una gran variedad de personas con gastroenteritis, siendo aislados vibrios -- microaerfílicos de cultivos y en frotis de evacuaciones, identificándolos como Vibrio jejuni. Vinzent y cols., en 1947, reportaron las primeras infecciones reconocidas en humanos, quienes las refirieron a un caso de septicemia consecutivo a un -- aborto durante el curso de una enfermedad febril, describiendo dos casos de naturaleza similar por Vibrio (9,77).

Durante las décadas de los años 40s y 50s, los veterinarios han referido al género Campylobacter fetus como causa de infección, abortos, septicemias y otras enfermedades graves de los animales domésticos, incluyendo enteritis en ganado vacuno, carneros, cerdos y aves (9,55,66).

Elizabeth King en 1957, describió varios casos de diarrea (gastroenteritis) en humanos ocasionados por unos microorganismos a los que denominó "vibrios relativos", siendo estos aislados de recién nacidos y de niños con diarrea a partir de cultivos de sangre, siendo ella la primera en realizar estudios más detallados de dichas cepas de origen humano, sugiriendo que -- dichos "vibrios relativos", son idénticos a los Vibrio jejuni definidos por Jones en 1931 y por Doyle en 1944 (9,30,31,66,).

3.1.1. TAXONOMIA.

La taxonomía del género Campylobacter tuvo confusión en - pasado, inicialmente fue clasificado como "Vibrios microaerofílicos", dicha designación fue realizada en base a sus características morfológicas similares a Vibrio cholera.

Hace pocos años aún existía una considerable confusión y contradicción acerca de la nomenclatura y clasificación de las especies del género Campylobacter.

Fueron Sebal y Veron en 1963, quienes propusieron un nuevo término generico Campylobacter para estos microorganismos, conocidos como especies de Vibrio fetus. El nombre es derivado del griego *Καμπυλος* y *Βακτηρια* que significa curvo y bacteria respectivamente (9,30,31,55,59,66). En los años 70s, hubo un significativo progreso en cuanto a la clasificación de los miembros del género Campylobacter. Veron y -- Chatelain en 1973, reclasificaron a los Vibrios fetus como -- Campylobacter fetus y a los "Vibrios relacionados" como Campylobacter jejuni y Campylobacter coli (9,31,24,59). Entre las razones más importantes para la reclasificación están las características bioquímicas de este género, los verdaderos Vibrios son aerobios facultativos, producen ácido a partir de un metabolismo fermentativo y tienen un contenido de guanina + citosina de 40-53 moles %, en cambio las cepas de Campylobacter son microaerofílicas o anaerobias, no producen ácido a partir de carbohidratos y presentan un contenido de guanina + citosina de 28-39 moles % (9,55).

En la actualidad existen alrededor de una docena de especies y subespecies reconocidas del género Campylobacter, sien-

do conveniente el separarlas en dos amplios grupos: Los Campylobacter Catalasa-positiva y los Catalasa-negativa. El uso de esta prueba es de gran utilidad taxonómica en la clasificación de los Campylobacter, la cual fue reportada por Bryner -- Frank en 1955. Esta clasificación se resume en la Tabla 2 (9, 25).

La clasificación de las especies de Campylobacter que actualmente tiene mayor aceptación es la del Manual de Determinación Bacteriológica Bergey's 9a edición, de acuerdo con la -- "List of Approved Names", la cual se resume en la Tabla 3 (9, 30, 59, 68). En la tabla 4 se esquematizan los sinónimos usados en el pasado (9, 59).

J. L. Penner en 1987 (55), incluye en su publicación 14 - especies del género Campylobacter. Algunas especies son ya reconocidas y otras están en observación, indicando que ellas -- fueron propuestas, pero no han sido reconocidas por la publicación en el "International Journal of Systemic Bacteriology" -- y/o por inclusión en la "List of Approved Names".

T A B L A 2

Campylobacter Catalasa-positiva

Campylobacter Catalasa-negativa

C. fetus subsp. fetus.

C. fetus subsp. venerealis.

C. jejuni.

C. coli.

C. fecalis.

Grupo NARTC.

Campylobacter sp. aerotolerantes.

C. sp. fijadores de Nitrógeno.

C. sp. de vida libre.

C. sputorum subsp. sputorum.

C. sputorum subsp. bubulus.

C. sputorum subsp. mucosalis.

C. = Campylobacter.

NARTC = Campylobacter termofílicos
Ácido Nalidíxico-resistentes.

T A B L A 3.

Clasificación del género *Campylobacter* (9,30,59,68).

Manual de Bergey's	Ecología	Enfermedad
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i> .	No es flora normal se ha encontrado en semen, lig. prepucial, moco cervical de bovinos. No se desarrolla en el tracto GI de humanos y animales.	Enzootias de abortos y esterilidad en el ganado. Transmisión venérea y No se asocia con enfermedades en humanos.
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>intestinalis</i> .	No es flora normal se ha encontrado en placentas - se desarrolla en bilis, - tractos GI, GU, de animales y humanos.	Causa abortos en carneros y bovinos, transmisión oral. Causa enfermedad sistémica en humano.
<i>Campylobacter jejuni-coli</i>	Flora GI normal en carneros, bovinos, gatos, aves. Crece en el tracto GI de animales y humanos.	Causa abortos en carneros y bovinos, enteritis en ganado. Enteritis en humanos sepsis ocasional y enfermedades sistémicas.
<i>Campylobacter sputorum</i> subsp. <i>sputorum</i> .	Flora normal en humanos.	No se describe.
<i>Campylobacter sputorum</i> subsp. <i>bubulus</i> .	Flora saprófita en tracto GU de carneros y bovinos.	No se describe.
<i>Campylobacter fecalis</i>	Heces en carneros, tracto GU de bovinos.	No se describe.

T A B L A 4.

Sinónimos empleados en el pasado para el género Campylobacter.
(9,59).

Manual de Bergey's	Veron y Chatelain (1973)	Elizabeth King (1957).	Florent y Jones (1959 y 1931 resp.).	Smbert. (1974).
Campylobacter fetus subsp. fetus	C. fetus subsp. fetus	Vibrio fetus	Vibrio fetus var. intestinalis. (Florent).	C. fetus subsp. intestinalis.
Campylobacter fetus subsp. venerealis.	C. fetus subsp. venerealis.	Vibrio fetus	Vibrio fetus var. venerealis. (Florent).	C. fetus subsp. fetus.
Campylobacter jejuni	C. jejuni	"V. relativos"	Vibrio jejuni (Jones).	C. fetus subsp. jejuni.
Campylobacter coli.	C. coli.	"Vibriosis relativos".	No descrito.	No descrito.
Campylobacter sputorum subsp. sputorum.	C. sputorum subsp. sputorum.	No descrito.	No descrito	No descrito.
Campylobacter sputorum subsp. bubulus.	C. sputorum subsp. bubulus.	No descrito.	Vibrio bubulus	No descrito.
Campylobacter sputorum subsp. mucosalis	No descrito	No descrito	No descrito.	No descrito.
<u>Campylobacter mucosalis.</u>				

C = Campylobacter.

V. = Vibrio.

3.1.2. CARACTERIZACION MORFOLOGICA.

3.1.2.1. Descripción General.

El género Campylobacter, es clasificado dentro de la Familia Spirillaceae. Estos microorganismos son Bacilos Gram-negativos, delgados y curvos de 0.2-0.5 um por 0.5-5.0 um. A veces se ven bacilos de largos espirales que pueden llegar a medir 8.0 um. Las células en cultivos jóvenes presentan una forma de: S, de alas de gaviota o de coma, en los cultivos viejos pueden adoptar una forma cocoide la cual representa una forma degenerativa no viable -Fig. 1- (2,15,17,35,41,46,55,59,67). Son móviles debido a un sólo flagelo polar, que se encuentra en uno (monotrico) o en ambos extremos de la célula (anfotrico) (55). Sus movimientos son giros rápidos en espiral, esta movilidad puede ser observada bajo microscopio de campo oscuro (51,55), la medida del flagelo tiene el doble o triple del largo de las células (67).

3.1.2.2 Membrana Exterior y Pared Celular.

Por medio de microscopía electrónica se han realizado estudios del género Campylobacter. En el caso de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, la membrana exterior celular se encuentra doblada en dos capas y esta encajada libremente sobre la pared celular proporcionándole así una morfología ondulada y parece ser penetrada por el flagelo (9).

La membrana exterior sirve como protección de la bacteria y a veces al mismo tiempo, participa en el crecimiento de la misma. Durante el crecimiento, esta membrana permite el paso de nutrientes y productos de desecho. Este ensanchamiento es a lo largo de la célula en crecimiento y en Campylobacter per-

mite la transición de la forma celular de un bacilo vibroide, pasando a una forma espiral y, finalmente a una forma coccoide (9).

También en el caso de patógenos como Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, la membrana exterior claramente protege a la membrana citoplásmica de la acción directa de las sales biliares, las cuales podrían lisar a las células (9,13).

En las bacterias patógenas, la membrana externa juega un papel importante en el resultado de la relación hospedero-parásito. Estudios en otras variedades de patógenos mostraron que los componentes de la membrana externa pueden participar en la adherencia, invasión de las células del hospedero, resistencia a la fagocitosis y a los mecanismos de muerte fagocítica (9).

La membrana externa es una bicapa lipídica asimétrica, -- que contiene lipopolisacáridos, los cuales están localizados -- en la capa externa, y un fosfolípido el cual está localizado -- en la capa interna. La exposición en la superficie de los lipopolisacáridos y de ciertas proteínas, permiten el contacto -- con el sistema inmune, sirviendo como antígenos. Estas medi-- das, en donde los constituyentes de superficie de la mem-- brana exterior están expuestos son importantes en la determina-- ción de la respuesta inmune por parte del hospedero y además -- sirve como clave en los esquemas de serotipificación por la -- presencia de una gran variedad de serotipos termolábiles. Por lo que se considera que la membrana exterior de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli es una estructura de enorme importancia para ellos (9,77).

F I G U R A 1. REPRESENTACION MORFOLOGICA DE CAMPYLOBACTER EN FORMA DE S, ALAS DE GAVIOTA, COMA, Y FORMA COCOIDE. MEDIANTE LA TECNICA DE KINYOUN.



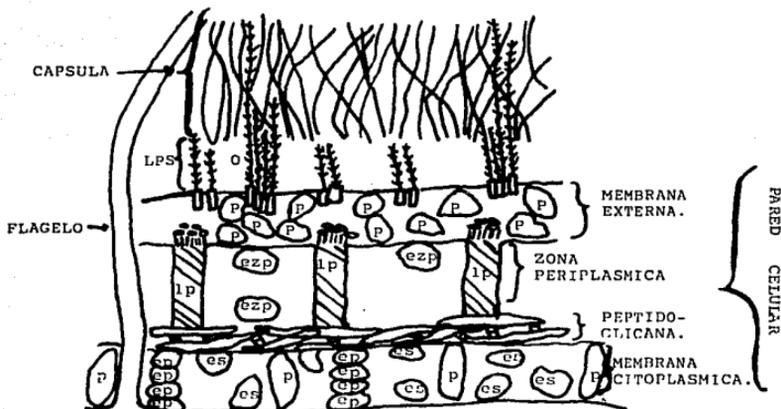
Tomada de: Karmali M. A., and Fleming P. C.: Campylobacter enteritis in children. J. Pediatr. 94: 527-533, 1979.

La Pared Celular de Campylobacter, contiene tres capas; - una capa exterior de lipoproteína, una capa intermedia de lipopolisacárido y una capa interna de mucopéptido. La pared celular en su composición química contiene; alanina, lisina, glicina, ácido glutámico, ácido aspártico, cistina o ácido diaminopimélico. Los carbohidratos que se encuentran en el lipopolisacárido de la pared celular son: glucosa en un 80% , xilosa y otros dos azúcares no identificados (9), en la figura 2 se esquematiza la pared celular de las bacterias Gram-negativas.

Análisis electroforéticos y químicos indican que el lipopolisacárido de Campylobacter jejuni es predominantemente del tipo de lipoligosacárido de bajo peso molecular. Este lipoligosacárido presenta una diversidad antigénica lo que le confiere un gran número de serotipos. Este fenómeno es de considerable interés a nivel molecular, porque la diversidad de los antígenos termolábiles de Campylobacter, involucran una pequeña diferencia en el número pequeño de azúcares encontrados en el lipoligosacárido. El papel de este lipoligosacárido en la patogénesis por Campylobacter también espera ser aclarado, pero la - porción del Lípido A de la molécula es similar a la de las -- otras bacterias Gram-negativas (9,77).

En la Fig. 3 se muestra esquemáticamente la composición del lipopolisacárido. Se aprecian tres regiones distintas tanto estructuralmente como funcionalmente. La más interna es el Lípido A, compuesto por unidades de disacáridos de glucosamina que poseen cadenas de ácido graso, los que al parecer se unen por enlaces de pirofosfato. La región central, es un oligosacárido denominado "core" o núcleo, al que la mayoría de las veces se le unen cadenas de polisacáridos "O" específico. Estas cadenas son las más externas y contienen unidades repetitivas de oligosacáridos y determinan la especificidad serológica del lipopoligosacárido y por lo tanto, de la célula bacteriana (13).

F I G U R A 2. REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA PARED CELULAR DE LAS BACTERIAS GRAM-NEGATIVAS.

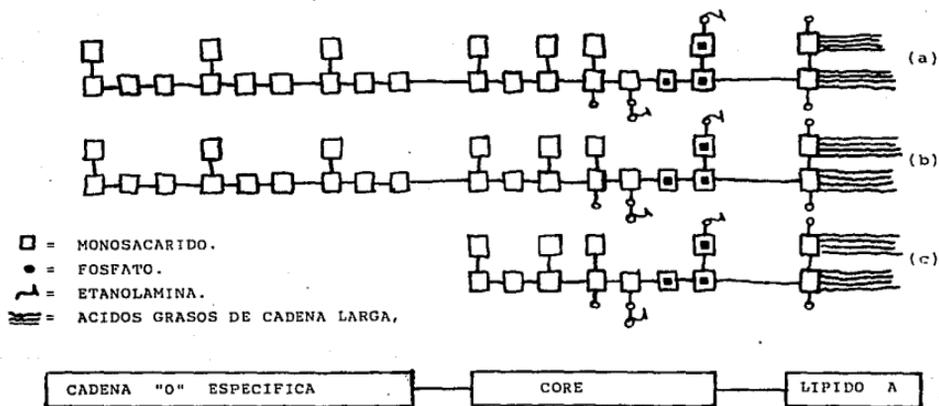


LPS= Lipopolisacárido.
 LA= Lípido A.
 C = Coro.
 O = Cadena "O" específica.

P = Proteínas enzimáticas y estructurales de la membrana externa.
 lp= Lipoproteínas.
 ezp= Enzimas de la Zona Periplásmica.
 es= Enzimas estructurales de la Membrana citoplásmica
 p= Permeasas.
 ep= Enzimas de la Membrana citoplásmica que intervienen en la síntesis de la Pared Celular.

