

51
Jey



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

"ZARAGOZA"

"BIOTIPIFICACION Y SEROTIPIFICACION
SEGUN EL ESQUEMA DE H. LIOR-DE CEPAS
DE CAMPYLOBACTER SP. AISLADAS EN
MEXICO".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A

ANA LILIA VILLANUEVA
RAMIREZ

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

México, D. F.

Abril 1990



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	PAG.
I.-	INTRODUCCION..... 1
	I.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS..... 2
	I.2 CLASIFICACIÓN..... 6
	I.3 CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO..... 7
	I.4 EPIDEMIOLOGÍA..... 8
	I.5 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS..... 9
	I.6 PATOGÉNESIS..... 10
	I.7 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO..... 11
	I.8 BIOTIPIFICACIÓN Y SEROTIPIFICACIÓN..... 12
II.-	OBJETIVOS..... 15
III.-	HIPOTESIS..... 16
IV.-	MATERIAL Y METODOS..... 17
	IV.1 BIOTIPIFICACIÓN..... 26
	IV.2 SEROTIPIFICACIÓN..... 28
V.-	RESULTADOS Y DISCUSION..... 31
VI.-	CONCLUSIONES..... 41
VII.-	BIBLIOGRAFIA..... 51
VIII.-	APENDICE..... 57

INTRODUCCION

LOS PADECIMIENTOS DIARREICOS CONSTITUYEN UNA CAUSA IMPORTANTE DE MORBILIDAD Y MORTALIDAD EN NIÑOS MENORES DE CINCO AÑOS, PRINCIPALMENTE EN LOS PAÍSES SUBDESARROLLADOS EN DONDE LA SITUACIÓN ECONÓMICA Y SOCIAL ASÍ COMO EL GRADO DE HIGIENE, SON FACTORES PREDISPONENTES PARA LAS ENFERMEDADES DE ORIGEN ENTÉRICO. (27).

LA PALABRA DIARREA QUE SIGNIFICA "FLUIR A TRAVÉS" SE DEFINE COMO UNA EVACUACIÓN INTESTINAL FRECUENTE, LÍQUIDA Y ABUNDANTE (27). HASTA HACE POCO LA ETIOLOGÍA DE LAS DIARREAS SE DETERMINABA SÓLO EN EL 20% DE LOS CASOS, DEBIDO A QUE SE UTILIZABAN CULTIVOS DE RUTINA DONDE SÓLO SE AISLABA UN NÚMERO REDUCIDO DE AGENTES ETIOLÓGICOS COMO SALMONELLA, SHIGELLA O ESCHERICHIA COLI; GRACIAS A LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS SE HA MEJORADO EL DIAGNÓSTICO HASTA ALCANZAR NIVELES DE UN 60-70% (7,10), Y ASÍ, MICROORGANISMOS QUE REQUIEREN DE METODOLOGÍAS ESPECIALIZADAS PARA SU AISLAMIENTO Y/O SU IDENTIFICACIÓN SON AHORA DETECTADOS. COMO EJEMPLO TENEMOS A CAMPYLOBACTER SP., E. COLI, ENTEROTOXIGÉNICA (ETEC), YERSINIA ENTEROCOLITICA, ROTAVIRUS Y VIRUS NORWALK, ENTRE OTROS, QUE SUMADOS A LOS YA CITADOS PROPORCIONAN UN COMPLEJO PANORAMA EN ESTE CAMPO.

LAS DIARREAS OCUPAN EL PRIMER LUGAR COMO CAUSA DE MORTALIDAD POR ENFERMEDADES TRANSMISIBLES Y EL SEGUNDO LUGAR COMO CAUSA DE MORBILIDAD (DATOS DE MÉXICO -- 1968-1978) (12). EL GRUPO DE EDAD MÁS AFECTADO POR ESTE SÍNDROME ESTÁ COMPRENDIDO ENTRE 0-4 AÑOS CON UNA TASA ESPECÍFICA DE 5,134 CASOS POR 100,000 HABITANTES. LAS CAUSAS DE QUE LAS ENTERITIS Y ENFERMEDADES DIARREICAS TENGAN UNA TASA DE MORTALIDAD TAN ALTA SON EN GENERAL COMPLICACIONES DERIVADAS DE LA SINTOMATOLOGÍA OBSERVABLE, COMO DESHIDRATACIÓN SEVERA Y SEPTICEMIA (25).

ANTECEDENTES HISTORICOS

AUNQUE DESDE HACE MÁS DE 20 AÑOS SE SEÑALÓ EL PAPEL DE CAMPYLOBACTER COMO -- CAUSANTE DE DIARREA EN EL HOMBRE, SU IMPORTANCIA EPIDEMIOLÓGICA APENAS EMPIEZA A CONOCERSE. EL DESARROLLO DE MEDIOS DE CULTIVO SELECTIVOS QUE FACILITAN SU DIAGNÓSTICO, HA PERMITIDO ESTUDIARLO, Y ASÍ, EN ALGUNOS PAÍSES COMO EN CANADÁ SE HA ENCONTRADO QUE EN NIÑOS CON GASTROENTERITIS AGUDA, EL CAMPYLOBACTER ES UNO DE LOS AGENTES BACTERIANOS ENTEROPATÓGENOS MÁS COMUNES.

CURTIS REPORTÓ EN 1913 EL PRIMER CASO PROBABLE DE INFECCIÓN CAUSADA POR CAMPYLOBACTER AL OBSERVAR EN LAS DESCARGAS VAGINALES DE DOS PACIENTES; UNA CON FIEBRE PUERPERAL Y LA OTRA CON INFECCIÓN PÉLVICA POSTABORTO; UN GRAN NÚMERO DE BACILOS GRAMNEGATIVOS (32). EN EL MISMO AÑO, Mc FADYEAN Y STOCKMAN ASOCIARON A CAMPYLOBACTER CON ABORTOS EN CARNEROS Y GANADO VACUNO, AUNQUE ELLOS LO OBSERVARON Y DESCRIBIERON, NO LE DIERON NOMBRE (15). ESTA ASOCIACIÓN FUE CONFIRMADA EN 1918, CUANDO SMITH LOGRÓ AISLAR ORGANISMOS SIMILARES A PARTIR DE LOS PRODUCTOS DE ABORTOS EN BOVINOS (15).

FUE EN 1919 QUE SMITH Y TAYLOR DESIGNARON A ESTE ORGANISMO COMO VIBRIO FETUS, POR SU PARECIDO MORFOLÓGICO A LOS VIBRIOS Y POR SU CAPACIDAD DE PRODUCIR ABORTOS (15, 35).

JONES Y LITTLE EN 1931, DESCRIBIERON POR PRIMERA VEZ EL LLAMADO CAMPYLOBACTER FETUS SSP. JEJUNI COMO LA CAUSA DE "DIARREA DE INVIERNO" O "DISENTERÍA DE INVIERNO" DEL GANADO BOVINO. A ESTOS VIBRIOS MICROAEROFÍLICOS JONES, ORCUTT Y -- LITTLE LOS DESIGNARON COMO VIBRIO JEJUNI (15, 32).

EN 1944, DOYLE SUGIRIÓ QUE EL AGENTE ETIOLÓGICO DE LA DISENTERÍA DE LOS CER-

DOS ERA TAMBIÉN UN VIBRIO MICROAEROFÍLICO, Y LLAMÓ A DICHO ORGANISMO VIBRIO COLI. SIN EMBARGO, EL PAPEL DE ÉSTE EN LA DISENTERÍA DE LOS CERDOS ES MUY DISCUTIDA, Y SE PIENSA AHORA QUE EL VERDADERO AGENTE CAUSAL DE ESTA AFECCIÓN SEA LA ESPIROQUETA TREPONEMA HYODISENTERIAE (15).