Tomado de: Cruz González Rubén de la., y Calderon Jaimes Ernesto.
 Infectología 11: 675-682, 1982.

FIGURA 3. REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA ESTRUCTURA GENERAL DE LOS LIPOPOLISACARIDOS.



Tomada de: Cruz González Rubén de la., y Calderón Jaimes Ernesto.
 Infectología 11: 675-682, 1982.

3.1.2.3. Flagelo.

El flagelo, es de naturaleza proteica y se encuentra localizado en la superficie, tambien es un importante antigeno de superficie. Este flagelo es de importancia en la patogenesis por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, ya que juega un importante papel en la colonizacion de la mucosa intestinal. La composicion quimica del flagelo presenta a la mayoria de -- los aminoacidos, excepto cistina, presentando tambien trazas -- de prolina (9,63,77).

3.1.2.4. Produccion de Toxinas.

Un importante mecanismo por el cual las bacterias enteropatogenas inducen la produccion de diarrea, es por medio de toxinas (77). La presencia y significancia clinica de enterotoxinas y citotoxinas por cepas virulentas estan siendo investigadas (62,77). Campylobacter jejuni produce dos pequenas exotoxinas: una enterotoxina termolabil (CJT) y una citotoxina (59,62,77).

Existe una reciente evidencia en que las cepas de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli aisladas de pacientes con -- diarrea acuosa producen una enterotoxina similar a la toxina -- de Vibrio cholerae (CT). Esta similitud incluye la induccion de una diarrea secretoria por estimulacion de la actividad de la adenil ciclasa en la mucosa intestinal y rompiendo el transporte normal de hierro en los eritrocitos (62,77).

La significancia de la actividad citotoxica en la patogenicidad de dichos microorganismos requiere de una investigacion adicional, porque se cree que una enzima citotoxica podria estar involucrada en la destruccion de las membranas celu

lares seguida de una penetración a través de la mucosa intestinal (9,59,62).

3.1.2.5. Plásmidos.

Los plásmidos han mostrado ser determinantes específicos de virulencia en una variedad de bacterias. Aunque muchos trabajos han descrito el aislamiento físico de plásmidos de Campylobacter jejuni, solamente la resistencia a los agentes antimicrobianos y en ciertos casos la producción de enterotoxinas -- han mostrado que son mediados por plásmidos.

Taylor (70), y Tenover (72), independientemente encontraron plásmidos conjugativos que mediaban resistencia a tetraciclina y a eritromicina.

3.1.3 CARACTERIZACION MICROBIOLOGICA.

3.1.3.1. Generalidades.

El género Campylobacter, no fermenta ni oxida los carbohidratos, presenta un metabolismo respiratorio, obteniendo su energía de los aminoácidos o de los intermediarios del ciclo -- del ácido tricarbóxico (17,31,41,55,77). Campylobacter es un microorganismo bioquímicamente inerte, por tanto existen, pocas pruebas bioquímicas para la diferenciación de las especies de Campylobacter (25,31,41,47) Tablas 5 y 6.

Una característica principal es la respuesta al crecimiento a temperaturas entre los 25°C y 43°C. Las especies que crecen a 42°C y 43°C, son comúnmente llamados Campylobacter termo

fílicos o termotolerantes (17,25,39,79). Estos términos son -- usados indistintamente e intercambiablemente en la literatura como Campylobacter jejuni, Campylobacter coli y Campylobacter laridis crecidos entre los 37,42, y 43°C, excepto a 25°C (31,41 55,79). Skirrow refirió al grupo de Campylobacter jejuni-coli como un solo grupo Campylobacter jejuni, al igual que otros autores (30,33,34,55,73). Esta confusión continuó por largo -- mucho tiempo ya que no se contaba con pruebas para separar estas dos especies, siendo Harvey en 1980, quien realizó una -- prueba útil para la diferenciación de estas dos especies (18, 32,38,47,79).

Campylobacter crece bien en medios de agar sangre, agar -- Brucella-albúmina, agar Mueller-Hinton y agar Thio-sangre, con teniendo 5% de sangre de carnero, cuando son incubados bajo -- condiciones atmosféricas apropiadas. En medios sólidos las colonias de Campylobacter son pequeñas de 0.5 a 1.0 mm; planas o levemente elevadas; lisas; convexas; la mayoría son no hemolíticas, aunque se ha presentado colonias poco hemolíticas; son translúcidas; de color gris a café claro; crecen a veces en -- forma de gotas de rocío (6,46).

En los últimos 10 años se ha encontrado un incremento en las observaciones en cuanto a enfermedades producidas en humanos, debidas a Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, gracias al desarrollo de nuevas técnicas selectivas de aislamiento y de cultivo (2,3,44,54,55,61,75).

Dekeyser y cols., reportaron en 1972 una técnica de filtración selectiva para las evacuaciones, a través de la filtración retenían una gran variedad y cantidad de microorganismos de la flora normal y sólo los bacilos curvos pasaban a través de la misma, posteriormente los cultivaron en un medio sólido

que contenla sangre (26,30,33,74,76). Skirrow en 1977 (66), define un medio de aislamiento selectivo, conteniendo 3 antibiòticos; vancomicina, sulfato de polimixina, trimetoprim; los -- que tienen la finalidad de inhibir el crecimiento de la flora normal, el cual hace en la actualidad que no sea necesaria la filtraciòn de las heces para el aislamiento de estos microorga-- nismos. Butzler usò tioglicolato con 15% de sangre de carnero como medio de cultivo conteniendo ademàs bacitracina, novobiocina, ciclohexamida, colistin y cefazolina. Blaser desarrollo un medio considerado como Campy-BAP. Moskowitz y col., mos-- traron que las especies de Pseudomonas y Achromobacter crecían como contaminantes en los medios de cultivo con estos antimicrobianos. Para incrementar la supresiòn de Pseudomonas, Gossens usò una combinaciòn de rifampin, colistin, anfotericina B y cefoperazona (55).

El requerimiento de sangre en el medio es costoso y ademàs la sangre estèril utilizable no es disponible en varias -- ciudades en vfas de desarrollo. Esto ha estimulado el interès en desarrollar un medio de aislamiento libre de sangre, algunos avances significativos han sidorealizados por George y --- cols., quiènes suplementaron un medio con sulfato ferroso, metabisulfito de sodio y piruvato de sodio, que realizaban el crecimiento y aereotolerancia de las especies de Campylobacter - (15,21,55,68,77).

Las òptimas condiciones para el crecimiento y aislamiento de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli a partir de heces incluye el uso de un medio selectivo de aislamiento, asì, como la necesidad de cultivarlo bajo condiciones especiales de 5% - de O₂, 10% de CO₂ y de 85% de N₂, o bien bajo condiciones atmosféricas con una concentraciòn reducida de oxígeno (6,7,9, 14,21,35,40,50,52,78).

T A B L A : 5. CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE LAS ESPECIES DE EL
 GENERO Campylobacter.

CARACTERISTICAS	1. C. fetus		2. C. jejuni	3. C. coli	4. C. sputorum			5. C. consisus
	1.a	1.b			4.a	4.b	4.c	
H ₂ requerido para crecimiento.	-	-	-	-	-	-	+	+
Catalasa	+	+	+	+	-	-	-	-
Reducción de Nitritos	-	-	-	-	+	+	+	+
Producción H ₂ S (TSI o SIM). ^a	-	-	-	-	+	+	+	+
Crecimiento en								
a) 1% Glicina	+	-	+	+	+	+	-	-
b) 3.5 % NaCl.	+	-	-	-	-	+	-	-
c) 25°C	+	+	-	-	-	d	-	-
d) 43°C	-	-	+	+	+	-	+	-
Inhibidas por								
a) Ac. Nalidixico ^b	-	-	+	+	-	d	d	-
b) Cefalotina	+	+	-	-	+	+	+	-
c) Hidr. del Hipurato ^c	-	-	+	-	-	-	-	-
Crecimiento Anaerobico con fumarato en ausencia de H ₂ o formato.	-	-	-	-	+	+	-	-
Crecimiento Anaerobico con fumarato, H ₂ o formato. ^d	-	-	-	-	-	-	+	+
Colonias amarillas obsc.	-	-	-	-	-	-	-	-
Mol % G + C de DNA.	32-36	33-36	31	32-34	29-31	29-31	34	34-38

a) Símbolos TSI= agar triple azúcar hierro;

SIM= medio motilidad, indol, sulfídrico.

b) 30 ug/disco.

c) Mét. de Harvey.

d) Caldo Brucella como medio basal.

1
13
10
1

T A B L A : 6. CARACTERISTICAS ADICIONALES DE LAS ESPECIES Y SUBESPECIES DEL
 GENERO Campylobacter.

CARACTERISTICAS	1. C. fetus		2. C. jejuni	3. C. coli	4. C. sputorum			5. C. consisus
	1.a	1.b			4.a	4.b	4.c	
Fermenta u oxida la glucosa	-	-	-	-	-	-	-	-
Red. Nitratos	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidasa	+	+	+	+	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ S Met. placa de acetato de plomo	d	d	+	+	+	+	+	+
Crecimiento en								
a) 1.0% de Bilis	+	+	+	+	+	-	-	+
b) 1.5 % de NaCl	d	d	-	-	+	+	+	+
c) Verde brillante								
1:100,000	+	+	-	+			+	
1: 33,000	+	+	-	-				
d) 25.0 ° C	+	+	-	-	-	d	-	-
e) 30.5 ° C	+	+	-	+	+			
f) 43.0 ° C	-	-	+	+	+	-	-	-
g) 45.5 ° C	-	-	d	d				
Reducción de Selenito	d	-	+	+	+	d		
Inhib. por Metronidazol	-	-	d	d	+	+		+
Fumarato a Succinato	+	+	+	+	+	+	+	+
Lípidos Celulares que contienen acidos grasos en el C-19.	-	-	+					

e) 5 ug/disco

1.a) Subsp. fetus .

1.b) subsp. venerealis.

4.a) subsp. sputorum.

4.b) subsp. bubulus.

4.c) subsp. mucosalis.

3.1.4. SEROTIPIFICACION.

Los esquemas de serotipificación son de importancia médica para Campylobacter jejuni y Campylobacter coli. Aunque --- existe poca información disponible sobre la estructura antígenica de estos microorganismos, algunas cepas termofílicas poseen antígenos termoestables y antígenos termolábiles (31,32,54,55,60).

Los esquemas de serotipificación para Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, para una evaluación epidemiológica dependen de los antígenos termolábiles y termoestables presentes en la célula bacteriana (54). Dos métodos son los más representativos; en un trabajo independiente Penner y cols., y Lauwers y cols., desarrollaron un método de serotipificación basado en los antígenos termoestables solubles y una técnica de hemaglutinación pasiva indirecta. Ambos autores usaron un antisuero no adsorbible (31,32,38,54,55,60).

La introducción de un esquema de serotipificación por un método de aglutinación realizado por Lior y cols., fue desarrollado para detectar factores antigénicos termolábiles usando células vivas sanas. Ellos usaron un antisuero adsorbido con antígenos de cepas homólogas para remover los anticuerpos contra los antígenos termoestables, permitiendo dirigir los anticuerpos contra los determinantes antigénicos termolábiles (54,55,60).

Rogol y cols., en 1983 (60), describieron un método similar al esquema de serotipificación al esquema de Lior. Herbert y cols., en 1983 (32) desarrollaron un procedimiento de inmunofluorescencia directa para la seroagrupación de Campylobacter jejuni, Campylobacter coli y Campylobacter fetus. Los

antígenos detectados por este sistema no fueron definidos, pero probablemente ambos sean antígenos tanto termoestables como termolábiles (54).

3.1.5. IMPORTANCIA CLINICA.

Solamente Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, Campylobacter piloris y Campylobacter fetus subsp. fetus son ahora reconocidos como patógenos en humanos (15 bis, 77).

Las infecciones por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, han cobrado gran importancia en los últimos años y recientemente han sido reconocidos como el más común agente bacteriano entérico causal de infecciones gastrointestinales y de diarrea (14,15,44,51,54,65,70,78).

Butzler en 1973, reportó por medio de una técnica de filtración un 6% de incidencia en pacientes con diarrea y un 2% en pacientes sin diarrea por Campylobacter jejuni (9,26,73). Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, han sido aislados de evacuaciones en un 5% en Bélgica, un 7% en Inglaterra, así mismo ha sido reportado su aislamiento en Canadá, Suecia, Rwanda, E. U., Africa, Asia, y del 2% al 14% en Australia (9,33,34,50,59,79). Los estudios realizados en estos países, indican actualmente que estos microorganismos pueden ser aislados de pacientes con diarrea por lo menos con la misma frecuencia con que se recuperan diversas especies de Salmonella y Shigella (35,48,50,52,56,59,61,62,65), o excediéndolos en algunos casos (48,59). Por lo que se les considera como causa importante de gastroenteritis (5,50,59).

Se ha encontrado que Campylobacter jejuni y Campylobacter coli presentan una distribución mundial (1,2,14,20,28,35,56,65,71,74,77).

Campylobacter coli es menos frecuente que Campylobacter jejuni como productor de enfermedad diarreica, su incidencia del primero es del 5% mientras que del segundo es el 95% de todos los casos de aislamiento (5,18,20,35,48).

Además de diarrea y enteritis Campylobacter jejuni puede dar origen a diversas manifestaciones sistémicas y perinatales importantes como: fiebre, endocarditis bacteriana, meningitis, abscesos, pústulas en piel, artritis séptica, pericarditis, peritonitis, colicistitis, flebitis, abortos sépticos, salpingitis, infecciones del Sistema Nervioso Central, aneurisma aórtico, Síndrome de Reiter, eritema nudoso, septicemias posttransfuncionales, colitis, sepsis e infecciones en el tracto urinario (1,9,27,29,38,46,53,73,74). Las manifestaciones clínicas por Campylobacter coli y Campylobacter jejuni se resumen en la Tabla 7 -. Siendo la enteritis la manifestación más frecuente (9,16,29,35,46,77).

La enteritis causada por estos microorganismos es típicamente benigna, por lo que se les considera como una enfermedad semilimitada que puede mejorar en un tiempo aproximado de una semana sin tratamiento (1,7,35,77). El período de incubación puede ser de 1 a 11 días (23,59,77). En pacientes inmunocomprometidos la duración de la fase de convalecencia después de una infección aguda es de 2 semanas a 3 meses (71,77).

T A B L A 7.

Signos y Síntomas producidos por Campylobacter
jejuni y Campylobacter coli.

Típicas	Atípicas
Malestar General.	Bacteremia/septisemia.
Fiebre (puede estar ausente en - neonatos y - en infantes).	Síndrome de Reiter.
Diarrea.	Artritis postinfecciosa.
Sangre en heces.	Eritema nudoso.
Dolor abdominal.	Síndrome de Guillain-Barré.
Vómito (puede estar o no present).	Pancreatitis.
	Meningitis.

Tomada de Karmali Mohameda A. Bacterial diarrhea: An update.
Diagnostic Med. 1985,14.

3.1.6. PATOGENESIS.

El establecimiento de una infección entérica es dependiente de los factores de virulencia, como instrumentos de colonización. Esto es debido a que las bacterias enteropatógenas podrían resistir la motilidad intestinal y el flujo mucoso, atacando a la mucosa intestinal como prerequisite para la colonización y el establecimiento de la infección (77).

El sitio de colonización en el humano es generalmente el ileum distal, pero el colon puede ser también colonizado, esto se ha reportado en modelos experimentales (9,59,73,77). Campylobacter jejuni ha sido aislado de aspirados ileales de niños con enteritis (9,73).

3.1.7. INVASION.

Campylobacter jejuni es un microorganismo invasivo, mostrado por la presencia de moco y sangre en las evacuaciones y la observación de congestión y edema de la mucosa intestinal - realizados por estudios de sigmoidoscopia en pacientes con disentería. Existe evidencia en animales que Campylobacter jejuni invade la mucosa y es fagocitado principalmente por células mononucleares en la lámina propia. Sin embargo, solamente el 20% - 30% de los pacientes con enteritis por este microorganismo presentan una invasión intestinal, caracterizada por sangre, moco y leucocitos en las evacuaciones y en la mayoría la enfermedad es asociada a una diarrea secretoria, en los cuales puede estar involucrada la producción de una enterotoxina (3,9,23, 43).

3.1.7.1. Respuesta inmune.

Diversos estudios epidemiológicos han sido empleados para sugerir que la inmunidad contra Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, es adquirida como consecuencia de una o más infecciones. La colonización o la infección provocada en animales tanto como en humanos, provoca la formación de anticuerpos de tipo de las inmunoglobulinas IgM, IgA e IgG, presentando una especificidad contra los lipopolisacáridos de la pared celular y contra el flagelo. Se ha observado que posterior a la infección, los títulos se elevan rápidamente, en particular la IgA e IgG, las cuales tienen la capacidad de opsonización e inmovilización (77).

3.1.8. EPIDEMIOLOGIA.

Toda la población esta expuesta a la infección por Campylobacter, no hay diferencia en cuanto a sexo y edad; sin embargo la mayor incidencia se ha observado entre los 2 meses y los 15 años de edad (23,36,38,50). Skirrow observó una mayor incidencia en el grupo de edad comprendida entre el 1er año y el 15o año de edad (59).

Glass y cols., demostraron una disminución progresiva en el promedio de enfermedad-infección con un incremento en la edad en niños en Bangladesh. Black y cols., recientemente reportaron resultados similares en niños en Perú (77).

La fuente de infección aún no ha sido bien reconocida; se supone que la transmisión de la enfermedad puede ocurrir de persona a persona, ya sea de pacientes asintomáticos o sintomáticos (3,23). Otras fuentes de infección pueden ser los animales que actúan como reservorios. La transmisión es seguida --

del contacto directo con animales contaminados y estos pueden ser: perros, gatos, ganado vacuno, carneros, cerdos, aves de corral, algunas especies de pájaros ya sean vivos o condimentados (5,35,38,40,44,48,65,72,73,75,). Campylobacter jejuni es transmitido por la ingestión de agua contaminada, leche no pasteurizada y por alimentos contaminados (35,38,44,65,68,76,77).

La forma de propagación de las infecciones por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli se resumen brevemente en la -- Figura 4 (35). La contribución de cada especie es desconocida en la actualidad (48).

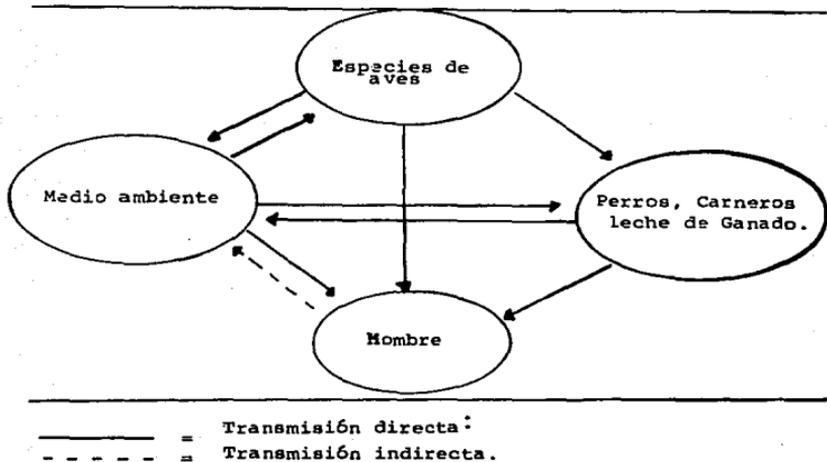
3.1.9. TRATAMIENTO.

el valor de la terapia antimicrobiana no ha sido bien establecida para la diarrea causada por Campylobacter jejuni, si bien la enteritis causada por él es frecuentemente una enfermedad limitada por sí misma, donde la mayoría de los casos serios sí requiere de tratamiento con un agente antimicrobiano - (8,34,45, 72 bis).

En el presente la eritromicina es considerada como la droga de elección para el tratamiento de Campylobacteriosis (1,8, 33,34,58), sin embargo se han reportado la existencia de cepas resistentes a esta droga. Vanhoof en 1978 (73), reportó el 8% y el 2.3% en 1980 (74). Walder reportó en 1979 (76), una resistencia del 8%. En tanto Karmali y Burton reportaron del -- 0.5 - 1.0% (34,73). En los países como Bélgica y Suecia se ha reportado el 9% (34). También para la tetraciclina se ha reportado cepas resistentes (5,8,45,72). Estas diferencias tal vez podrían basarse en el origen de las cepas o bien a la diferencia geográfica (1,8,45,71).

FIGURA 4.

Difusión de las Enfermedades por
Campylobacter (35).



3.2. Susceptibilidad.

Fue Antonio Van Leeuwenchock en 1676, quièn realizò las primeras observaciones se antibiosis In Vitro desde que se tiene memoria (42).

Fleming en 1924, realizò los primeros ensayos para cuantificar la potencia antibacteriana se una substancia al evaluar el efecto de diferentes antisèpticos, y en 1929 estableciò el principio de la prueba de susceptibilidad por difusiòn en agar (54,64).

En el pasado, con el desarrollo de la sìnthesis orgànica se han elaborado substancias quìmicas antibacterianas, comunmente llamados quimioteràpicos. Actualmente no hay una diferencia neta, entre los tèrminos antibiòticos o agentes antimicrobianos, pues algunos antibiòticos que inicialmente se aislaron de fuentes naturales, se han preparado tambièn sintèticamente (63 64).

en la actualidad se conocen como antimicrobianos las substancias que obtenidas en plantas, animales y las producidas sintètica o semisintèticamente, actúan en forma dañina contra las actividades de la vida de los microorganismos (44 bis).

Bauer, Kirby y Turk en 1966, publicaron los criterios unificadores de la prueba por difusiòn en agar o antibiograma para medir la susceptibilidad (22,57).

Las pruebas de susceptibilidad In Vitro miden, la capacidad de un agente antimicrobiano para inhibir el desarrollo ba

teriano. Estas pruebas se pueden realizar mediante los procedimientos siguientes (22,57):

- A) Dilución seriada en placa.
- B) Dilución seriada en tubo.
- C) Difusión en discos de papel filtro.
- D) Sistemas automatizados y semiautomatizados.

La prueba de susceptibilidad empleada en este trabajo es la de dilución seriada en placa, el cual es un método cuantitativo que correlaciona adecuadamente los datos farmacológicos de las substancias antimicrobianas, es decir, proporcionan datos confiables para establecer el tratamiento correcto al padecimiento infeccioso.

La mayoría de las pruebas de susceptibilidad antimicrobianas en los trabajos clínicos y de investigación involucra la realización del "overnight" para la lectura de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIMs) de un agente antimicrobiano. Este intervalo de lectura fue recomendado para los métodos de dilución en caldo y agar, propuestos como procedimientos de referencia por el grupo "International Collaborative Study" -- (ICS) (37).

En la actualidad existen una gran variedad de agentes antimicrobianos que han sido estudiados en diversos centros de investigación industrial desde 1944, alrededor de 60 de ellos, están actualmente comercializados en la terapéutica humana bajo el mismo nombre. Todos ellos difieren considerablemente en propiedades físicas, químicas y farmacológicas, en el espectro antimicrobiano y en el mecanismo de acción (42,63).

Con respecto a la forma de clasificarlos, se han designado cinco formas (10, 44 bis):

- I) Al microorganismo patógeno sobre el que actúan.
- II) Su espectro antimicrobiano.
- III) Su estructura química.
- IV) Su especificidad terapéutica.
- V) Su mecanismo molecular de acción.

- I) Según el microorganismo sobre el que actúan se dividen en:
 - a) Antimicrobianos.
 - b) Antimicóticos.
 - c) Antivirales.

II) Por su espectro antibacteriano:

- a) De espectro reducido: Cuando sólo tienen acción sobre un número reducido de algunas bacterias Gram - positivas --- como: Penicilinas naturales, Penicilinas fenoxialquílicas, Isoxazolilpenicilinas y Bacitracina.
- b) De espectro intermedio: Estos actúan solamente contra algunas bacterias Gram - positivas y algunas Gram - negativas como: Macrólidos y los Aminoglucosidos.

- c) De amplio espectro: Actúan sobre la mayor parte de -- las bacterias Gram - positivas y Gram - negativas y no solamente - actúan sobre bacterias, sino que además sobre algunos virus, hon-- gos y rickettsias, protozoarios como son: Ampicilinas, Cefalosporinas, Cloranfenicol y Tetracicl_i nas.

III) Por su estructura química se dividen en:

- a) Penicilinas.
- b) Cefalosporinas.
- c) Tetraciclinas.
- d) Macrólidos.
- e) Aminoglucósidos.
- f) Nitrofuranos.
- g) Sulfonamidas.
- h) Quinolonas.
- i) Beta - Lactámicos.

IV) Por su especificidad terapéutica se pueden dividir de la siguiente manera:

- a) Antimicrobianos específicos contra Gram - positivos co mo las Penicilinas, Cefalosprinas y los Macrólidos.
- b) Específicos contra Staphylococcus aureus como: Isoxazo lilpenicilinas.
- c) Específicos contra Gram - negativos como: Aminoglucósi dos.

- d) Específicos contra Pseudomona aeruginosa como: Carbenicilina, Gentamicina, Polimixina B y Amikacina.
 - e) Para las infecciones intestinales como: Neomicina, Kanamicina y Eritromicina.
 - f) Para vías urinarias como: Nitrofuranos, Kanamicina, Ampicilina, Acido nalidixico, Acido oxolinico y Cotrimoxazol.
 - g) Contra Hongos : fungicidas como Nistatina, y fungistáticos como griseofulvina.
 - h) Tuberculostáticos como: Estreptomina, rifampicina y Kanamicina.
 - i) Contra Salmonella como : Ampicilina, Acido nalidixico y Cloranfenicol.
 - j) Contra Haemophilus influenzae: Cloranfenicol y Ampicilina.
 - k) Contra Shigella: Ampicilina y Acido nalidixico.
 - l) Contra Proteus: Carbencilina y Kanamicina.
 - m) Contra Escherichia coli como: Amikacina.
- V) Por su mecanismo y sitio de acción sobre la bacteria.
- 1. Antimicrobianos que inhiben el crecimiento por analogía:
 - a) Bacteriostáticos.
 - Sulfonamidas: Sulfadiazina Succinil-sulfatiazol
Sulfametoxina Sulfafurazole
Sulfametoxi-pridazina.
Sulfometoxazol.
 - Sulfonas: Derivados de 4-4, diaminodifenilsulfona. ACTúan sobre Mycobacterium leprae.

4. En el ribosoma inhibiendo en forma total la síntesis de proteínas.

a) Bacteriostáticos:

Tetraciclinas

Macrólidos: Eritromicina Leucomicina
 Espiramicina Oleandomicina

Rifamicina: Rifamicina Rimfampicina

Lincomicina: Lincomicina Clindamicina

Cloranfenicol: Cloranfenicol Tafenicol

b) Bactericidas.

Aminoglucósidos: Kanamicina Gentamicina
 Amikacina Tobramicina

Estreptomina
Neomicina

5. En el núcleo interfiriendo la producción de ácidos nucleicos.

a) Bacteriostáticos.

Sulfonamidas: Absorción y eliminación rápida.
 Sulfatiazol
 Sulfaxazol

Absorción rápida y eliminación intermedia.

Sulfadiazina Sulfametoxazol
Sulfametacina Sulfameracina

Absorci3n lenta e incompleta.
Sulfaguanidina Formosulfatiazol
Succinilsulfatiazol

Nitrofuranos: Nitrofurazona Nitrofurantolna
Furazolidona

Acido nalidixico.
Acido oxolnico.
Griseofulvina.
Tuberculostáticos.
Cotrimoxazol.

Mecanismo molecular de acci3n de los antimicrobianos.

Los antimicrobianos actúan en cuatro parámetros básicos - de la bacteria, interfiriendo en tres funciones vitales (10,42, 44 bis).

- I) PARED CELULAR (Mucopéptidos, polisacáridos perfectos).
 1. Funci3n de protecci3n.
 - a) Bactericidas.

- II) MEMBRANA CELULAR (Cromatóforos y mesosomas).
 1. Funci3n de respiraci3n e intercambio de iones y metabolitos.
 - a) Bactericidas.

- III) CITOPLASMA (Ribosomas).
 1. Funci3n de nutrici3n.
 - a) Bactericidas.
 - b) Bacteriostáticos.

V) NUCLEO.

1. Función de nutrición.

a) Bacteriostáticos.

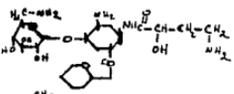
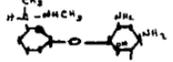
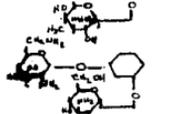
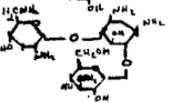
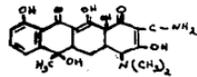
- A) Mecanismo molecular de acción de los antimicrobianos -- que interfieren con las funciones de protección de la bacteria, modificando la estructura y función de la pared celular bacteriana: actuando a nivel de la pared celular y más específicamente sobre el mucopeptido polisacárido perfecto (MPP), son las penicilinas y Cefalosporinas.
- B) Mecanismo molecular de acción de los antimicrobianos -- que interfieren en las funciones de respiración, el intercambio de iones y metabolitos de la membrana celular de la bacteria; ejerciendo su acción sobre los cromatóforos y los mesosomas de la membrana celular citoplásmica de la célula bacteriana, inhibiendo el sistema citocromo-oxidasa y el intercambio de iones y metabolitos.
- C) Mecanismo molecular de acción de los antimicrobianos -- que interfieren con las funciones de nutrición bacteriana a nivel del ribosoma: incluyendo tanto los que inhiben en forma parcial la síntesis de proteínas, impidiendo la traducción de la información genética, como los que lo hacen en forma total. A los primeros se les denomina bacteriostáticos y a los segundos bactericidas.
1. Los antimicrobianos que inhiben en forma parcial la síntesis de proteínas son: los Aminoglucosidos como Kanamicina, Amikacina, gentamicina, Tobramicina.