LA PRIMERA ASOCIACIÓN DE VIBRIOS MICROAEROFÍLICOS CON ENFERMEDAD DIARREICA EN HUMANOS FUE REPORTADA EN 1946 POR LEVY QUIEN ESTUDIÓ UN BROTE EPIDÉMICO EN 357 RECLUSOS DE UNA INSTITUCIÓN PENAL EN ILLINOIS; EN EL 20% DE LOS PACIENTES, OBSERVÓ MICROSCÓPICAMENTE ORGANISMOS PARECIDOS A LOS VIBRIOS EN FROTIS DE MATERIA FECAL, PERO SIN PODERLOS OBTENER EN CULTIVOS; SIN EMBARGO, LOGRÓ LA RECUPERACIÓN DE VIBRIOS MICROAEROFÍLICOS DE CULTIVOS DE SANGRE EN 13 DE 19 PACIENTES, RELACIONANDO DE MANERA IMPORTANTE A ESTOS ORGANISMOS COMO LA CAUSA DE LA DIARREA. EPIDEMIO LÓGICAMENTE SE ASOCIA LA INGESTIÓN DE LECHE CON LA DIARREA. LEVY SUGIRIÓ QUE EL VIBRIO MICROAEROFÍLICO AISLADO EN ESTE BROTE PODRÍA SER EL MISMO ORGANISMO QUE JONES Y SUS COLEGAS HABÍAN DESCRITO COMO CAUSANTE DE LA DIARREA DE INVIERNO EN BOVINOS (15, 32).

KING EN 1957 COMPARÓ LAS CARACTERÍSTICAS DE LOS VIBRIOS MICROAEROFÍLICOS OBTENIDOS DE VARIAS FUENTES. ENTRE MUCHAS CEPAS OBTENIDAS DE HEMOCULTIVOS HUMANOS DISTINGUIÓ DOS GRUPOS DE ORGANISMOS: UNO CORRESPONDÍA A LOS YA DESCRITOS COMO VIBRIO FETUS Y EL SEGUNDO GRUPO AUNQUE ESTRECHAMENTE RELACIONADO A VIBRIO FETUS, DIFERÍA EN QUE SU TEMPERATURA ÓPTIMA DE CRECIMIENTO ERA MÁS ELEVADA QUE LA NORMAL; POR LO TANTO KING LLAMÓ A ESTE GRUPO DE ORGANISMOS "RELACIONADOS CON LOS VIBRIOS". ELLA NOTÓ QUE ESTOS ORGANISMOS SE AISLABAN SIEMPRE DE LA SANGRE DE PACIENTES CON GASTROENTERITIS POR LO QUE SUGIRIÓ QUE ÉSTOS ERAN CAUSANTES FRECUENTES DE ESTE PADECIMIENTO (15).

DURANTE LOS SIGUIENTES 15 AÑOS SE REPORTARON UN NÚMERO ESPORÁDICO DE CASOS -

EN LOS QUE SE DESCRIBÍAN PACIENTES CON SÍNTOMAS ENTÉRICOS Y EN ÉSTOS, SE AISLABAN DE CULTIVOS DE SANGRE, ORGANISMOS "RELACIONADOS CON LOS VIBRIOS" (15).

SEBALD Y VERON EN 1963, REALIZARON UN ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LOS VIBRIOS MICROAEROFÍLICOS Y LOS OTROS VIBRIOS, EN EL CUAL ENCONTRARON UNA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA EN EL CONTENIDO DE LAS BASES DE GUANINA Y CITOSINA DEL ADN DE AMBOS, CONCLUYENDO QUE LOS VIBRIOS MICROAEROFÍLICOS DEBERÍAN SER SEPARADOS DEL GÉNERO VIBRIO NACIENDO ASÍ UN NUEVO GÉNERO, CAMPYLOBACTER; CAMPYLOBACTER FETUS FUE PROPUESTO COMO LA ESPECIE TIPO DEL GÉNERO (32, 35).

EN 1972, DEKEYSER Y SUS COLEGAS DESCRIBIERON UN MÉTODO PARA AISLAR CAMPYLOBACTER DE LAS HECEs DE ADULTOS CON DIARREA, EL CUAL CONSISTE EN USAR SUSPENSIONES DE HECEs FILTRADAS A TRAVÉS DE FILTROS DE MEMBRANA (MILLIPORE) DE 0,45 MICRÓMETROS. MIENTRAS LA MAYORÍA DE LOS ORGANISMOS DE LA MATERIA FECAL ERAN GRANDES PARA PASAR O ATRAVESAR EL FILTRO, CAMPYLOBACTER PUDO SER FILTRADO Y SUBSECUENTEMENTE CULTIVADO EN UN MEDIO SÓLIDO DE TIOGLICOLATO QUE CONTENÍA BACITRACINA, POLIMIXINA, NOVOBIOCINA Y UNA ATMÓSFERA CON 5% DE OXÍGENO (8, 10, 25).

EN 1973 VERON Y CHATELAIN ESTABLECIERON UNA CLASIFICACIÓN EN DONDE CAMPYLOBACTER SE REPRESENTABA POR DOS ESPECIES: CAMPYLOBACTER JEJUNI Y CAMPYLOBACTER COLI Y DAN ALGUNAS CARACTERÍSTICAS DE LAS MISMAS (6). EN EL MISMO AÑO, BUTZLER Y ASOCIADOS EMPLEARON LA TÉCNICA DE FILTRACIÓN PARA EXAMINAR LAS HECEs DE UN GRAN NÚMERO DE PACIENTES CON DIARREA. ELLOS AISLARON CAMPYLOBACTER FETUS EN EL 5,2% DE 800 NIÑOS Y EN EL 4% DE 100 ADULTOS (6, 15).

EN 1977, SKIRROW DESCRIBIÓ UN MÉTODO PARA LA RECUPERACIÓN DE CAMPYLOBACTER DIRECTAMENTE DE LA MATERIA FECAL, ELIMINANDO ASÍ LA TÉCNICA DE FILTRACIÓN. SU MÉTODO CONSISTE EN LA INOCULACIÓN DIRÉCTA DE LAS HECEs SOBRE UN MEDIO DE CULTIVO

SELECTIVO CONTENIENDO 3 ANTIBIÓTICOS (15, 37).

BLASER Y COLABORADORES EN 1978 REPORTARON EL AISLAMIENTO DE CAMPYLOBACTER FE
TUS SSP. JEJUNI CON UN MEDIO QUE CONTIENE ANTIMICROBIANOS INCORPORADOS A UN AGAR
BRUCELLA Y SUPLEMENTANDO CON 10% P/V DE SANGRE DE BORREGO DESFIBRINADA, UNA CE-
FALOSPORINA ES ADICIONADA PARA INCREMENTAR LA HABILIDAD DE INHIBIR LA FLORA NOR-
MAL BACTERIANA ASOCIADA CON MUESTRAS FECALES (2, 42).

CABE MENCIONAR QUE ACTUALMENTE HAY DOS TIPOS DE MEDIO DE CULTIVO QUE SE UTI-
LIZAN FRECUENTEMENTE: EL MEDIO DE BUTZLER Y EL MEDIO DE SKIRROW. LOS DOS ESTÁN
BASADOS EN LA INCORPORACIÓN DE ANTIBIÓTICOS MÚLTIPLES A UN MEDIO DE AGAR CON SAN-
GRE, LO CUAL DA COMO RESULTADO LA SUPRESIÓN DE LA FLORA NORMAL INTESTINAL Y DE ES-
TA FORMA CAMPYLOBACTER PUEDE DESARROLLARSE.

CLASIFICACION

LA DESIGNACIÓN DE CAMPYLOBACTER COMO MIEMBRO DE LOS VIBRIOS, FUE HECHA EN BASE A LA SIMILITUD MORFOLÓGICA CON VIBRIO CHOLERA PERO, EXISTEN DIFERENCIAS IMPORTANTES COMO SON LAS CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS Y DE CRECIMIENTO ASÍ COMO EL CONTENIDO DE BASES DE SUS ADN. A CONTINUACIÓN SE ENLISTAN COMPARATIVAMENTE ALGUNAS CARACTERÍSTICAS DE AMBOS GRUPOS:

VIBRIOS

- AEROBIOS Y ANAEROBIOS FACULTATIVOS.
- NO PRESENTAN METABOLISMO RESPIRATORIO.
- SU CONTENIDO DE GUANINA MÁS CITOSINA ES DE 40-45%.
- CRECEN EN MEDIO QUE CONTENGA NACl AL 3%.
- FERMENTAN AZÚCARES SELECCIONADOS CON PRODUCCIÓN DE ÁCIDO.
- SON CATALASA POSITIVA.
- SON OXIDASA POSITIVA.