2. Los antimicrobianos que impiden en forma total la -- síntesis de proteínas son: Tetraciclinas, Rifamicina Macrólidos (Eritromicina), Lincomicinas (licomicina) y Cloranfenicol.

Los antimicrobianos que no anulan en forma total a las -- proteínas, sino que permiten la formación de moléculas protei-- nicas que son defectuosas y que producen lecturas equivocadas "específicas del código genético a nivel del ribosoma, después de unirse al ribosoma y parecen permitir la incorporación de -- uno o más aminoácidos equivocados en la cadena peptídica en -- crecimiento, originando la síntesis de proteínas defectuosas -- que son mortales (tóxicas), para el microorganismo patógeno. Esta deficiencia en proteínas normales, motiva una insuficien-- cia de las funciones vitales de la célula, teniendo por tanto una acción bactericida.

- D) Mecanismo molecular de acción de los antimicrobianos -- que interfieren en la producción de los aminoácidos nu-- cleicos (Fundamentalmente Acido ribonucleico ARN), a ni-- vel del núcleo. Las Sulfonamidas impiden la síntesis -- de los ácidos nucleicos y la división celular, los Nitro-- furanos inhiben a las deshidrogenasas bacterianas, la -- Griseofulvina, Acido nalidixico y oxolinico son análo-- gos a las purinas e impiden la síntesis del ácido ribo-- nucleico (ARN) por competencia, es decir, ocupando su -- sitio.

CUADRO : I. PROPIEDADES FARMACOLOGICAS DE ALGUNOS AGENTES ANTIMICROBIANOS AMINOGLUCOSIDOS Y TETRACICLINA.

FORMULA	NOMBRE	R. DE DOSIS	NIVEL PLASMATICO	MECANISMO DE ACCION
	AMIKACINA	$\frac{15 \text{ mg/Kg/día}}{2}$	12-32 ug/ml	<p>ALTERAN LA CODIFICACION EN LA SINTESIS DE PROTEINAS.</p> <p>EL ANTIMICROBIANO SE COMBINA CON LA SUBUNIDAD 30S PROBOCANDO QUE HAYA ERROR EN LA LECTURA DEL RNA MENSAJERO PROVOCANDO QUE EN LA TRADUCCION SE FORMEN ENZIMAS INACTIVAS O PROTEINAS ANORMALES.</p>
	GENTAMICINA	$\frac{1.5-2 \text{ mg/Kg/día}}{3}$	4 ug/ml	
	KANAMICINA	$\frac{10-15 \text{ mg/Kg/día}}{3}$	17-20 ug/ml	
	TOBRAMICINA	$\frac{1.5-2 \text{ mg/Kg/día}}{3}$	4 ug/ml	
	TETRACICLINA	$\frac{30-40 \text{ mg/Kg/día}}{4}$		

CUADRO : II. PROPIEDADES FARMACOLOGICAS DE ALGUNOS AGENTES ANTIMICROBIANOS
BETA - LACTAMICOS.

FORMULA	NOMBRE	R. DE DOSIS	NIVEL PLASMATICO	MECANISMO DE ACCION
	PENICILINAS			
	AMPICILINA	<u>50-250 mg/Kg/dia</u> 4 - 6	3-10 ug/ml	
	CEFALOSPORINAS			
	CEFALOTINA	<u>40-80 mg/Kg/dia</u> 4 - 6		

INHIBEN LA SINTESIS DE COMPONENTES DE LA PARED CELULAR BACTERIANA. ESPECIFICAMENTE SE INHIBE LA SINTESIS DE MUREINA (peptidoglicana) EN LA ETAPA FINAL QUE ES UNA TRANSPEPTIDACION EN LA QUE EL CPO. AMINO TERMINAL DE LA CADENA PEPTIDOGLICANA DESPLAZA A LA D-ALANINA DEL CARBON TERMINAL QUE SE DESPRENDE DE LA ESTRUCTURA.

4. O B J E T I V O S.

- 1.- Adaptación de una técnica confiable para la prueba de -- susceptibilidad In Vitro para los diferentes agentes an timicrobianos usados en la clínica contra Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, aislados de pacientes en - el Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

- 2.- Determinar el patrón de susceptibilidad de Campylobac- ter jejuni y Campylobacter coli a 16 agentes antimicro- bianos siendo estos: ampicilina, aztreonam, amikacina, gentamicina, kanamicina, tobramicina, cefotaxima, cefta- zidima, cefalotina, ácido nalidixico, eritromicina, fu- razolidona, tetraciclina, trimetoprim, sulfametoxazol, - y trimetoprim-sulfametoxazol.

- 3.- A partir del patrón de susceptibilidad, reconocer aque- llos agentes antimicrobianos a los cuales son general- mente susceptibles, a los cuales son resistentes siem- pre y cuales son los posibles de ser usados para desa- rrollar un medio selectivo perfeccionado.

- 4.- Determinar y Comparar la CIM₅₀ y CIM₉₀, para los dife- rentes agentes antimicrobianos utilizados en la terapèu- tica clínica contra Campylobacter jejuni y Campylobac- ter coli, aislados de pacientes en el Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

5. MATERIAL Y METODOS.

5.1. M A T E R I A L.

5.1.1. Material Biològico.

Se incluyeron cepas puras aisladas de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, aisladas a partir de muestras de evacuaciones, identificadas y bioserotipificadas por el método de Lior (39). Aisladas de pacientes en el Hospital Infantil de - México "Federico Gómez".

Se incluyeron al mismo tiempo cepas controles de Staphylococcus aureus (ATCC 25923) y de Escherichia coli (ATCC 25922), en cada prueba a realizar (12).

5.1.2. Medios de Cultivo de recuperación y mantenimiento de la viabilidad de las cepas de Campylobacter.

Los medios de cultivo empleados para desarrollar el presente trabajo fueron los siguientes:

A. Medios de cultivo sólidos en agar.

1. Agar Skirrow modificado.

Agar Base Columbia (lab. DIFCO).

Sangre de Carnero al 10%.

Cefoperazona.

Trimetoprim (lab. Sigma).

Vancomicina (lab Sigma).

Sulfato de polimixina B (lab. Sigma).

2. Agar Mueller-Hinton (Lab. Oxoid).
- Agar Mueller-Hinton (Lab. DIFCO).
- Agar Mueller-Hinton (Lab Bioxon de Mèxico S.A.).

B. Medios Lliquidos.

1. Caldo Brucella.
2. Medio 3 (34).
3. Caldo thioglicolato (45).
4. Caldo Eugon.
5. Caldo BHI.
6. Caldo Wilkins-Changred (24).
7. Caldo Soya Trypticasa (BBL Div. Becton Dickinson & Co. Lote 11768 H 8292 - 1785 - 02) (24,76).

a) Caldo Soya-Tripticasa modificado 1 (76).

Medio caldo Soya-tripticasa	1.5 g
Oxalato de potasio	50 mg
Nitrato de sodio	50 mg
Agua destilada	50 ml

Disolver los ingredientes y calentar a ebullición.

Colocar 5 ml en tubos de rosca y esterilizar a 15 libras por 15 minutos a 121°C.

b) Caldo Soya-Trypticasa modificado 2.

Caldo Soya-Trypticasa	12.0 g
Hemina	0.012 mg
L-Triptofano	0.8 mg
L-Cistina	1.6 mg
L-Arginina	1.6 mg
Agua Destilada	400 ml

Disolver los ingredientes y calentar a ebullici3n.
Colocar 4.5 ml en tubos de rosca y esterilizar a 15 l--
bras por 15 minutos a 121°C.

5.1.3. REACTIVOS.

1. Colorante de Fuscina Fenicada segun f3rmula de Kinyoun
(Lab. Laitz S.A. de C.V.).
2. Metanol.
3. Soluci3n salina fisiol3gica.
4. Soluci3n saturada de bicarbonatos.
5. Soluci3n de hidr3xido de sodio 4N, 1N, 0.1N.
6. Soluci3n de 3cido clorh3drico 1N, 0.1N y 0.05N.
7. N-N-Dimetilformamida C_3H_2NO .
8. Substancias antimicrobianas sales:
 - a) Ampicilina base trihidratada (Lab. Bristol).
 - b) Clorhidrato de Tetraciclina (Lab. Hoochst).
 - c) Etil-succinato de Eritromicina (Lab. Wintrop).
 - d) Aztreonam (Lab. ER. SQUIBB & SONS inc).
 - e) Acido nalidixico (Lab. Wintrop).
 - f) Furazolidona (Lab. Norwich Eaton S.A. de C.V.).
 - g) Amikacina base (Lab. Bristol).
 - h) Gentamicina (Lab Scheramex).
 - i) Tobramicina
 - j) Kanamicina (Lab Upjohn).
 - k) Ceftazidime (Lab. Glaxo).
 - l) Cefalotina (Lab. Glaxo).
 - m) Cefotaxima (Lab. Hoochst).
 - n) Trimetoprim (Lab. Roche S.A.).
 - ñ) Sulfametoxazol (Lab. Roche).

9. Oxalato de potasio.
10. Nitrato de sodio.
11. L-Triptofano.
12. L-Cistina.
13. L-Arginina.

5.1.4. Material de vidrio e Instrumentos

1. Tubos de vidrio estériles con tapón de rosca u tapón de hule.
2. Pipetas graduadas estériles de 1,2,5,10 ml.
3. Pipetas volumétricas estériles de 1 ml.
4. Pipetas Pasteur estériles.
5. Placas de Petri de vidrio y de plástico.
6. Gradillas.
7. Viales de plástico estériles.
8. Estufa de 37°C y de 42°C.
9. Baño María con y sin agitación.
10. Espectrofotómetro Marca Beckman modelo 26.
11. Replicador de Steers de 32 Pozos. Inoculador múltiple.
12. Jarras de Torbal Anærobicas (Tensión, Balance Co., Clifton, N.J.).
13. Tanque de CO₂ adaptado a una bomba de vacío y a una columna de Mercurio.

5.2. M E T O D O S.

5.2.1. Recuperación de la viabilidad de las Cepas de Campylobacter.

La recuperación de las cepas se realizó como sigue:

Los viales de Caldo Brucella que contenían las cepas se descongelaron a temperatura ambiente y en medio de una zona de esterilidad, se sembraron en medio fresco de agar Mueller-Hinton sangre al 5% con sangre fresca de carnero y en medio de Skirrow modificado. Una vez inoculadas se incubaron por 24-48 horas, bajo condiciones microaerofílicas de CO₂ y bajo una tensión reducida de O₂, proporcionada por una bomba de aire y un tanque de CO₂, conectados a una columna de mercurio, a una temperatura de 42°C.

Después del período de incubación las placas se sacaron y se revisaron, las colonias de Campylobacter que crecieron se les realizó un frotis y se tiñeron por la técnica de Kinyoun. Las cepas que presentaron contaminación se volvieron a sembrar en medio Skirrow modificado para purificarlas e incubando las bajo condiciones microaerofílicas como se describió anteriormente por 24-48 horas, a 42°C.

Las cepas recuperadas se colocaron en viales de plástico estériles conteniendo medio caldo Brucella, el cual se utilizó como medio de transporte y de almacenamiento. Posteriormente se almacenaron a -70°C, hasta ser utilizadas.

5.2.2. Realizaci4dn del "overnigth" para las cepas de Campylobacter.

Se probaron diferentes medios de cultivo en caldo para -- realizar el "overnigth", con la finalidad de encontrar un medio de cultivo adecuado para que las cepas de Campylobacter logaran su fase log de crecimiento y así, poder realizar la -- prueba de susceptibilidad.

Se probaron los medios de BHI, y Medio 3. De un cultivo - de 24 horas en agar Mueller-Hinton, las colonias se cosecharon en tubos que contenlan medio BHI y Medio 3, ambos con una cantidad equivalente de colonias de Campylobacter, incubàndolas - por 18-24 horas, a 42°C bajo condiciones microaerofílicas; después de la incubaci4n de estos tubos se tomo 0.01 ml., con asa calibrada y se resembr4 en medio s4lido de agar Mueller-Hinton sangre para observar la cantidad de crecimiento, las placas se incubaron como se describi4 anteriormente.

Posteriormente se realiz4 otra prueba de "overnigth" con medio 3, enriquecido con 5%, 3%, 1% con sangre de carnero, siguiendo la misma metodología descrita anteriormente.

Màs tarde se probaron los siguientes medios de cultivo en caldo: Medio Thio, Lombar-Dowel, Soya-Tripticasa (modificado 1 y 2), Caldo Eugon, y Wilkins-Cangred.

Para saber a que tiempo de incubaci4n se alcanz4 su fase logarítmica de crecimiento se realiz4 una curva de crecimiento la cual se dividi4 en 4 fases:

- Fase I : Inocular y realizar lectura a las 10 horas de incubación.
- Fase II: Inocular y realizar lectura a las 22 horas de incubación.
- Fase III: Inocular y realizar lectura a las 34 horas de incubación.
- Fase IV: Inocular y realizar lectura a las 48 horas de incubación.

Posteriormente se realizó una segunda curva de crecimiento con cuatro cepas distintas de Campylobacter. Los medios empleados fueron: Medio Thio, Medio Eugon, Medio Wilkins-Changred, y Caldo Soya-Tripticasa modificado 2. Esta curva de crecimiento se realizó como sigue:

- Paso 1 : Inoculación de las cepas en el medio caldo.
Lectura # 1 a las 0 horas de incubación.
- Paso 2 : Lectura # 2 a las 14 horas de incubación.
- Paso 3 : Lectura # 3 a las 16 horas de incubación.
- Paso 4 : Lectura # 4 a las 18 horas de incubación.
- Paso 5 : Lectura # 5 a las 20 horas de incubación.
- Paso 6 : Lectura # 6 a las 22 horas de incubación.
- Paso 7 : Lectura # 7 a las 24 horas de incubación.

En esta segunda curva de crecimiento se probaron 4 cepas distintas de Campylobacter con 4 medios de cultivo los cuales fueron: Medio Thio, Wilkins-Changred, Eugon y Soya-Tripticasa - modificado 2; una vez inoculados los tubos consus respectivos - medios y cepas se incubaron en Baño María con agitación a 42°C bajo condiciones microaerofílicas.

Despuès. de cada lectura se resemebrò en agar Mueller-Hinton para observar la viabilidad y crecimiento de las cepas de Campylobacter probadas. La resiembra se realizò con asa calibrada de 0.001 ml., e incubàndose a 42°C por 24-48 horas, posteriormente se realizò un frotis a cada cepa crecida en el -- agar de cada paso, para observar si habìa o no desarrollo de Campylobacter o contaminación (62).

Primeramente se realizò una curva de calibraciòn con los tubos del Estàndar de 1 Nefelòmetro de Mc. Farland en un espectrofotòmetro marca Beckman modelo 26 a una longitud de onda de 540 nm.

Posteriormente se realizò una prueba piloto de susceptibilidad, para analizar ciertas variables que intervienen en el desarrollo de la Prueba de Susceptibilidad de Diluciòn Seriada en Agar. DE los viales de caldo Brucella se resemebrò en agar Mueller-Hinton incubàndose por 24-48 horas a 42°C, màs tarde - las cepas crecidas se cosecharon en medio caldo Soya-Tripticasa modificado 2, ajustando al estàndar de Mc. Farland # 1, incubàndose en Baño Maria con agitaciòn por 18-20 horas a 42°C. Despuès del "overnigth" se ajustaron los tubos al Nefelòmetro # 2 de Mc. Farland, por ser un microorganismo de difícil crecimiento. Los cuatro agentes antimicrobianos probados fueron: - Amikacina, Eritromicina, trimetoprim, y Cefoperazona; èste último agente antimicrobiano actuò como control de calidad.

Las variables a estudiar fueron: pH, influencia en el número de agitaciones, influencia del medio al usar Trimetoprim (4,19,69). Se midio el pH antes de la inoculaciòn y èste fue de 7.2 para todas las concentraciones de los 4 agentes antimicrobianos.

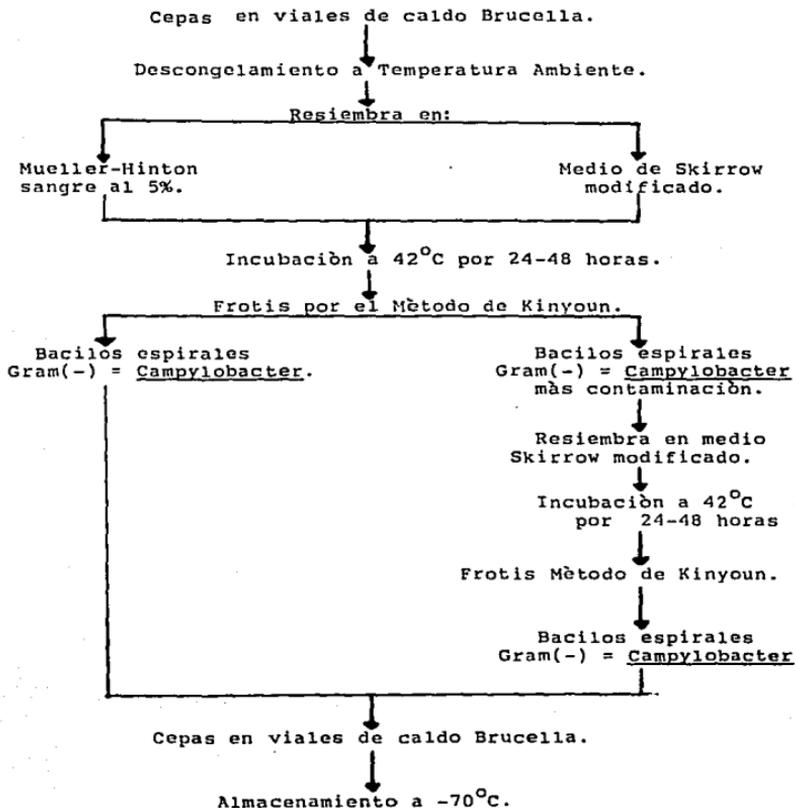
Anteriormente a la prueba piloto de susceptibilidad se --
realizó una prueba primaria para observar si otras cepas dife-
rentes desarrollaban mayor viabilidad en el Medio Soya-Tripti-
casa modificado 2, leyéndose en el espectrofotómetro. De las -
lecturas se obtuvo una media para observar el incremento del -
desarrollo de cada cepa de Campylobacter probada.

C U A D R O I I I .

Curva Experimental de Calibraciòn
del Estàndar del Nefelòmetro
de Mc. Farland.

Concentraci4on del Estàn dar de Mc. Farland.	Lectura del tubo a una a 540 nm en Transmitancia.
---	---

10 ³	99.8
10 ⁴	99.8
10 ⁵	99.8
10 ⁶	99.5
10 ⁷	96.9
10 ⁸	71.8
3 X 10	58.9
6 X 10	30.9
9 X 10	18.1
12 X 10	11.8
15 X 10	7.8
18 X 10	4.7
21 X 10	4.1
24 X 10	2.6
27 X 10	1.7
30 X 10	1.3

1. Recuperación de la viabilidad de las cepas de Campylobacter.

Dilución Seriada en Placa.

- 1) El método In Vitro, seleccionado para conocer el comportamiento de las cepas de *Campylobacter* ante la presencia de los 16 agentes antimicrobianos, en 10 y 12 concentraciones fue el de Dilución Seriada en Placa.
2. Los agentes antimicrobianos empleados fueron: ampicilina, aztreonam, amikacina, gentamicina, kanamicina, tobramicina, cefotaxima, ceftazidima, cefalotina, ácido nalidixico, eritromicina, furazolidona, tetraciclina, trimetoprim (TMP), sulfametoxazol (SMX), trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMX).
3. Los agentes antimicrobianos en forma de sales puras en polvo se pesaron, considerando su potencia o actividad biológica de tal manera que al diluir cada uno con sus respectivos diluyentes, se obtenga una solución madre de: ampicilina, aztreonam, amikacina, gentamicina, tobramicina, kanamicina, cefotaxima, ceftazidima, cefalotina, ácido nalidixico, eritromicina, furazolidona y tetraciclina de una concentración de 1280 ug/ml; y de trimetoprim, sulfametoxazol, y trimetoprim-sulfametoxazol de 2560 ug/ml.
4. De estas soluciones madres se tomó 1 ml y se colocó en el tubo # 1 y 1 ml en el tubo # 2, a partir del tubo # 2 se realizaron diluciones dobles. Las concentraciones obtenidas fueron las siguientes: t-1 1280 ug/ml; t-2 640 ug/ml; t-3 320 ug/ml; t-4 160 ug/ml; t-5 80 ug/ml; t-6 40 ug/ml; t-7 20 ug/ml; t-8 10 ug/ml; t-9 5 ug/ml; t-10 2.5 ug/ml; y por otro lado a partir de la solución madre de 2560 ug/ml; t-1 2560 ug/ml; t-2 1280 ug/ml; t-3 640 ug/ml; t-4 320 ug/ml; t-5 160

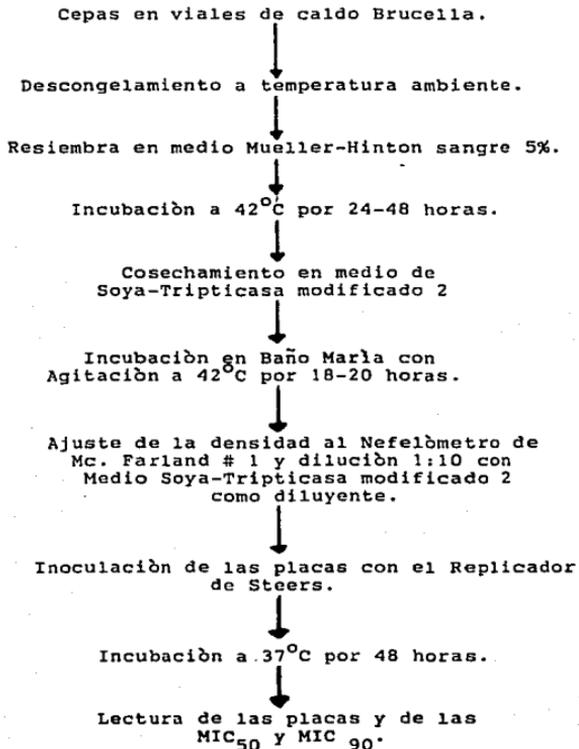
ug/ml; t-6 80 ug/ml; t-7 40 ug/ml; t-8 20 ug/ml; t-9 10 ug/ml; t-10 5 ug/ml; t-11 2.5 ug/ml; t-12 1.25 ug/ml.

5. Las concentraciones seleccionadas a probar fueron de: ampicilina, aztreonam, amikacina, gentamicina, kanamicina, tobramicina, cefotaxima, ceftazidima, cefalotina, ácido nalidixico, furazolidona, eritromicina y tetraciclina de 0.25 ug/ml, -- 0.5 ug/ml, 1.0 ug/ml, 2.0 ug/ml, 4.0 ug/ml, 8.0 ug/ml, 16 ug/ml, 32 ug/ml, 64 ug/ml, 128 ug/ml, y para TMP, SMX, y -- TMP-SMX de 0.125 ug/ml, 0.25 ug/ml, 0.5 ug/ml, 1.0 ug/ml, -- 2.0 ug/ml, 4.0 ug/ml, 8.0 ug/ml, 16 ug/ml, 32 ug/ml, 64 ug/ml, 128 ug/ml, 256 ug/ml.
6. Para conseguir tales concentraciones se prepararon cajas de petri con el agar Mueller-Hinton sangre al 5%, con las diluciones correspondientes del agente antimicrobiano, en volúmenes de 10 ml., por caja.
7. Las cepas por probar se inocularon en medio Mueller-Hinton sangre, las colonias crecidas se cosecharon en medio caldo Soya-Trypticase modificado 2, incubándose a 42°C por 18-22 horas con la finalidad de tener a los microorganismos en su fase logarítmica de crecimiento.
8. La densidad del cultivo se estandarizó con el Nefelómetro - de Mc Farland #1, a tener 3×10^8 bacterias/ml usando medio Soya-Trypticase modificado 2 como diluyente, más tarde se realizó una dilución de 1:10 con el mismo diluyente.
9. Se colocó 0.6 ml de cada cepa en los pozos del replicador - de Steers, inoculándose las placas de agar Mueller-Hinton - consangre de carnero al 5% conteniendo las diluciones dobles del agente antimicrobiano, con ayuda del replicador de

Steers, las cajas se dejan saecar en la zona de esterilidad de la inoculación, y posteriormente se incubaron en Jarras Anaeròbicas de Torbal bajo condiciones microaeròfilicas proporcionadas por un tanque de CO_2 , adaptado a una bomba de vacío y a una columna de mercurio, a 37°C por 48 horas. La concentración de CO_2 es de un 7%.

10. La lectura se realizó a las 48 horas, para observar la Concentración Mínima que inhibió al 50% y 90% de las cepas -- probadas para cada agente antimicrobiano.

2. Prueba de Susceptibilidad.



6. RESULTADOS Y
ANALISIS DE RESULTADOS.

6.1. Viabilidad de las cepas de Campylobacter.

La recuperación de las cepas realizada en los medios de -- cultivo de Skirrow modificado y en medio Mueller-Hinton, fue -- buena debido a que se recuperaron dichas cepas.

6.2. Realización del "overnight" para las cepas de Campylobacter.

La realización del "overnight" en los diferentes medios, así como la viabilidad presentada en estos medios fue como sigue:

- 1.) Para el medio BHI y el Medio 3, no se observó crecimiento en ambos, solo se vio turbidez y esta fue debida a la cantidad de inóculo.
- 2.) El medio enriquecido con 5%, 3%, 1% con sangre de carnero. - Al inocular no se observó turbidez, después de la inoculación el medio seguía igual en tanto que los eritrocitos se sedimentaron en el fondo del tubo, no hubo desarrollo en este medio después de inocular en una placa de agar Mueller-Hinton, por lo que se descartó este medio.
- 3.) Cuando se probaron los medios Thioglicolato, Lombar-Dowel y Soya-Tripticasa modificado 1, se observó que en el medio

Thio el desarrollo y recuperaci3n de las cepas de Campylobacter es buena . El medio Soya-Tripticasa se vi3 un poco turbio esto es quizas debido a los constituyentes del medio presentándose una pequeña sedimentaci3n de sales, pero la recuperaci3n es igual al del medio anterior por desarrollo de las cepas en medio Mueller-Hinton. El medio Lombar-Dowel no present3 desarrollo, por lo cual no se sigui3 en observaci3n.

- 4.) Para los medios Soya-Tripticasa modificado 2, Eugon, Wilkins-Changred la recuperaci3n es buena por lo que junto -- con el medio Thio se siguieron en observaci3n.
- 5.) La curva de crecimiento realizada en 4 fases, no di3 los -- resultados esperados debido a que en cada fase se inocul3 y por tanto no se tuvo una buena curva de crecimiento.
- 6.) La realizaci3n de la segunda curva de crecimiento con los diferentes medios y las diferentes cepas probadas se sigui3 para observar cual de estos medios le proporcionaba -- a las cepas mayor cantidad de nutrientes para mantener su viabilidad. Despu3s de cada lectura a un tiempo de incubaci3n se resembr3 con asa calibrada de 0,001 ml., y despu3s de incubarlas en medio Mueller-Hinton sangre se les realiz3 un frotis a cada cepa crecida mediante la t3cnica de -- tinci3n de Kinyoun, para observar su viabilidad as3 como -- la fase logar3tmica de crecimiento.
 - a) De la lectura 1 a las 0 horas, no se resembr3 en medio -- Mueller-Hinton sangre debido a que apenas se iniciaba fase de crecimiento.
 - b) En este estudio observamos que, los medios m3s adecuados -- para la viabilidad y la fase logar3tmica de crecimiento -- fueron: El medio Thio y el medio Soys-Tripticasa; el tiem-

po donde las cepas de Campylobacter tienen su fase Logarítmica de crecimiento es entre las 18-20 horas; esto se dedujo porque se observò un mayor crecimiento en dichas horas después de ser sembradas en medio agar Mueller-Hinton sangre de acuerdo con el significado de (+) que significa que hubo desarrollo de cepas de Campylobacter y (-) donde no lo hubo, donde existe diferencia en la absorbancia medida en cada cepa para cada medio de cultivo de acuerdo con la curva del Nefelòmetro, estos valores de absorbancia encontrados se localizaron entre los valores de 10^8 y 3×10^8 bacterias/ml que es la concentración adecuada y recomendada en la literatura para los microorganismos utilizados en la prueba de dilución seriada en placa.

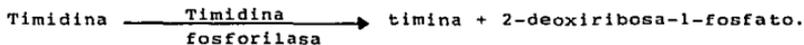
7.) En la prueba piloto para observar el desarrollo de viabilidad en el medio Soya-Tripticasa se observa un incremento de la lectura al utilizar este medio, para las 5 cepas utilizadas en esta prueba de viabilidad, lo que nos proporcionò información de que este medio es el adecuado para mantener la viabilidad y para alcanzar la fase Logarítmica de crecimiento de las cepas de Campylobacter.