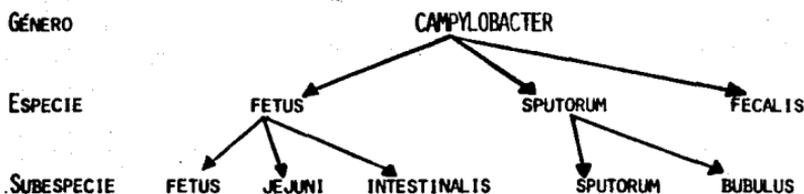
CAMPYLOBACTER

- MICROAERÓFILOS, ALGUNOS SON ANAEROBIOS ERICTOS Y OTROS SON ANAEROBIOS FACULTATIVOS.
- PRESENTAN METABOLISMO RESPIRATORIO.
- SU CONTENIDO DE GUANINA MÁS CITOSINA ES DE 29-38%.
- REQUIEREN PARA SU DESARROLLO MEDIOS SELECTIVOS Y ENRIQUECIDOS CON SANGRE.
- SON CATALASA POSITIVA O NEGATIVA.
- SON OXIDASA POSITIVA.

EL CAMPYLOBACTER ES MIEMBRO DE LA FAMILIA SPIRILLACEAE QUE COMPRENDE LOS GÉNEROS SPIRILLUM Y CAMPYLOBACTER, AMBOS PATÓGENOS PARA EL HUMANO (13, 35).

VERON Y CHATELAIN EN 1973 RECLASIFICARON A CAMPYLOBACTER DEFINITIVAMENTE COMO UN GÉNERO APARTE. ACTUALMENTE LA CLASIFICACIÓN ACEPTADA ES LA FRANCESA, EN LA CUAL SE HAN DIVIDIDO EN DOS ESPECIES TIPO: C. JEJUNI Y C. COLI (37),

EN EL SIGUIENTE ESQUEMA SE REPRESENTA LA CLASIFICACIÓN AMERICANA QUE TODAVÍA MANEJAN ALGUNOS AUTORES, EN DONDE LA ESPECIE Y SUBESPECIE TIPO ES C. FETUS SSP. JEJUNI DEBIDO A QUE ES CONSIDERADA PATÓGENA PARA EL HOMBRE. EL ASIGNAMIENTO EN ESPECIES Y SUBESPECIES ESTÁ BASADO EN LAS CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS Y DE CRECIMIENTO (10, 13, 24),



CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO CAMPYLOBACTER

EL NOMBRE CAMPYLOBACTER SE DERIVA DEL GRIEGO *καμπύλω*, QUE SIGNIFICA "CURVADO" Y *βασίλλια*, QUE SIGNIFICA "BASTON O BACILO" (15, 37). SON BACILOS GRAM NEGATIVOS, CURVOS, EN FORMA DE ESPIRILOS "S" O ENCADENADOS CON FORMA DE "ALAS DE GAVIOTA"; ENCONTRÁNDOSE TAMBIÉN COMO ORGANISMOS FILAMENTOSOS. MIDEN DE 1,5 A 3,5 MICRÓMETROS DE LARGO POR 0,2 A 0,4 MICRÓMETROS DE GROSOR, SON MÓVILES, EN UNO O EN AMBOS POLOS DE LA BACTERIA SE ENCUENTRA UN FLAGELO EL CUAL ES 2 O 3 VECES MÁS LARGO QUE LA CÉLULA, AUNQUE ALGUNAS CÉLULAS PUEDEN TENER MÁS DE UN FLAGELO EN CADA EXTREMO (15, 35),

EN PREPARACIONES EN FRESCO SE HA OBSERVADO QUE LAS CAMPYLOBACTERIAS SE MUE--

VEN RÁPIDAMENTE CRUZANDO EL CAMPO MICROSCÓPICO DANDO VUELTAS O ROTANDO (29, 30), - EN LOS CULTIVOS APARECEN FORMAS COCIDAS, QUE SE INTERPRETAN COMO UNA FORMA DEGENERATIVA, YA QUE LOS CULTIVOS COMPUESTOS PRINCIPALMENTE DE ESTE TIPO CELULAR NO SON VIABLES (5, 35).

LOS CAMPYLOBACTER SE DESARROLLAN EN MEDIOS SELECTIVOS COMO EL DE SKIRROW, EL CUAL ES UN MEDIO SÓLIDO CONTIENDO SANGRE Y VARIOS ANTIMICROBIANOS. EN ESTE MEDIO LAS COLONIAS SON PEQUEÑAS DE 0,5 A 1,0 MM. DE DIÁMETRO; LISAS, PLANAS O LIGERAMENTE ELEVADAS; CON BORDES IRREGULARES O REDONDAS; NO HEMOLÍTICAS Y CON ASPECTO MUCOIDE Y BRILLANTE. EL COLOR VARÍA DE CANELA A GRIS. UNA MORFOLOGÍA ALTERNATIVA APARECE CON COLONIAS REDONDAS DE 1 A 2 MM. DE DIÁMETRO, CONVEXAS Y BRILLANTES. UN PEQUEÑO PORCENTAJE DE LAS CEPAS APARECEN CON UNA COLORACIÓN COBRIZA O ROSADA. LAS COLONIAS TIENDEN A EXTENDERSE SIGUIENDO LA ESTRÍA DE LA CAJA, ESPECIALMENTE CUANDO SE AISLA A PARTIR DE ESPECÍMENES CLÍNICOS (36, 37).

SE HA OBSERVADO QUE C. JEJUNI SE COLOREA CON SAFRANINA, USADA COMO COLORANTE DE CONTRASTE EN LA TINCIÓN DE GRAM; SI SE SUSTITUYE POR CARBOL FUCSINA AL 0,05% (COLORANTE DE KINYOU) SE OBTIENEN RESULTADOS MÁS EFECTIVOS (2).

LOS CAMPYLOBACTER REQUIEREN UNA TENSIÓN DE OXÍGENO REDUCIDA PARA CRECER. PERO SÓLO C. SPUTORUM ES UN ANAEROBIO ESTRICTO. EL CRECIMIENTO ÓPTIMO DE LOS OTROS CAMPYLOBACTER OCURRE EN UNA ATMÓSFERA DE 5 Ó 6% DE OXÍGENO (21, 43).

EPIDEMIOLOGIA

EXISTEN EVIDENCIAS DE QUE LA ENTERITIS POR CAMPYLOBACTER ES UNA ZOOZOSIS QUE AFECTA A TODO EL MUNDO Y QUE HAY UN BUEN NÚMERO DE RUTAS POR LAS QUE EL HOMBRE -

PUEDE SER INFECTADO. SIN EMBARGO NO HA QUEDADO BIEN ESTABLECIDO UN MECANISMO DE TRANSMISIÓN.

EL HECHO DE QUE CAMPYLOBACTER ES COMENSAL Y PARÁSITO DE MUCHOS ANIMALES DOMÉSTICOS, CUALQUIER CONTACTO CON ALGUNO DE ELLOS O CON SUS PRODUCTOS ES SOSPECHA DE CONTAGIO. CON ESTOS ANTECEDENTES, LA ENTERITIS POR CAMPYLOBACTER SE ASOCIA CON LA INGESTIÓN DE AGUA, LECHE NO PASTEURIZADA, POLLO Y CONTACTO CON GANADO BOVINO, PÁJAROS, PERROS, CHIVOS, PAVOS, AVES DE CORRAL Y CERDOS; TAMBIÉN SE HA REPORTADO CONTAGIO DE PERSONA A PERSONA, PERO AÚN NO SE HA ACLARADO EL MECANISMO, AUNQUE CABE MENCIONAR QUE EL MICROORGANISMO SE HA AISLADO DE LAS HECE DE PERSONAS DESPUÉS DE SIETE SEMANAS DE HABER PADECIDO LA ENFERMEDAD Y QUE NO RECIBIERON LA TERAPIA ANTIMICROBIANA; PUDIENDO ASÍ, SER UNA FUENTE IMPORTANTE DE CONTAMINACIÓN (11, 34, 46).

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

EL PERÍODO DE INCUBACIÓN DE CAMPYLOBACTER ES DE APROXIMADAMENTE DOS DÍAS (36).

LOS SÍNTOMAS Y SIGNOS MÁS COMUNES EN LA ENTERITIS POR CAMPYLOBACTER SON DIARREA, FIEBRE, DOLOR ABDOMINAL Y EN LA MAYORÍA DE LOS CASOS LA PRESENCIA DE SANGRE EN LAS HECE. LA DIARREA SE PRESENTA DOS O TRES DÍAS DESPUÉS DE LA APARICIÓN DEL DOLOR ABDOMINAL. ES GENERALMENTE ACUOSA, ABUNDANTE Y CON OLOR FÉTIDO. DESPUÉS DE UNO O TRES DÍAS DE INICIADA LA DIARREA SUELE ACOMPAÑARSE DE SANGRE, LA CUAL GENERALMENTE ES FRESCA. EL DOLOR ABDOMINAL ES PERIUMBILICAL A MANERA DE RETORTIJÓN (2, 32). APROXIMADAMENTE UN 30% DE LOS PACIENTES PRESENTA VÓMITO (14, 32).

LA FIEBRE ES DE SEVERIDAD VARIABLE, PERO UNA LIGERA ELEVACIÓN DE LA TEMPERATURA ES FRECUENTE COMO SÍNTOMA INICIAL. LA DESHIDRATACIÓN NO ES COMÚN (2). SÍNTOMAS COMO INDISPOSICIÓN, MIALGIAS, DOLOR DE ESPALDA, ARTRALGIAS Y ANOREXIA SUELEN ACOMPAÑAR AL CUADRO PRINCIPAL (32).

LOS PERÍODOS DIARREICOS DURAN DE TRES A CINCO DÍAS GENERALMENTE, PERO EN LAS RECAÍDAS SUELEN PROLONGARSE DURANTE MUCHO MÁS TIEMPO. EN PREPARACIONES TEÑIDAS CON AZUL DE METILENO, LAS HECEAS SE OBSERVAN FRECUENTEMENTE CON LEUCOCITOS POLIMORFONUCLEARES (6, 28, 29).

PATOGENESIS

LA ENTERITIS POR CAMPYLOBACTER HA SIDO REPRODUCIDA EN MONO RHESUS, EN POLLOS (34) Y EN VOLUNTARIOS HUMANOS QUIENES MANIFESTARON LOS SÍNTOMAS TÍPICOS DE UNA ENTERITIS POR ESTE ORGANISMO POCOS DÍAS DESPUÉS DE HABERLO INGERIDO DE CULTIVOS PUROS. ESTOS EXPERIMENTOS HAN SUGERIDO QUE CAMPYLOBACTER JEJUNI PRODUCE UN TIPO DE INFECCIÓN PREDOMINANTEMENTE INVASIVA. OBSERVACIONES PATOLÓGICAS Y MICROBIOLÓGICAS EN NIÑOS, INCLUYENDO MUESTRAS TOMADAS DE NECROPSIAS Y SIGMOIDOSCOPIAS, SUGIERE QUE ESTE MICROORGANISMO INVADE LA MUCOSA TANTO DEL INTESTINO DELGADO (PARTICULARMENTE AL ÍLEON Y YEYUNO), COMO DEL INTESTINO GRUESO (36, 46).

LA SENSIBILIDAD DE CAMPYLOBACTER SP. A LOS ANTIMICROBIANOS HA SIDO ESTUDIADA Y LOS DATOS MUESTRAN QUE ESTE ORGANISMO ES ALTAMENTE SENSIBLE A LA ERITROMICINA, CLORANENICOL, DE SENSIBILIDAD VARIABLE A LA AMPICILINA Y RESISTENTE A VARIAS CEFALOSPORINAS (38, 44). LA ERITROMICINA ES EN GENERAL EL ANTIBIÓTICO DE ELECCIÓN PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENTERITIS POR DICHO MICROORGANISMO, ADMINISTRANDO 50 MG/KG. DE PESO DURANTE UNA SEMANA. PODRÍAN UTILIZARSE TAMBIÉN AMPICILINA, CLORANE

NICOL O LA OXITETRACICLINA EN CIERTOS CASOS EN LOS QUE LA ERITROMICINA NO DA BUENOS RESULTADOS (15, 38, 44).

DIAGNOSTICO MICROBIOLÓGICO

UN DIAGNÓSTICO RÁPIDO Y PRESUNTIVO DE LA ENTERITIS POR CAMPYLOBACTER PUEDE HACERSE DURANTE LA FASE AGUDA DE LA ENFERMEDAD MEDIANTE MICROSCOPIA DIRECTA EN CONTRASTE DE FASES DE LAS HECEs CON EL OBJETO DE RECONOCER LA MOVILIDAD Y FORMA CARACTERÍSTICAS DE ESTE ORGANISMO (29, 30). CUANDO SÓLO SE CUENTA CON MICROSCOPIA DE CAMPO CLARO, PUEDEN HACERSE FROTIS DE LAS HECEs TIÉNDOLO CON GRAM CONTRASTADO -- CON FUCSINA DE KINYOU MODIFICADA Y BUSCAR CON MICROSCOPIO FORMAS TÍPICAS, CON ESTE MÉTODO SE PUEDE DAR UN INFORME PRESUNTIVO Y RÁPIDO HASTA EN EL 40 AL 60% DE LOS CASOS POSITIVOS (25).

EL DIAGNÓSTICO SE CONFIRMA POR EL AISLAMIENTO DEL ORGANISMO MEDIANTE EL CULTIVO DE LAS HECEs EN MEDIOS SELECTIVOS; LOS MÁS IMPORTANTES Y EFECTIVOS SON: MEDIO DE SKIRROW (36), MEDIO DE SKIRROW MODIFICADO POR KARMALI (14), MEDIO CAMPY-BAP (2), MEDIO DE SKIRROW MODIFICADO (25) Y MEDIO DE BUTZLER (46), (VER APÉNDICE).

CAMPYLOBACTER SP. ES UN MICROAERÓFILO ESTRICTO Y SU MÁXIMO CRECIMIENTO OCURRE EN UNA ATMÓSFERA EN LA CUAL LA TENSIÓN DE OXÍGENO SEA DE 5 A 10%. EXISTEN VARIAS MANERAS DE CONSEGUIR LA ATMÓSFERA ADECUADA, SE PUEDE LOGRAR EVACUANDO LAS DOS TERCERAS PARTES DE AIRE DE UNA JARRA DE ANAEROBIOSIS Y REEMPLAZANDO CON DIÓXIDO DE -- CARBONO SOLO (21), PUEDEN USARSE TANQUES CON MEZCLAS DE GASES TALES COMO: A) 10% DE CO₂, 5% DE O₂ Y 85% DE N₂; B) 10% DE CO₂, 5% DE O₂ Y 85% DE H₂ (35). TAMBIÉN EN UNA JARRA DE ANAEROBIOSIS PUEDE USARSE UN SOBRE GENERADOR DE HIDRÓGENO Y DIÓXIDO DE CARBONO EL CUAL TIENE INTEGRADO EL CATALIZADOR Y SON LOS COMERCIALMENTE --

CONOCIDOS COMO CAMPY-PAK II (4, 43). OTRA ALTERNATIVA, ES EMPLEAR UNA TÉCNICA - QUE SE FUNDAMENTA EN EL PRINCIPIO DE FORTNER PARA REDUCIR LA TENSIÓN DE OXÍGENO: - EN ÉSTA SE INCUBAN SIMULTÁNEAMENTE UNA MUESTRA CONTENIENDO CAMPYLOBACTER SP. EN LA MITAD DE LA PLACA, Y EN LA OTRA MITAD UNA CEPA ANAERÓBICA FACULTATIVA COMO PROTEUS SP., S. AUREUS, PSEUDOMONAS AERUGINOSA O KLEBSIELLA PNEUMONIAE (15).