8.) En la prueba piloto de susceptibilidad para medir ciertas variables, tales como el pH, la influencia del número de veces que se agitò y la influencia del medio. Los resultados fueron los siguientes:

- a) El pH inicial de los medios fue de 7.2 en tanto para los mismos medios después de la inoculación y del período de incubación este pH solo se viò un poco disminuido a altas concentraciones del agente antimicrobiano, lo cual puede deberse al tiempo de incubación, que es de 48 horas.
- b) La influencia del número de agitaciones del mezclado del agente antimicrobiano y el agar Mueller-Hinton sangre, no obtuvo efecto significativo sobre el medio de cultivo, su

uniformidad y el crecimiento de las cepas de Campylobacter, es decir, no existe diferencia significativa entre los tubos agitados 4 y 10 veces, por lo que se recomendò un número de agitaciones de 6-8 veces. Existiendo una buena uniformidad del medio de cultivo en las placas (69).

c) El probar trimetoprim fue con la finalidad de observar el efecto que tiene la timidina presente en el medio. Por referencia en la literatura (4,19), se conoce que existen problemas al probar las sulfonamidas y el trimetoprim, al parecer esto sucede durante el tiempo de incubación donde se libera un producto final del metabolismo del folato. Tales metabolitos podrían facilitar a los microorganismos a eludir los efectos inhibitorios, los cuales interfieren con la biosíntesis del hidrofolato (sulfonamidas) o su reducción (TMP), de acuerdo con las referencias arriba citadas, ésta indica el uso de sangrelisada de caballo para disminuir este problema o el agregar timidina fosforilasa, porque esta timidina fosforilasa reduce a la timidina a timina mediante la siguiente reacción:



Al probar sangre de carnero no se observò efectos de zonas de inhibición, por lo que se empleo este tipo de sangre de carnero para los ensayos con estos agentes antimicrobianos.

C U A D R O IV.

Curva de crecimiento Experimental a 4 Cepas de Campylobacter en 4 medios de cultivo diferentes.

LECTURA 1.		0 horas.				Frotis/viabilidad.			
Cepas	Medios								
Cepa	W-C	S-T	Eug.	Thio.	W-C	S-T	Eug.	Thio.	
P 172	48.9	32.5	23.0	34.7	-	-	-	-	
P 282	38.4	37.2	27.6	35.6	-	-	-	-	
P 373	77.9	29.8	6.8	31.5	-	-	-	-	
P 383	22.2	15.2	25.4	14.8	-	-	-	-	

LECTURA 2. 14 horas.

Cepas	W-C	S-T	Eug.	Thio.	W-C	S-T	Eug.	Thio.
P 172	71.3	39.2	52.7	53.6	-	-	-	-
P 282	47.7	40.1	35.6	42.7	-	-	-	-
P 373	76.3	31.7	27.1	34.0	-	+	+	+
P 383	26.1	12.5	43.7	22.6	-	-	-	-

LECTURA 3. 16 horas.

Cepas	W-C	S-T	Eug.	Thio.	W-C	S-T	Eug.	Thio.
P 172	58.1	35.3	46.2	44.8	-	+	+	+
P 282	57.7	46.8	5.9	42.1	-	+	-	+
P 373	74.5	30.0	32.7	31.1	-	+	+	+
P 383	27.4	15.9	20.4	20.2	-	+	-	+

+ = viabilidad de la cepa.

- = no viabilidad de la cepa.

LECTURA 4. 18 horas.

Cepa	W-C	S-T	Eug.	Thio.	W-C	S-T	Eug.	Thio.
P 172	79.7	50.0	58.0	51.2	-	+	+	+
P 282	51.0	55.3	2.7	37.2	-	+	-	+
P 373	86.0	36.9	38.4	29.4	-	+	+	+
P 383	28.6	18.6	7.8	16.6	-	+	-	+

LECTURA 5. 20 horas.

Cepa	W-C	S-T	Eug.	Thio.	W-C	S-T	Eug.	Thio.
P 172	72.5	41.5	54.2	76.6	+	+	+	+
P 282	46.1	39.8	2.2	54.1	+	-	+	-
P 373	61.8	30.8	27.2	38.0	+	-	+	+
P 383	23.3	14.7	2.9	25.4	+	-	-	-

LECTURA 6. 22 horas.

Cepas	W-C	S-T	Eug.	Thio.	W-C	S-T	Eug.	Thio.
P 172	70.6	33.4	49.7	57.5	-	+	-	-
P 282	58.0	37.3	22.5	52.1	-	+	-	-
P 373	99.5	26.7	31.6	38.3	-	+	-	-
P 383	32.9	10.6	2.3	25.0	-	+	+	-

LECTURA 7. 24 horas.

Cepas	W-C	S-T	Eug.	Thio.	W-C	S-T	Eug.	Thio.
P 172	83.0	47.8	46.4	59.2	-	+	+	+
P 282	49.5	56.0	2.1	42.6	-	-	-	+
P 373	76.6	35.3	23.4	37.7	-	+	+	+
P 383	27.5	17.3	1.8	21.6	-	+	-	+

+ = viabilidad de la cepa.

- = no viabilidad de la cepa.

C U A D R O : IV.

INCREMENTO DEL DESARROLLO DE 5 CEPAS DE
Campylobacter en MEDIO SOYA TRIPTICASA
MODIFICADO 2.

CEPA IDEN TIFICADA	LECTURA INICIAL	1a LEC- TURA.	2a LEC- TURA.	3a LEC- TURA.	SUMATORIA DE LECTURAS	LECTURA FINAL	INCREMENTO DE LECTURAS.
LERO 323	0.7	9.5	8.2	8.6	26.3	8.766	8.0666
LUMM 260	1.4	5.7	6.1	5.8	17.6	5.8666	4.4666
P 69	0.8	2.0	2.4	2.4	6.8	2.2666	1.466
P 282	2.3	7.8	8.5	8.9	25.2	8.4	6.1
GARD 277	2.1	6.3	6.7	6.2	19.2	2.1	4.3

Se realizó estas lecturas en un espectrofotometro marca Bockman modelo 26

C U A D R O VI.

Medición del pH a 2 Agentes Antimicrobianos
a Diferentes Concentraciones después de
Incubación a 37°C por 48 horas.

pH inicial antes de incubación = 7.2 ± 2.

Concentración del Agente Antimicrobiano.	pH final después de incubación de:	
	Amikacina.	Eritromicina.
0.25 ug/ml.	7.0	7.2
2.0 ug/ml.	7.0	7.2
8.0 ug/ml.	7.0	7.2
16.0 ug/ml.	7.0	7.2
32.0 ug/ml.	6.8	6.8
128.0 ug/ml.	6.8	6.8

6.3. Susceptibilidad a los Agentes Antimicrobianos.

Los datos sobre la susceptibilidad a los 16 agentes antimicrobianos más utilizados en la clínica, en el Hospital Infantil de México, para las cepas de Campylobacter se disponen en las tablas 8, 9, 10, 11, 12 en número y porcentaje de susceptibilidad, de resistencia, así como la concentración inhibitoria mínima 50 y 90, se anexa en la tabla 8 los Estándar de Concentración Inhibitoria Mínima tomada como referencia de la NCCLS.

En la tabla 9, lo más notable es el porcentaje de susceptibilidad y de susceptibilidad intermedia a la mayoría de los agentes antimicrobianos, con excepción del aztreonam que presenta un 98.0 % de resistencia bacteriana; de cefalotina, trimetoprim con un 100 % de cepas resistentes; de Trimetoprim-sulfametoxazol un 98 % de cepas resistentes y un 44 % de resistencia bacteriana para sulfametoxazol. La tetraciclina también presenta un alto porcentaje de resistencia bacteriana, 17.6 %.

En la tabla 10, se observa los rangos de las concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) que inhibieron el 50 % y el 90 % de las cepas de Campylobacter (CIM₅₀ y CIM₉₀ respectivamente). Estos valores se acercan a lo reportado en la literatura por Buck (8), Elharrif (18), Fliegelman (20), Karma (34), Michael (45), Wang (79).

La distribución de las CIMs de los diferentes agentes antimicrobianos contra las cepas de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli se resumen en las tablas 11 y 12, hablando en número y porcentaje de cepas susceptibles respectivamente.

En general, las penicilinas mostraron buena actividad contra las cepas de Campylobacter. La ampicilina necesitò de una concentraciòn de 8 ug/ml para inhibir el 51.0 % del nùmero de cepas. El grupo de las cefalosporinas muestra solo una moderada a pobre actividad contra las cepas de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli. Encontràndose que la cefotaxima fue el compuesto màs activo el cual requiriò de una concentraciòn de 16 y 32 ug/ml para 75.0 % y el 100 % de las cepas respectivamente; en tanto todas las cepas muestran resistencia a ceftazidima y cefalotina a una concentraciòn de 64 ug/ml y mayor de 128 ug/ml respectivamente.

Los aminoglucòsidos fueron en este estudio los compuestos màs activos contra Campylobacter. En general la gentamicina es el que mostrò mayor actividad, ya que con una concentraciòn de 0.5 y 1.0 ug/ml inhibieron el 88.2% y 98.0 % de las cepas probadas respectivamente; amikacina necesitò de una concentraciòn de 1 ug/ml y 2 ug/ml para inhibir el 87.3 % y 96.1 %, en con esas mismas concentraciones tobramicina inhibiò el 66.0 % y 98.0 % respectivamente, en tanto la kanamicina necesitò de 4 ug/ml y 8 ug/ml para inhibir el 60.0 % y 92.0 % respectivamente, de las cepas probadas.

La tetraciclina presentò una resistencia bacteriana del 17.8 %. Este elevado nivel de resistencia se observò a una concentraciòn de 64 ug/ml y a una mayor de 128 ug/ml. Las cepas resistentes a tetraciclina no mostraron reacciòn cruzada con algùn otro agente antimicrobiano.

La eritromicina tuvo buena actividad contra las cepas de Campylobacter, se requiriò de una concentraciòn de 2 ug/ml para inhibir el 78.4 % y de 4 ug/ml para inhibir el 96.1 % de las cepas probadas. Solo 2 cepas fueron altamente resistentes

a eritromicina con una Concentraciòn Inhibitoria Mìnima (CIM)= 128 ug/ml, representando el 3.9 % de resistencia, ninguna de las 2 cepas mostrò resistencia cruzada con otro agente antimicrobiano.

El àcido nalidixico tuvo una buena actividad contra las cepas de Campylobacter ya que se necesitò una concentraciòn de 8 ug/ml para inhibir el 72.8 % y de 16 ug/ml para inhibir el 98.0 % de las cepas probadas.

Aztreonam tuvo una pobre o nula actividad contra Campylobacter porque necesitò de una concentraciòn mayor de 128 ug/ml para inhibir el 50.0 % y el 90 % de las cepas probadas.

Furazolidona presentò gran actividad, necesitando solo de 1 ug/ml y 2 ug/ml para inhibir el 88.0 y el 98.0 de las cepas de Campylobacter probadas. Encontràndose solo una cepa resistente a este agente antimicrobiano a una Concentraciòn Inhibitoria Mìnima (CIM)= 64 ug/ml. Observando que tampoco tuvo reacciòn cruzada con otro agente antimicrobiano.

Las Concentraciones Inhibitorias Mìnimas (CIMs) para sulfametoxazol, trimetoprim-sulfametoxazol y trimetoprim, fueron elevadas, encontràndose para el primero un 44.0 % de cepas resistentes y un 56.0 % de cepas susceptibles a una concentraciòn menor o igual de 256 ug/ml. En tanto para trimetoprim-sulfametoxazol se observò un 98.0 % de cepas resistentes y por ùltimo para trimetoprim se registrò el 100.0 % de resistencia bacteriana.

T A B L A 8. ESTANDAR DE CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA
ug/ml A TRES CATEGORIAS DE SUSCEPTIBILIDAD.

AGENTES ANTIMICROBIANOS	C I M ug/ml.			
	RANGO DE CONCENTRACION	SUSCEP- TIBLES.	MODERADAMENTE SUSCEPTIBLES.	RESIS- TENTES.
AMPICILINA	0.25-128	8	16	32
AZTREONAM	0.25-128	8	16	32
AMIKACINA	0.25-128	16	32	64
GENTAMICINA	0.25-128	4	8	16
KANAMICINA	0.25-128	16	32	64
TOBRAMICINA	0.25-128	4	8	16
CEFOTAXIMA	0.25-128	8	16-32	64
CEFTAZIDIMA	0.25-128	8	16	32
CEFALOTINA	0.25-128	16	16	32
AC. NALIDIXICO	0.25-128	16	-	32
ERITROMICINA	0.25-128	0.5	1-4	8
FURAZOLIDONA	0.25-128	2	-	-
TETRACICLINA	0.25-128	4	8	16
TRIMETOPRIM	0.125-256	8	-	16
SULFAMETOXAZOL	0.125-256	256	-	512
TMP - SMX	1:19	2:38	-	4:76

TMP - SMX = Trimetoprim-sulfametoxazol.

TOMADA DE LA NCCLS.

T A B L A 9. NUMERO Y POR CIENTO DE CEPAS DE Campylobacter jejuni y Campylobacter coli SENSIBLES A 16 AGENTES ANTIMICROBIANOS, MEDIDAS POR EL METODO DE CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA (CIM ug/ml).

AGENTES ANTIMICROBIANOS	NUM. DE CEPAS PROBADAS	C I M (ug/ml).						
		RANGO DE CONCENTRACION.	NUM. DE SENSIBLES.	POR CIENTO DE SENSIBLES.	NUM. DE MOD. SEN.	POR CIENTO DE MOD. SEN.	NUM. DE RESISTENTES	POR CIENTO DE RESISTENTES
AMPICILINA	51	0.25-128	26	51.0	19	97.3	5	9.8
AZTREONAM	51	0.25-128	0	0	1	2.0	50	98.0
AMIKACINA	51	0.25-128	50	98.0	1	2.0	0	0
GENTAMICINA	51	0.25-128	51	100.0	0	0	0	0
KANAMICINA	50	0.25-128	50	100.0	0	0	0	0
TOBRAMICINA	50	0.25-128	49	98.0	0	0	1	2.0
CEFOTAXIMA	44	0.25-128	8	18.2	30	81.8	0	0
CEFTAZIDINA	44	0.25-128	0	0	2	4.6	42	95.4
CEFALOTINA	43	0.25-128	0	0	0	0	43	100.0
AC NALIDIXICO	51	0.25-128	50	98.0	0	0	1	2.0
ERITROMICINA	51	0.25-128	12	23.5	37	72.6	2	3.9
FURAZOLIDONA	50	0.25-128	23	46.0	26	52.0	1	2.0
TETRACICLINA	51	0.25-128	41	80.4	0	0	10	17.6
TRIMETOPRIM	50	0.125-256	0	0	0	0	50	100.0
SULFAMETOXAZOL	50	0.125-256	28	56.0	0	0	22	44.0
TMP - SMX.	50	0.125-256	1	2.0	0	0	49	98.0

TMP-SMX = trimetoprim-sulfametoxazol
(concentraci3n 1:5 de TMP-SMX).

T A B L A 10. CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA₅₀, CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA₉₀ DE 51 CEPAS DE Campylobacter jejuni y Campylobacter coli A 16 AGENTES ANTIMICROBIANOS.

AGENTES ANTIMICROBIANOS.	NUMERO DE CEPAS PROBADAS	C I M (ug/ml).		
		RANGO DE CONCENTRACIONES EN ug/ml.	C I M ₅₀	C I M ₉₀
AMPICILINA	51	0.25-128	8	32
AZTREONAM	51	0.25-128	128	128
AMIKACINA	51	0.25-128	1	2
GENTAMICINA	51	0.25-128	0.5	1
KANAMICINA	50	0.25-128	4	8
TOBRAMICINA	50	0.25-128	1	2
CEFOTAXIMA	44	0.25-128	16	32
CEFTAZIDIMA	44	0.25-128	64	128
CEFALOTINA	43	0.25-128	128	128
AC. NALIDIXICO	51	0.25-128	8	16
ERITROMICINA	51	0.25-128	2	4
FURAZOLIDONA	50	0.25-128	1	2
TETRACICLINA	51	0.25-128	1	64
TRIMETOPRIM	50	0.125-256	256	256
SULFAMETOXAZOL	50	0.125-256	256	256
TMP - SMX.	50	0.125-256	256	256

TMP - SMX = trimetoprim-sulfametoxazol (concentración 1:5 de TMP-SMX).