LA TEMPERATURA ÓPTIMA DE CRECIMIENTO PARA CAMPYLOBACTER SP. ES A 42°C. LOS CULTIVOS SON GENERALMENTE POSITIVOS HASTA LAS 48 HORAS DE INCUBACIÓN PERO ALGUNAS VECES DESPUÉS DE 24 HORAS (13, 32, 35).

EL TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS AL LABORATORIO NO REQUIERE PRECAUCIONES ESPECIALES EXCEPTO QUE DEBEN SER PROCESADAS LO MÁS PRONTO POSIBLE SIN EXCEDER MÁS DE CUATRO HORAS DESPUÉS DE LA EVACUACIÓN (28, 35).

BIOTIPIFICACION Y SEROTIPIFICACION

DEBIDO A LAS CONTÍNUAS INVESTIGACIONES SOBRE LA ETIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES DIARREICAS, EL NÚMERO DE AISLAMIENOS DE CAMPYLOBACTERIAS SE HA INCREMENTADO NOTABLEMENTE POR LO QUE LA DIFERENCIACIÓN DE ESTOS ORGANISMOS CONTRIBUIRÁ PARA QUE HAYA UN MEJOR ENTENDIMIENTO EN LA EPIDEMIOLOGÍA DE ESTOS PATÓGENOS INTESTINALES.

LA BIOTIPIFICACIÓN, SEROTIPIFICACIÓN, FAGOTIPIFICACIÓN, PATRONES DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS Y PERFILES DE PLÁSMIDOS DEL ADN, PUEDEN USARSE PARA UNA MAYOR DIFERENCIACIÓN DE PATÓGENOS INTESTINALES COMO SALMONELLA O SHIGELLA. LOS ADELANOS EN DICHAS TÉCNICAS SON UNA HERRAMIENTA PARA PODER DIFERENCIAR A C. JEJUNI - DE C. COLI.

SKIRROW Y BENJAMÍN PROPUSIERON UN ESQUEMA DE BIOTIPIFICACIÓN BASADO EN LA HIDRÓLISIS DEL HIPURATO Y UNA PRUEBA RÁPIDA DE PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHÍDRICO, EN LA CUAL, ELLOS RECONOCEN LA HIDRÓLISIS DEL HIPURATO POSITIVA EN ORGANISMOS COMO C. JEJUNI Y LA HIDRÓLISIS DEL HIPURATO NEGATIVA NECESARIAMENTE RELACIONADA A C. COLI. LA PRUEBA RÁPIDA DE PRODUCCIÓN DE H_2S PERMITE LA SUBDIVISIÓN DEL C. JEJUNI DENTRO DE DOS BIOTIPOS, ASÍ COMO TAMBIÉN ES ÚTIL EN LA DIFERENCIACIÓN DE UN 40. GRUPO, LOS CAMPYLOBACTER TERMÓFILOS RESISTENTES AL ÁCIDO NALIDÍXICO (NARTC) POR LO QUE "C. LARIDIS" ES EL NOMBRE QUE SE LE HA PROPUESTO - (6, 37).

HEBERT Y COLS. PROPUSIERON UN ESQUEMA DE BIOTIPIFICACIÓN, BASADO SOBRE LA HIDRÓLISIS DEL HIPURATO, HIDRÓLISIS DEL ADN Y DESARROLLO EN UN MEDIO DE AGAR CARBÓN FERMENTADO, PARA LO CUAL SE RECONOCEN 8 BIOTIPOS DE CAMPYLOBACTER A PARTIR DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS (10).

LIOR Y COLS. HAN PROPUESTO UN ESQUEMA DE BIOTIPIFICACIÓN MÁS AMPLIO UTILIZANDO LAS PRUEBAS DE LA HIDRÓLISIS DEL HIPURATO, LA DE PRODUCCIÓN DE H_2S Y LA DE HIDRÓLISIS DEL ADN, CON LO QUE SE DIFERENCIARÁ C. JEJUNI DENTRO DE 4 BIOTIPOS, C. COLI DENTRO DE 2 BIOTIPOS, Y "C. LARIDIS" DENTRO DE 2 POSIBLES BIOTIPOS (18).

ESQUEMA DE BIOTIPIFICACION DE LIOR PARA
C. JEJUNI, C. COLI Y "C. LARIDIS" (NARTC):

BIOTIPO	<u>C. JEJUNI</u>				<u>C. COLI</u>		" <u>C. LARIDIS</u> "	
	I	II	III	IV	I	II	I	II
PRUEBAS: HIDRÓLISIS DEL HIPURATO	+	+	+	+	-	-	-	-
PRUEBA RÁPIDA DE H_2S	-	-	+	+	-	-	+	+
HIDRÓLISIS DEL ADN	-	+	-	+	-	+	-	+

LA CLASIFICACIÓN SEROLÓGICA PARA LOS CAMPYLOBACTERS, ESTÁ BASADA EN UN ESQUEMA SOBRE ANTÍGENOS TERMOLÁBILES FLAGELARES(H) Y POSIBLES FACTORES SOMÁTICOS (K). ESTOS ANTÍGENOS PUEDEN SER IDENTIFICADOS POR LA TÉCNICA CONVENCIONAL DE AGLUTINACIÓN EN PLACA UTILIZANDO PARA ELLO CULTIVOS VIVOS Y SUEROS NO ABSORBIDOS.

ANTERIORMENTE LA SEROTIPIFICACIÓN POR DICHO MÉTODO PUDO FALLAR POR LA TENDENCIA DE ESTOS ORGANISMOS PARA AUTOAGLUTINARSE EN SOLUCIÓN SALINA; ACTUALMENTE SE HA DESCRITO QUE TALES CARACTERÍSTICAS SON DEBIDAS AL ADN EXTRACELULAR -- POR LO QUE AHORA SE UTILIZA UNA SOLUCIÓN AMORTIGUADORA DE FOSFATOS CONTENIENDO DNÁSA. ASIMISMO, SE ELIMINÓ LA MARCADA REACCIÓN CRUZADA EXISTENTE ENTRE MUCHOS ORGANISMOS, UTILIZANDO SUEROS ABSORBIDOS Y DE ESTA FORMA SE OBTIENE UNA IDENTIFICACIÓN MÁS PRECISA DE LOS SEROTIPOS (19, 20).

LA TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN EN PLACA ES SIMILAR A LA USADA EN LA SEROTIPIFICACIÓN DE OTROS PATÓGENOS INTESTINALES (SALMONELLA, SHIGELLA, E. COLI), TIENE LA VENTAJA DE SER SIMPLE, RÁPIDA Y CONFIABLE OBTENIÉNDOSE RESULTADOS EN POCOS MINUTOS; POR LO QUE SE REQUIEREN CULTIVOS JÓVENES Y DESARROLLADOS EN UN MEDIO FRESCO COMO LO ES EL MEDIO DE AGAR MUELLER HINTON CON SANGRE. LOS DETERMINANTES ANTIGÉNICOS PUEDEN NO SER EXPRESADOS A LAS 24 HRS. DE INCUBACIÓN, POR LO QUE SE REQUIERE RESEMBRAR LOS CULTIVOS PUROS CADA 48 HORAS EN MEDIOS FRESCOS CON EL FIN DE QUE LOS ORGANISMOS PERMANEZCAN VIABLES (19).

LTOR HA EVALUADO AL AGAR MUELLER HINTON COMO EL MEJOR EN TÉRMINOS DE REPRODUCIBILIDAD DE RESULTADOS POR LO QUE ESTE MEDIO SE RECOMIENDA PARA LA SEROTIPIFICACIÓN DE CAMPYLOBACTERIAS.

OBJETIVOS

1.- AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE CAMPYLOBACTER SP. (POR MORFOLOGÍA COLONIAL Y MICROSCÓPICA).

2.- BIOTIPIFICACIÓN Y SEROTIPIFICACIÓN DE CEPAS DE CAMPYLOBACTER SP.

3.- COMPARACIÓN DE LOS BIOTIPOS Y SEROTIPOS DE LAS DISTINTAS MUESTRAS ESTUDIADAS:

- A) ENTRE PACIENTES Y CONTROLES.
- B) ENTRE INDIVIDUOS DE DISTINTA EDAD.
- C) ENTRE INDIVIDUOS DE DISTINTA ESPECIE.

4.- TRATAR DE ESTABLECER UNA POSIBLE CORRELACIÓN ENTRE SEROTIPOS, BIOTIPOS Y PATOGENICIDAD.

HIPOTESIS

SERÁ PÓSIBLE DETERMINAR SI LAS CEPAS DE CAMPYLOBACTER AISLADAS EN MÉXICO PUEDEN DIFERENCIARSE EN LOS BIOTIPOS DESCRITOS EN LA LITERATURA Y DETERMINAR CUALES SON LOS BIOTIPOS MÁS COMUNES EN LOS AISLAMIENTOS REALIZADOS.

ASIMISMO, PRESUPONIENDO QUE EL TIPO DE DETERMINANTES ANTIGÉNICOS PRESENTES EN ESTAS CEPAS ES COMÚN A LOS QUE YA HAN SIDO REPORTADOS, SE PODRÁ DIFERENCIAR SI HAY UNA ASOCIACIÓN DE CIERTOS SEROTIPOS A PATOGENICIDAD O NO.

MATERIAL Y METODOS

EN EL PRESENTE TRABAJO SE ESTUDIARON 180 MUESTRAS AISLADAS DE CAMPYLOBACTER SP., DE DISTINTOS ORÍGENES, LAS CUALES SE BIOTIPIFICARON Y SEROTIPIFICARON DE ACUERDO AL ESQUEMA PROPUESTO POR H. LIOR (LABORATORY CENTRE FOR DISEASE CONTROL DIVISION OF ENTERIC BACTERIOLOGY NATIONAL REFERENCE SERVICE FOR CAMPYLOBACTERS, OTTAWA, ONTARIO, CANADA), COMO SE MUESTRA EN EL DIAGRAMA DE FLUJO QUE A CONTINUACIÓN SE PRESENTA; LOS AISLADOS PUEDEN AGRUPARSE EN TRES GRANDES RUBROS: 20 SON AISLADOS DE ORIGEN ANIMAL Y 160 DE HUMANO, DE LOS CUALES 92 SON PROVENIENTES DE ADULTO Y 68 DE INFANTES ENTRE 0-3 AÑOS. TANTO LAS CEPAS DE ORIGEN ANIMAL COMO LAS DE HUMANO ADULTO, FUERON PROPORCIONADAS POR EL DR. GUILLERMO PÉREZ PÉREZ DEL INSTITUTO SUPERIOR DE ENFERMEDADES TROPICALES Y POR EL DR. GUILLERMO RUIZ PALACIOS DEL INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICIÓN, Y SIRVEN EN ESTE ESTUDIO PARA FINES COMPARATIVOS.

LAS MUESTRAS DE INFANTES POSITIVAS A CAMPYLOBACTER, FUERON AISLADAS Y PROCESADAS EN EL LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA INTESTINAL DEL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO "FEDERICO GÓMEZ" EN EL DISTRITO FEDERAL, COMO PARTE DE UN ESTUDIO INTEGRAL SOBRE DIARREAS (MULTICENTRO-OMS, MÉXICO) PRACTICADO A NIÑOS MENORES DE 3 AÑOS DE EDAD, INCLUYENDO PACIENTES (NIÑOS CON DIARREA) Y CONTROLES (NIÑOS SANOS).

SE PRACTICÓ UN CUESTIONARIO ÚNICAMENTE A LOS NIÑOS (PACIENTES Y CONTROLES) QUE INTERVINIERON EN EL ESTUDIO SOBRE DIARREAS, EL CUAL CONSTA DE LAS SIGUIENTES PREGUNTAS:

CUESTIONARIO

- 1.- EDAD
- 2.- SEXO
- 3.- FECHA DE LA TOMA DE LA MUESTRA
- 4.- ESPORÁDICO CONTACTO CONTROL
- 5.- DÍAS CON DIARREA
- 6.- NÚMERO DE EVACUACIONES POR DÍA
- 7.- CONSISTENCIA: ACUOSA BLANDA FORMADA
- 8.- VÓMITO Sí No
- 9.- FIEBRE Sí No
- 10.- ERITROCITOS FECALES Sí No
- 11.- LEUCOCITOS FECALES Sí No
- 12.- DESHIDRATACIÓN Sí No
- 13.- TIPO DE ALIMENTACIÓN MATERNA ARTIFICIAL
- 14.- OTROS ENTEROPATÓGENOS AISLADOS:
- 15.- BIOTIPO DEL CAMPYLOBACTER AISLADO
- 16.- SEROTIPO DEL CAMPYLOBACTER AISLADO

DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESAMIENTO DE CADA MUESTRA

MUESTRA DE:

MATERIA FECAL. - SE SIEMBRA EN MEDIO DE SKIRROW (MODIFICADO)

INCUBAR 48 HRS. A 42°C EN JARRA DE TORBAL CON *ATM. REDUCIDA DE O₂.

IDENTIFICACIÓN PRESUNTIVA POR MORFOLOGÍA COLONIAL
CONFIRMACIÓN POR FROTIS DE LAS COLONIAS SOSPECHOSAS UTILIZANDO TINCIÓN DE --- GRAM. (CONTRASTANDO CON CARBOL-FUCSINA, KINYOU)

SI DA NEGATIVA: SE DESCARTA

SI DA POSITIVA: SE SIEMBRA EN MEDIO DE MUELLER HINTON CON SANGRE

MUESTRAS AISLADAS PROVENIENTES DE OTROS LABORATORIOS ENVIADAS EN MEDIOS DE --- TRANSPORTE: SE RESEMBRAN EN MUELLER HINTON CON SANGRE, SE INCUBAN Y SE CONFIRMA MORFOLOGÍA COLONIAL Y MICROSCÓPICA.

INCUBAR DE 24-48 HRS. A 42°C Y CON *ATM. RED. DE O₂.

CULTIVO PURO

GUARDAR EN MEDIO DE CONSERVACIÓN PARA CAMPYLOBACTERIAS.

PROBAR SI HAY AUTOAGLUTINACIÓN EN PLACA.

RESEMBRAR EN MUELLER HINTON CON SANGRE.

SI DA POSITIVA: RESEMBRAR (MÁXIMO 10 PASES), HASTA AUTOAGLUTINACIÓN NEGATIVA.

SI DA NEGATIVA: PROBAR CON SUEROS POLIVALENTES (GRUPOS 1-4)

24 HRS. 42°C y *ATM. RED. DE O₂ 24-48 HRS.

A) PRUEBA RÁPIDA DE PRODUCCIÓN DEL H₂S.

B) PRUEBA RÁPIDA DE LA HIDRÓLISIS DEL HIPURATO.

C) PRUEBA DE LA HIDRÓLISIS DEL ADN.

SI DA NEGATIVA: PROBAR CON LOS SUEROS POLIVALENTES (GRUPOS 5-9).

SI DA POSITIVA: PROBAR CON LOS SUEROS INDIVIDUALES DEL GRUPO (+), Y POSTERIORMENTE CON LOS SUEROS ABSORBIDOS.

* ATM. RED. DE O₂ = ATMÓSFERA REDUCIDA DE OXÍGENO.

EN LA CONSULTA EXTERNA DEL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO SE RECOLECTARON LAS MUESTRAS DE MATERIA FECAL DE NIÑOS QUE PREVIAMENTE FUERON SELECCIONADOS POR EL MÉDICO EN BASE A UN CUESTIONARIO, EL CUAL, PRIMORDIALMENTE CONSISTE PARA LA ELECCIÓN EN CUMPLIR CON LOS DATOS SIGUIENTES: 1) TENER UNA EDAD ENTRE 0 Y 3 AÑOS Y 2) NO ESTAR BAJO TRATAMIENTO CON ANTIMICROBIANOS.