T A B L A : 11

NUMERO DE CEPAS DE Campylobacter jejuni y Campylobacter coli SUSCEPTIBLES A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE 16 AGENTES ANTIMICROBIANOS, MEDIDAS POR EL METODO DE CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA.

AGENTES ANTIMICROBIANOS	NUM. DE CEPAS PROB.	NUMERO DE CEPAS POR CIM (ug/ml) POR 48 hs. a 37°C												128	156	256	
		0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128						
AMPICILINA	51		1		1	7	17	19	5		1						
AZTREONAM	51																
AMIKACINA	51	1	11	32	5		1		1	10	14			26			
GENTAMICINA	51	19	26	5	1												
CLAVANAMICINA	50			1	13	16	16	4									
COBRAMICINA	50		5	28	16			1									
CEFTAXIMA	44						7	25	11								
CEFTAZIMIMA	44				1			2	13								
CEFALOTINA	43								1	1							
C. NALIDIXICO	51							37	13					40			
FLORANIDEX	51	1	11	12	16	9								1			
FLORAZOLIDONA	50	9	14	21	5												
NETRACICLINA	51	6	11	12	7	5				6				1			
TRIMETOPRIM	50													7			
SULFAMETOXAZOL	50													1			
TMP - SMX	50													1			
														43			
														27			22
														14			35

TMP - SMX = Trimetoprim-Sulfametoxazol (Concentración de 1:5 de TMP-SMX).

T A B L A : 12. POR CIENTO DE CEPAS DE *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* SENSI BLES A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE 16 AGENTES ANTIMICROBIANOS MEDIDAS POR EL METODO DE CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA.

AGENTES ANTIMICROBIANOS	NUM. DE CEPAS PROB.	POR CIENTO DE CEPAS POR CIM (ug/ml) POR 48 hs. A 37°C.												
		0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	128	256	256
AMPICILINA	51		2.0	2.0	3.9	17.7	51.0	88.2	98.0	98.0	100			
AZTREONAM	51							2.0	2.0	21.6	49.0	100		
AMIKACINA	51	2.0	23.5	87.3	96.1	96.1	98.0	98.0	100					
GENTAMICINA	51	37.3	88.2	98.0	100									
KANAMICINA	50			2.0	28.0	60.0	92.0	100						
TOBRAMICINA	50		10.0	66.0	98.0	98.0	98.0	100						
CEFOTAXIMA	44				2.3	2.3	18.2		100					
CEFTAZIDINA	44							4.6	34.1	86.4	100			
CEFALOTINA	43								2.3	4.7	7.0	100		
AC. NALIDIXICO	51						72.6	98.0	98.0	98.0	98.0	100		
ERITROMICINA	51	2.0	23.5	47.1	78.4	96.1	96.1	96.1	96.1	96.1	100			
FURAZOLIDONA	50	18.0	46.0	88.0	98.0	98.0	98.0	98.0	98.0	100				
TETRACICLINA	51	11.8	33.3	56.7	70.6	80.4	80.4	80.4	80.4	92.2	98.0	100		
TRIMETOPRIM	50										14.0		100	
SULFAMETOXAZOL	50										2.0		54.0	44.0
TMP -SMX	50										2.0		28.0	70.0

-TMP - SMX = Trimetoprim - Sulfametoxazol (Concentracion de 1:5 de TMP-SMX).

7. D I S C U S I O N .

Existe un gran número de razones por las cuales la enfermedad producida por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, habitualmente no son detectadas, ya que se requieren de condiciones de aislamiento y cultivo idóneas para el crecimiento de este microorganismo.

Como se dijo anteriormente el papel patogénico de estos microorganismos en enfermedades humanas han sido recientemente reconocidas.

La enteritis producida por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, ocurre en todas las edades, pero principalmente en niños menores de 2 años de edad y la diarrea se puede presentar en diversas formas clínicas como son: aguda, purulenta, teñida de sangre y es también acompañada por fiebre. En otros casos, la diarrea puede estar acompañada por vómito y náuseas pero principalmente por deshidratación y disturbios en el balance electrolítico.

Los resultados de la presente investigación sobre la susceptibilidad In Vitro de 51 cepas de Campylobacter jejuni y -- Campylobacter coli aisladas de pacientes en el Hospital Infantil de México "Federico Gómez" a 16 agentes antimicrobianos -- utilizados, fue en general de acuerdo con lo reportado por -- otros investigadores (1,8,11,18,20,24,34,45,79).

Se observó que los agentes Beta-lactámicos; ampicilina y aztreonam presentan diferencias en cuanto a actividad contra --

Campylobacter jejuni y Campylobacter coli. En el mismo estudio, nosotros encontramos además una moderada actividad por -- parte de cefotaxima, una nueva cefalosporina parenteral semi-- sintética que es aparentemente más eficaz contra Campylobacter jejuni y Campylobacter coli en comparación con otras cefalosporinas probadas.

Los aminoglucósidos demostraron ser muy activos contra -- Campylobacter jejuni y Campylobacter coli. Siendo la gentamicina el agente antimicrobiano más eficaz para inhibir el crecimiento de estas bacterias. El 88.2 % de nuestras cepas fueron inhibidas por gentamicina a una concentración de 0.5 ug/ml y -- todas fueron inhibidas a una concentración de 2.0 ug/ml. Esto en general esta de acuerdo con lo reportado por Karmali y -- cols., (34).

La gentamicina parenteral ha sido usada acertadamente en el tratamiento de septicemia producida por Campylobacter jejuni. El valor de la terapia oral con agentes antimicrobianos -- no absorbibles tales como gentamicina en enteritis por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli es desconocido (34). También la gentamicina ha sido utilizada en asociación con ampicilina en el tratamiento de meningitis neonatal producidas por -- Campylobacter jejuni (28).

La eritromicina presentó una excelente actividad contra -- Campylobacter jejuni y Campylobacter coli con un 96.1 % de cepas sensibles al agente antimicrobiano, lo que va de acuerdo a lo reportado por otros autores (8,20,34,45,74,76,79). En nuestro estudio sólo 2 cepas fueron altamente resistentes a este -- agente antimicrobiano con una CIM = 128 ug/ml.

Las cepas de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli -- probadas fueron en general sensibles a tetraciclina, excepto 10 cepas (17.6 %) que mostraron una elevada resistencia a este -- agente antimicrobiano con una CIM = 64 ug/ml y mayor de 128 -- ug/ml, esto es probablemente debido a la presencia de plásmi-- dos en cepas de Campylobacter jejuni como ha sido reportado -- por Taylor y Tenover (71,72).

Furazolidona fue uno de los agentes antimicrobianos que -- mostrò una excelente actividad contra las cepas de Campylobac-- ter jejuni y Campylobacter coli probadas. La furazolidona po-- dría ser una adecuada elección en el tratamiento de enteritis en los casos que se indique.

También ácido nalidíxico mostrò una muy buena actividad -- contra las cepas de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli. probadas inhibiendo el 98.0 % de dichas cepas a una concentra-- ción de 16 ug/ml.

Sulfametoxazol sólo inhibió el 56.0 % de las cepas de Cam-- pylobacter; en nuestro estudio la asociación de trimetopri-sul-- fametoxazol mostrò nula actividad contra Campylobacter jejuni y Campylobacter coli.

Trimetoptim es inactivo. Este agente antimicrobiano es -- uno de los 4 agentes antimicrobianos incorporados en el medio selectivo de Skirrow empleado en el Hospital Infantil de Méxi-- co "Federico Gómez", para el aislamiento primario de Campylo-- bacter a partir de evacuaciones.

8. CONCLUSIONES.

1. Nosotros logramos la adaptación de una técnica confiable para la Prueba de Susceptibilidad In Vitro a Campylobacter jejuni y Campylobacter coli ya que ésta puede ser reproductible.
2. El Patrón de Susceptibilidad encontrado fue: furazolidona, gentamicina, tobramicina, kanamicina, amikacina, y ácido nalidíxico mostraron una excelente actividad. La ampicilina, eritromicina y tetraciclina también fueron activas con excepción de las cepas resistentes encontradas.
3. Así mismo, aztreonam, ceftazidima, cefalotina fueron ineficaces contra estas cepas de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli probadas. Trimetoprim-sulfametoxazol en una proporción en concentración de 1:5 mostró nula actividad y todas las cepas fueron resistentes a trimetoprim.
4. Aunque es discutible el uso de agentes antimicrobianos en el tratamiento de las diarreas bacterianas producidas por Campylobacter jejuni y Campylobacter coli, nuestros resultados sugieren que furazolidona, gentamicina, tobramicina, amikacina, kanamicina y ácido nalidíxico son altamente activos contra las cepas de Campylobacter jejuni

y Campylobacter coli probadas de pacientes pediátricos - con diarrea y pueden ser de utilidad en infecciones sistémicas producidas por estas bacterias.

5. Si los agentes antimicrobianos continúan siendo administrados en forma empírica para el tratamiento de la diarrea aguda bacteriana, el desarrollo de cepas resistentes se vería incrementado, por lo que el presente estudio resulta de gran utilidad para proporcionar al médico una guía en la elección del agente antimicrobiano para el tratamiento de la enteritis y de las infecciones sistémicas producidas por Campylobacter.

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

1. Andreassen Jan Jasper.: In Vitro Susceptibility of Campylobacter jejuni and campylobacter coli Isolated In Denmark to Fourteen Antimicrobial Agents. Acta Path. Microbiol. Immunol. --- Scand. Sect. B. 95: 189-192, 1987.
2. Balakrish Nair G., Chowdhury S., Das P., Pal S., and Pal S. C.: Improved Perservation Medium for Campylobacter jejuni. J. Clin. Microbiol. 19: 298-299, 1984.
3. Blaser Martin J., Berkowitz Ivor D., LaForce F., Cravens James., Reller Barth., and Wang Wen-Lan Lou.: Campylobacter Enteritis: Clinical and Epidemiologic Features. Ann. Intern. Med. 91: 179-185, 1979.
4. Bopp Cheryl A., Wells Joy G., and Barrett Timothy J.: Trimetoprim Activity in Media Selective for campylobacter jejuni. - J. Clin. Microbiol. 16: 808-812, 1982.
5. Bradbury Wayne C., and Munroe Donna L. G.: Occurrence of Plasmids and Antibiotic Resistance among Campylobacter jejuni and Campylobacter coli Isolated from Healthy and Diarrheic Animals. J. Clin. Microbiol. 22: 339-346, 1985.
6. Buck George E., and Kelly Michael T.: Effect of Moisture Content of the Medium on Colony Morphology of Campylobacter fetus subsp. jejuni. J. Clin. Microbiol. 14: 585-586, 1981.

7. Buck George E., Fojtasek Cathy., Calvert Kathleen., and Kelly Michael T.: Evaluation of the CampyPak II Gas Generator System for Isolation of Campylobacter fetus subsp. jejuni. J. Clin. Microbiol. 15: 41-42, 1982.
8. Buck George E., and Kelly Michael T.: Susceptibility Testing of Campylobacter fetus subsp. jejuni Using Broth Microdilution Panels. Antimicrob. Agents Chemother. 21: 274 - 277, 1982.
9. Butzler Jean-Paul.: Campylobacter Infection in Man and Animals., Thir Printing. CRC. Press. Inc. 1985.
10. Calderon Jaimes Ernesto.: Aplicación Clínica de Antibióticos y Quimioterápicos. Editor Francisco Medez Cervantes, - México D. F., 1984, 5a Edición.
11. Carlson James R., Thornton Scott A., DuPont Herbert L., -- West Hanna A., and Mathewson John J.: Comparative In Vitro Activities of Ten Antimicrobial Agents Against Bacterial Enteropathogens. Antimicrob. Agents Chemother. 24: 509-513, 1983.
12. Coyle Marie B., Lampe Mary., Aitken Connie L., Feigl Polly., and Sherris John C.: Reproducibility of Control Strains for Antibiotic Susceptibility Testing. Antimicrob. Agents Chemother. 10: 436-440, 1976.
13. Cruz González Rubén de la., y Calderón Jaimes Ernesto.: Pared Celular de las Bacterias Gramnegativas. En Infectología. 11: 675-682, 1982.

14. Chan F. T. H., and Mackenzie A. M. R.: Enrichment Medium and Control System for Isolation of Campylobacter fetus subsp. jejuni from Stools. J. Clin. Microbiol. 15: 12-15, 1982.
15. Chou Shu Pang., Dular R., and kasatiya Shanti.: Effect of - Ferrous Sulfate, Sodium Metabisulfite, and Sodium Pyruvate on Survival of Campylobacter jejuni. J. Clin. Microbiol. 18: 986-987, 1983.
15. Cow Anthony W., Patten Valerie., and Bednorz Dominick.: Sug
bis ceptibility of Campylobacter fetus to Twenty-Two Antimicro-
bial Agents. Antimicrob. Agents chemother. 13: 416-418, --
1978.
16. Delvin Roselyn H., and McIntyre Lynn.: Campylobacter fetus
subsp. fetus in Homosexual Males. J. Clin. Microbiol. 18:
999-1000, 1983.
17. Edmonds Paul., Patton Charlotte M., Barrett Timothy J., Mo--
rris George K., Steigerwalt Arnold G., and Brenner Don J.:
Biochemical and Genetic Characteristics of Atypical Campylo
bacter fetus subsp. fetus Stains Isolated from Humans in --
United States. J. Clin. Microbiol. 21: 936-940, 1985.
18. Elharrif Zoubida., Mégraud Francis., and Marchand Anne-Ma--
rrie.: Susceptibility of Campylobacter jejuni and Campylo--
bacter coli to Macrolides and Related Compounds. Antimi---
crob. Agents Chemother. 28: 695-697, 1985.
19. Ferone R., Bushby S. R. M., Burchall J.J., Moore W.D., and
Smith D.: Identification of Harper-Cawston Factor as Thymi-
dine Phosphorylase and Removal from Media of Substances and
Diaminopyrimidines. Antimicrob. Agents Chemother. 7: 91-98,
1975.