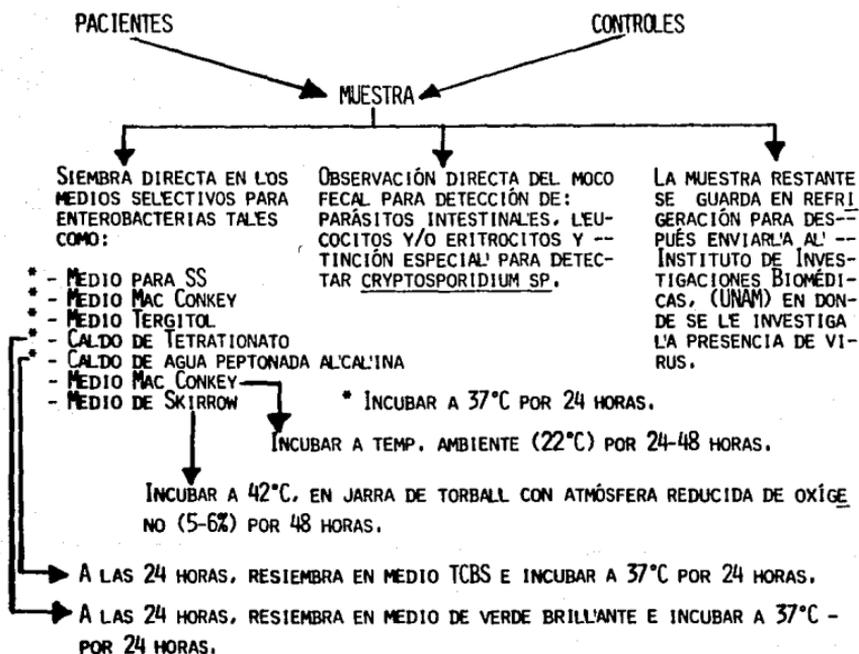
LOS CONTROLES SON CON NIÑOS SANOS QUE ADEMÁS DE HABER CUMPLIDO CON LOS REGISTROS ANTES CITADOS, ACUDIERON A CONSULTA POR UNA REVISIÓN GENERAL O POR OTRA CAUSA, COMO POR EJEMPLO VACUNACIÓN; A DIFERENCIA DE LOS NIÑOS CONSIDERADOS COMO PACIENTES LOS CUALES SÍ PRESENTARON LA SINTOMATOLOGÍA DE ENFERMEDAD ENTÉRICA COMO LO ES LA DIARREA, SIEMPRE Y CUANDO NO TUVIERA UNA EVOLUCIÓN MAYOR DE 3 DÍAS Y SIN COMPLICACIONES.

UNA VEZ OBTENIDAS LAS MUESTRAS, FUERON ENVIADAS AL LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA INTESTINAL PARA SU PROCESAMIENTO PROCURANDO QUE ÉSTE SEA LO MÁS PRONTO POSIBLE, TRANSPORTANDO LA MATERIA FECAL EN FRASCO CON TAPA DE PLÁSTICO.

LA MATERIA FECAL SE SIEMBRA INMEDIATAMENTE EN LOS MEDIOS DE: SALMONELLA - SHIGELLA (55); MAC CONKEY; AGAR CON TIOSULFATO-CITRATO-SALES BILIARES-SACAROSA (TCBS); AGUA DE PEPTONA ALCALINA; CALDO DE TETRATONATO; AGAR CON VERDE BRILLANTE; AGAR DESOXICOLATO Y MEDIO DE SKIRROW.

CABE MENCIONAR QUE SE TOMÓ CON UNA CUCHARILLA DE VIDRIO, UNA MUESTRA DIRECTAMENTE DEL ANO DE CADA NIÑO, (TRATANDO DE MUESTRAR MOCO FECAL), CON EL FIN DE REALIZAR UNA OBSERVACIÓN DIRECTA AL MICROSCOPIO, PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE TROFOZOITOS O QUISTES DE PARÁSITOS INTESTINALES, Y EN CASO DE ENCONTRAR LEUCOCITOS Y/O ERITROCITOS, INDICAR SU PRESENCIA EN LOS RESULTADOS.

A CONTINUACIÓN SE PRESENTA EN UN DIAGRAMA DE FLUJO, EL PROCESAMIENTO DE CADA MUESTRA PARA QUE SE ENTIENDA MEJOR EL DESARROLLO DE ESTE ESTUDIO:



UNA VEZ QUE SE OBTUVO EL DESARROLLO COLONIAL, YA SEA A LAS 24 HORAS O EN EL CASO DE LOS SUBCULTIVOS A LAS 48 HORAS, ASÍ COMO EL DESARROLLO OBTENIDO EN

EL MEDIO DE SKIRROW, SE PROCEDE DE LA SIGUIENTE MANERA:

DEL MEDIO SS.- SE SELECCIONAN LAS COLONIAS INCOLORAS QUE DENOTAN SER LACTOSA-NEGATIVA, ASÍ COMO LAS COLONIAS QUE CONTIENEN AL CENTRO UNA PIGMENTACIÓN NEGRA; SE REALIZAN PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y POSTERIORMENTE SEROLÓGICAS SI SE AISLÓ ALGUNA SALMONELLA O SHIGELLA.

DEL MEDIO MAC CONKEY Y TERGITOL.- SE SELECCIONAN LAS COLONIAS PROBABLES A LACTOSA NEGATIVA INCOLORAS O TRANSPARENTES Y AZULES RESPECTIVAMENTE DE -- ACUERDO AL MEDIO DE CULTIVO Y SE REALIZAN PRUEBAS BIOQUÍMICAS; TAMBIÉN SE SELECCIONAN ALGUNAS COLONIAS QUE POR MORFOLOGÍA COLONIAL SEAN E. COLI, SE RE-- SIEMBRAN EN UNA GELOSA SIMPLE CON EL FIN DE OBTENER UN CULTIVO ABUNDANTE Y PODER REALIZAR UNA AGLUTINACIÓN EN PLACA Y POSTERIORMENTE DE ACUERDO A LOS RE-- SULTADOS DETERMINAR SI SE TRATA DE UNA E. COLI ENTEROPATÓGENA O DE E. COLI EN TERDINVASIVA, EN ESTE ÚLTIMO CASO, SE CONFIRMA LA INVASIVIDAD REALIZANDO LA -- PRUEBA DE SERENY, INOCULANDO EL OJO DE UN COBAYO EN DONDE SE PRODUCIRÁ UNA -- QUERATOCONJUNTIVITIS,

LOS SUBCULTIVOS OBTENIDOS TANTO EN AGAR VERDE BRILLANTE, COMO EN MEDIO -- TCBS, SON UTILIZADOS PARA AISLAR SALMONELLA Y VIBRIO RESPECTIVAMENTE. EN EL CASO DEL MEDIO TCBS SE UTILIZA EN ESTE ESTUDIO, PARA CONFIRMAR QUE EL VIBRIO CHOLERAE ESTÁ ERRADICADO EN MÉXICO, COMPROBÁNDOSE ÉSTO YA QUE NO SE OBTUVO EN NINGÚN CASO,

MEDIO MAC CONKEY.- PARA EL PRIMO AISLAMIENTO SE INOCULARON 2 CAJAS DE ESTE MEDIO DEL CUAL UNO YA SE EXPLICÓ ANTERIORMENTE Y EL OTRO SE INCUBA A TEMPERATURA AMBIENTE CON EL OBJETO DE AISLAR YERSINIA.

AL MEDIO DE SKIRROW (MODIFICADO) UNA VEZ INOCULADA Y ESTRIADA LA MUESTRA - SE GUARDA LA CAJA DENTRO DE UNA JARRA PARA ANAEROBOSIS (JARRA DE TORBALL) EN - DONDE SE OBTENDRÁ UNA ATMÓSFERA MICROAEROFÍLICA; PARA ESTE FIN SE UTILIZA LA -- MEZCLA DE GASES SIGUIENTE: 5% O₂, 5% CO₂ Y 90% N₂.