20. Fliergelman Robert M., Petrak Russell M., Goodman Larry J., Segreti John., Threnholme Gordon M., and Kaplan Raymond L.: Comparative In Vitro Activities of Twelve Antimicrobial -- Agents Against Campylobacter Species. Antimicrob. Agents - Chemother. 27: 429-430, 1985.
21. Gilchrist M. J. R., Grewll C. M., and Washington II J. A.: Evaluation of Media for Isolation of Campylobacter fetus -- subsp. jejuni from Fecal Specimens. J. Clin. Microbiol. - 14: 393-395, 1981.
22. Gino Cerezo Silvia.: Prueba de Bauer-Kirby para sensibilidad a los antimicrobianos. Infectología 7: 325-329, 1983.
23. Gómez Barreto D., González Saldaña N., y Pérez Escobedo José.: Gastroenteritis. En Infectología Clínica Pediátrica. - Gómez Saldaña N., Torrales Torrales Andrés., Gómez Barreto D., Eds. Editorial Trillas. México D. F., 1987, 3a Edición. págs. 146-175.
24. Goodman Larry J., Fliergelman Robert M., Threnholme Gordon - M., and Kaplan Raymond L.: Comparative In Vitro Activity of Ciprofloxacin Against Campylobacter spp. and Other Bacterial Enteric Pathogens. Antimicrob. Agents Chemother. 25: 504-506, 1984.
25. Goodman Tom G., and Hoffman Paul S.: Hydrogenase Activity - in Catalase-Positive Strains of Campylobacter spp. J. Clin. Microbiol. 18: 825-829, 1983.
26. Goossens H., De Broeck M., and Butzler J. P.: A New Selective Medium for the Isolation of Campylobacter jejuni from Human Faeces. Eur. J. Clin. Microbiol. 2: 389-394, 1983.

27. Goossens Herman., De Mol Patrick., Coignau Hugo., Levy Jack. Ghussels Guido., Innocent Habyaremye., and Butzler Jean-Paul.: Comparative In Vitro Activities of Aztreonam, Ciprofloxacin, Norfloxacin, Ofloxacin. HR 810 (a New Cephalosporin), RU28965 (a New Macrolide), and Other Agents Against Enteropathogens. Antimicrob. Agents Chemother. 27: 288-392, -- 1985.
28. Goossens Herman ., Henoque Geneviève., Kremp Louis., Rocque Jean., Boury Richard., Alanio Georges., Vlaes Linda., Hemelhof Win., Van Den Borre Chantal., Macart Michel., and Butzler Jean-Paul.: Nosocomial Outbreak of Campylobacter jejuni Meningitis in Newborn Infants. Lancet. 19: 146-149, 1986.
29. Guerrant Richard L., Jalite Robert G., Winn Washington C., and Roberts Richard B.: Campylobacteriosis in Man; Pathogenic Mechanism and Review of 91 Bloodstreams Infection. -- Am. J. med. 65: 584-592, 1978.
30. Hérbert G. Ann., Hollies D. G., Weaver R.E., Lambert M. A., Blaser M. J., and Moss Wayne C.: 30 Years of Campylobacter: Biochemical Characteristics and Biotyping Proposal for Campylobacter jejuni. J. Clin. Microbiol. 15: 1065-1073, -- 1982.
31. Hérbert G. Ann., Hollis D. G., Weaver R.E., Steigerwalt A. G., McKinney R. M., and Brenner D.J.: Serogroups of Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, and Campylobacter fetus Defined by Direct Immunofluorescence. J. Clin. Microbiol. 17: 529-538, 1983.

32. Hérbert G. Ann., Penner John L., Hennessy Joan., and McKinney Roger M.: Correlation of an Expanded Direct Fluorescent-Antibody System with an Established Passive Hemagglutination System for Serogrouping Strains of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. J. Clin. Microbiol. 18: 1064-1069, 1983.
33. Karmali M. A., and Fleming P. C.: Campylobacter enteritis - in children. J. Pediatr. 94: 527-533, 1979.
34. karmali M. A., De Gradis S., And Fleming P.C.: Antimicrobial Susceptibility of Campylobacter jejuni with Special Reference to Resistance Patterns of Canadian Isolates. Anti microb. Agents Chemother. 19: 593-597, 1981
35. Karmali Mohameda A.: Bacterial diarrhea: An update. Diagnostic Med. 12: 12-19, 1985.
36. Kumate Jesús., Macotela Ernesto., y Peredo Miguel Angel.: - Gula para el uso práctico de antimicrobianos. Edt. Colección Textos Médicos IMSS. México D.F., 1981, págs. 39-40.
37. Lampe mary F., Aitken Connie L., Dennis Patricia G., Forsythe Patricia S., Patrick Kathryn E., Schoenknecht Fritz D., and Serris John C.: Relationship of Early Readings of Minimal Inhibitory Concentrations to the Results of Overnight - Tests. Antimicrob. agents Chemother. 8: 429-433, 1975.
38. Lastovica A. J., Le Roux Elza., Congi Rosa V., and Penner - J. L.: Distribution of sero-biotypes of Campylobacter jejuni and C. coli isolated from paediatric patients. J. Med. Microbiol. 21: 1-5, 1986.

39. Lior Hermy.: New, Extended Biotyping Scheme for Campylobacter jejuni, Campylobacter coli, and "Campylobacter laridis" J. Clin. Microbiol. 20: 636-640, 1984.
40. Luechtefeld Nancy W., Reller Barth L., Blaser Martin J., -- and Wang Wen-Lan L.: Comparison of Atmospheres of Incubation for Primary Isolation of Campylobacter fetus subsp. jejuni from Animal Specimens: 5% Oxygen Versus Candle Jar. J. -- Clin. Microbiol. 15: 53-57, 1982.
41. Luechtefeld Nancy W., and Wang Wen-Lan L.: Hippurate Hydrolysis by and Triphenyltetrazolium Tolerance of Campylobacter fetus. J. Clin. Microbiol. 15: 137-140, 1982.
42. Lynch Mathew., Raphael Stanley S., Mellor Leslie D., Spare Peter., and Inwood Martin J. H.: Métodos de Laboratorio. -- Ed. Interamericana. México D.F., 1985, 2a. Edición.
43. Mäkinen Markku., Mäki Rutva., and Vesikari Timo.: Fecal Leucocytes in Campylobacter-associated diarrhoea in Infants. -- Ac. Pediatr. Scand. 68: 271-272, 1979.
44. McMyne P. M. S., Penner J. L., Mathias R.G., Black W. A., -- and Hennessy J. N.: Serotyping of Campylobacter jejuni Isolated from Sporadic Cases and Outbreaks in British Columbia. J. Clin. Microbiol. 16: 281-285, 1982.
44. Mendoza Feuntes Ismael.: Manual de Terapéutica Infantil. Ed. bis Ediciones Científicas La Prensa Médica Mexicana., S.A. México D.F., 1987, 3a edición, págs. 65-126.
45. Michel J., Rogol M., and Dickman D.: Susceptibility of Clinical Isolates of Campylobacter jejuni to Sixteen Antimicrobial Agents. Antimicrob. Agents Chemother. 23: 796-797, - 1983.

46. Norris George K., and Patton Charlotte M.: Campylobacter. In Manual of Clinical Microbiology. Lennette Edwin H., Balow Albert., Hausler William J. Jr., and Shadomy Jean H. -- Fourth Edition, 1987.
47. Morris G. H. , EL Sherbeeney M. R., Patton C. M., Kojaka H., Lombard G. L., Edmonds P., Hollis D. G., and Brenner D. J.: Comparison of Four Hyppurate Hydrolysis Methods for Identification of Thermophilic Campylobacter spp. J. Clin Microbiol. 22: 714-718, 1985.
48. Munroe Donna L., Prescott John F., and Penner John L.: Campylobacter jejuni and Campylobacter coli Serotypes Isolated from Chickens, Cattle, and pigs. J. Clin. Microbiol. 18: 877-881, 1983.
49. Olarte Jorge.: Papel de los Agentes Infecciosos en la Etiología de las diarreas. En Enfermedades Diarreicas en el Niño. Kumate Jesús y Gordillo-Paniagua Gustavo. Ed. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México. 7a Edición, México D. F., 1981, págs. 45-60.
50. Pai C. H., Sorger S., Lackman L., Sinai R. E., and Marks M. I.: Campylobacter gastroenteritis in children. J. Pediatr. 94: 589-591, 1979.
51. Pailey John W., Mirret Stanley., Lauer Brian A., Roe Martha, and Reller Barth L.: Dark-Field Microscopy of Human Feces - for Presumptive Diagnosis of Campylobacter fetus subsp. jejuni Enteritis. J. Clin. Microbiol. 15: 61-63, 1983.
52. Park Choong H., Hixon Deborah L., Polhemus Ann S., Ferguson Carolyn B., Hall Sandra L., Rishelm Cecilia C., and Cook Ba

- rric C.: A Rapid Diagnosis of Campylobacter Enteritis by Di-
rect Smear Examination. Am. J. Clin. Path. 80: 388-390, -
1983.
53. Paternak Jacyr R., Bolivar Ricardo., Hopfer Roy L., Fains--
tein Victor., Mills Karen., Rios adan., Bodey Gerald P., Fe-
nnell Cynthia L., Totten Patricia A., Steamm Walter E.: Bag-
teremia Caused by campylobacter-like Organisms in Two Male
Homosexuals. Ann. Int. Med. 101: 339-341, 1984.
54. Pátton Caharlotte M., Barrett Timoty J., and Morris George
K.: Comparison of the Penner and Lior Methods for Seroty--
ping Campylobacter spp. J. Clin. Microbiol. 22: 558-565,
1985.
55. Penner J.L.: The Genus Campylobacter: aDecade of Prpgress.
Clin. Microbiol. Rev. 1: 157-172, 1988.
56. Pepersack Francine., D'Haene Michel., Toussaint Charles., -
and Schoutens Elisabeth.: Campylobacter jejuni Peritonitis
Complicating Continuos Ambulatory Peritoneal Dialysis. J.
Clin. Microbiol. 16: 739-741, 1982.
57. Pichardo Reyes Efrén Alberto.: Pruebas de susceptibilidad
a los agentes antimicrobianos. Infectología 3: 215-222, -
1982.
58. Pitkanen Tapio., Pettersson Tor., Ponka Antti.: Effect of -
Erythromycin on the Fecal Excretion of Campylobacter fetus
Subspecies jejuni. J. Infect. Dis. 145: 128, 1982.

59. Rettig Philp J.: Campylobacter infections in human beings. J. Pediatr. 94: 855-864, 1979.
60. Rogol Michael., Sechter Lancu., Braunstein Isidor., and Gerichter B.: Extended Scheme for Serotyping Campylobacter jejuni: Results Obtained in Israel from 1980 to 1981. J. -- Clin. Microbiol. 18: 283-286, 1983.
61. Rubin Sally Jo., and Woodard Mary.: Enhanced Isolation of -- Campylobacter jejuni by Cold Enrichment in Campy-Thio Broth. J. Clin. Microbiol. 18: 1008-1010, 1983.
62. Ruiz-Palacios G.M., Torres J., Torres Norma I., Escamilla - Everardo., Ruiz-Palacios Beatriz R., and Tamayo Juan.: Cholera-Like Enterotoxin Produced By Campylobacter jejuni. -- Lancet. 30: 250-253, 1983.
63. Sande Merle A., y Mandell Gerald L.: Agentes antimicrobianos. En Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Goodman Gilman Alfred., Goodman Louis S., and Gilman Alfred. - Ed. Médica Panamericana, México D.F., 1981, 6a Edición, -- pàgs. 1062-1221.
64. Shaffer James G., y Goldin Milton.: Microbiología Médica. - En Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. Davidshon J. y Henry J. B., Ed. Salvat, México D.F., 1981. 6a Edición, --- pàgs. 1056-1099.
65. Shimada Kunio., and Tsuji Hidetaka.: Enrichment for Detection of Campylobacter jejuni. J. Clin. Microbiol. 23: 887-890, 1986.
66. Skirrow M. B.: Campylobacter enteritis: a "new" disease. - Br. Med. J. 2: 9-11, 1977.

67. Smibert Robert M.: The Genus Campylobacter. Ann. Rev. Microbiol. 32: 673-709, 1978.
68. Smibert Robert M.: Genus Campylobacter. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. I. Kreig Noel R., and Holt John G. Ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore. 1984. 9a. Edición, pàgs. 111-118.
69. Synder Robert J., Kohner Peggy C., Ilstrup Duane M., and Washington II John A.: Analysis of Certain Variables in the Agar Dilution Susceptibility Test. Antimicrob. Agents. Chemother. 9: 74-76, 1976.
70. Taylor Diane E., De Gadis Stephanie., Kramali M. A., and Fleming P. C.: Transmissible Plasmids from Campylobacter jejuni. Antimicrob. Agents Chemother. 19: 831-835, 1985.
71. Taylor David N., Echevarria Peter., Pitarangsi Chittimma., Seriwatana Jitvimol., Bodhidatta Ladaporn., and Blaser Martin J.: Influence of strain Characteristics and Immunity on the Epidemiology of Campylobacter Infections in Thailans. - J. Clin. Microbiol. 26: 863-868, 1988.
72. Tenover F. C., Bronsdon M. A., Gordon K. P., and Florde J. J.: Isolation of Plasmids Encoding Tetracycline Resistance from Campylobacter jejuni Strains Isolated from Simians. - Antimicrob. Agents Chemother. 23: 320-322, 1983.
72. Van Der Auwera P., and Scorneaux B.: In Vitro Susceptibility of Campylobacter jejuni to 27 Antimicrobial Agents and - Various Combinations of β -Lactams with Clavulanic Acid or Sulbactam. Antimicrob. Agents Chemother. 28: 37-40, 1985.

73. Vanhoof R., Vanderlinden M. P., Dierick R., Lauwers S., Yarrassowsky E., and Butzler J. P.: Susceptibility of Campylobacter fetus subsp. jejuni to Twenty-Nine Antimicrobial -- Agents. Antimicrob. Agents Chemother. 14: 553-556, 1978.
74. Vanhoof R., Gordts B., Dierickx R., Coignau H., and Butzler J.P.: Bacteriostatic and Bactericidal Activities of 24 Antimicrobial Agents Against Campylobacter fetus subsp. jejuni. Antimicrob. agents Chemother. 18: 118-121, 1980.
75. Vanhoof R., Goossens H., Coignau H., and Butzler J. P.: Susceptibility Pattern of Campylobacter jejuni from Human and Animal Origins to Different Antimicrobial Agents. Antimicrob. Agents Chemother. 21: 990-992, 1982.
76. Walder Mats.: Susceptibility of Campylobacter fetus subsp. jejuni to Twenty Antimicrobial Agents. Antimicrob. Agents Chemother. 16: 37-39, 1979.
77. Walker Richard I., Caldwell Blake M., Lee Eileen C., Guerry Patricia., Trust Trevor J., and Ruiz-Palacios Guillermo M.: Pathophysiology of Campylobacter Enteritis. Microbiol. -- Rev. 50: 81-94, 1986.
78. Wang Wen-Lan L., Luchtefeld nancy W., Blaser Martin J., and Reller Barth.: Comparison of CampyPak II with Standard 5% - Oxygen and Candle Jars for Growth of Campylobacter jejuni - from Human Feces. J. Clin. Microbiol. 16: 291-294, 1982.
79. Wang Wen-Lan L., Reller Barth L., and Blaser Martin J.: Comparison of Antimicrobial Susceptibility Patterns of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. Antimicrob. Agents Chemother. 26: 351-353, 1984.