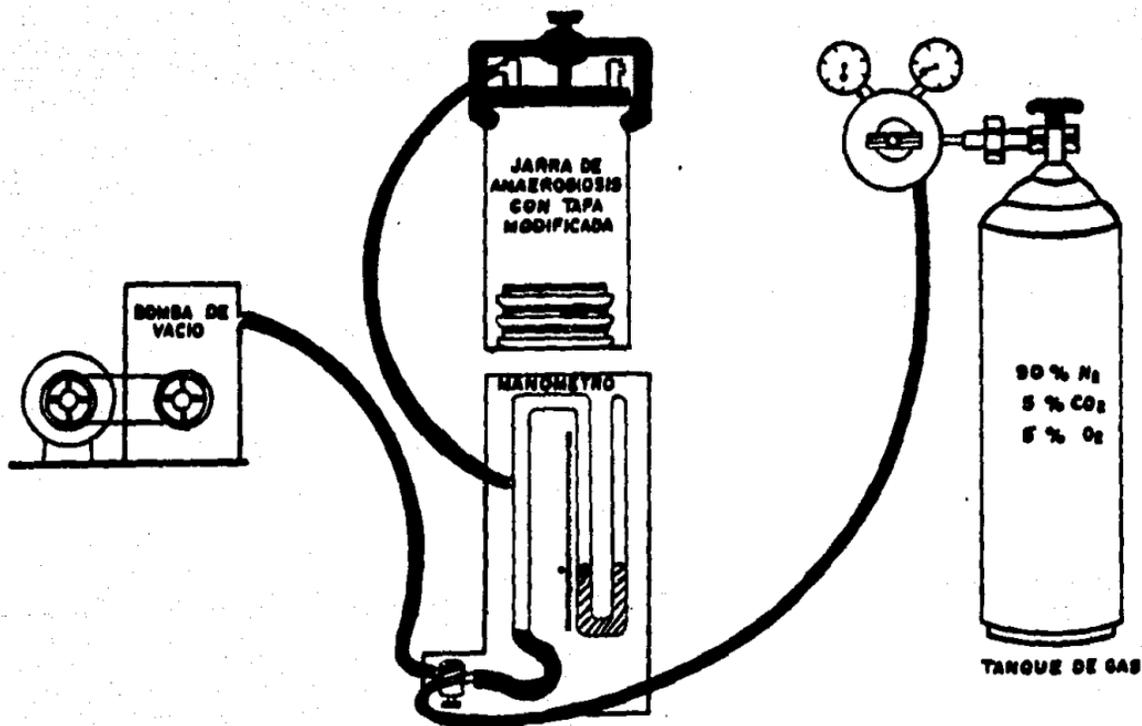
EL INTERCAMBIO SE HIZO POR VACIADO DE AIRE DE LA JARRA CON UNA BOMBA PARA VACÍO Y REPOSICIÓN CON LA MEZCLA DE GASES (90% N₂, 5% CO₂ Y 5% O₂) CONTENIDA - EN LOS TANGUES, CONTROLÁNDOLO CON UN MANÓMETRO DE MERCURIO. UNA VEZ OBTENIDA LA ATMÓSFERA REDUCIDA DE OXÍGENO, SE INCUBA A 42°C POR 48 HORAS. (VER ESQUE- MA).

TRANSCURRIDO ESTE TIEMPO SE OBSERVA SI DE ACUERDO A LA MORFOLOGÍA COLO-- NIAL DE CAMPYLOBACTER SE OBTIENEN CULTIVOS POSITIVOS, SI EXISTEN COLONIAS SOS- PECHOSAS SE HACEN FROTIS Y LUEGO TINCIONES DE GRAM (SUSTITUYENDO EL CONTRASTE - SAFRANINA POR CARBOL FUCSINA), SE CONFIRMA LA MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA Y ENTON-- CES SE SELECCIONAN LAS COLONIAS DE CAMPYLOBACTER Y SE RESIEMBRAN EN MEDIO DE -- MUELLER HINTON CON 5% DE SANGRE DE CARNERO, CON EL FIN DE OBTENER UN CULTIVO PU RO Y BIEN DESARROLLADO, SE INCUBA EN LAS MISMAS CONDICIONES COMO SE DESCRIBÍO - PERO VERIFICANDO EL CULTIVO CADA 24 HORAS, Y PASÁNDOLO A MEDIO FRESCO CADA 48 HO-- RAS, ESTO ES DEBIDO A QUE CAMPYLOBACTER SE CONSIDERA UNA BACTERIA DÍFICIL DE -- AISLAR Y REQUIERE PARA ELLO DE MEDIOS SELECTIVOS PERO ENRIQUECIDOS QUE RESULTAN FÁCILES DE CONTAMINAR, ASÍ MISMO ESTE GERMEN ES PLEOMÓRFICO Y POR LO TANTO, SI PERMANECE MÁS DE 48 HORAS EN EL MISMO MEDIO DE CULTIVO TIENDE A TOMAR UNA FOR- MA COCOIDE, LA CUAL YA NO ES RECUPERABLE.

UNA VEZ QUE SE OBTIENE EL CULTIVO PURO SE DESTINA PARA DOS COSAS:

- 1) HACER UNA SUSPENSIÓN DE LA BACTERIA EN UN MEDIO DE CONSERVACIÓN Y --

2) REALIZAR PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y SEROLÓGICAS PARA DETERMINAR SU BIOTIPO Y SEROTIPO RESPECTIVO.

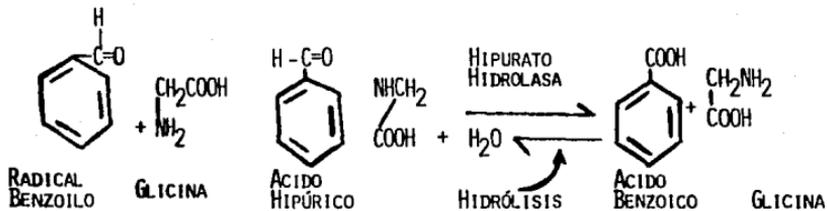


BIOTIPIFICACION

PRUEBA RÁPIDA DE LA HIDRÓLISIS DEL HIPURATO:

COMO SE INDICÓ SE REQUIEREN CEPAS BIEN DESARROLLADAS DE 24 A 48 HORAS DE CRECIMIENTO.

LA PRUEBA CONSISTE EN DETERMINAR LA PRESENCIA DE LA ENZIMA HIDROLASA DEL HIPURATO (HIPURICASA) PARA HIDROLIZAR HIPURATO DE SODIO (ÁCIDO HIPÚRICO) A ÁCIDO BENZOICO Y GLICINA (23).



SE REQUIERE UNA SOLUCIÓN ACUOSA DE HIPURATO DE SODIO AL 1% Y UNA SOLUCIÓN DE NINHIDRINA AL 3,5% EN BUTANOL-ACETONA (1:1); ESTA SOLUCIÓN DEBE PREPARARSE CADA SEMANA.

SE AGREGAN 0,4 ML. DE LA SOLUCIÓN ACUOSA DE HIPURATO DE SODIO A TUBOS DE 10 x 75 MM., SE TAPAN Y ÉSTAS ALÍCUOTAS SE CONGELAN A -20°C HASTA SER USADAS.

SE HACE UNA EMULSIÓN CON UNA PEQUEÑA ASADA DE UN CULTIVO PURO DE 24-48 HORAS EN SOLUCIÓN DE HIPURATO (PREVIAMENTE DESCONGELADA Y A TEMPERATURA AMBIENTE). SE MEZCLA BIEN Y SE INCUBA EN BAÑO MARÍA A 37°C POR 2 HORAS. SE AÑADE LENTAMENTE 0,2 ML. DEL REACTIVO DE NINHIDRINA, SE REINCUBA POR OTROS 10 MINUTOS SIN MEZCLAR Y SE LEE INMEDIATAMENTE.

UN COLOR PÚRPURA INTENSO REPRESENTA UNA REACCIÓN POSITIVA QUE INDICA LA PRESENCIA DE GLICINA COMO RESULTADO DE LA HIDRÓLISIS DEL HIPURATO. UNA REACCIÓN INCOLORA O DÉBILMENTE COLORIDA REPRESENTA UN RESULTADO NEGATIVO (18).

PRUEBA DE LA HIDRÓLISIS DEL ADN (MODIFICADA):

SE UTILIZA PARA DETERMINAR LA CAPACIDAD DE UN ORGANISMO DE PRODUCIR LA ENZIMA DNASA, CAPAZ DE DEGRADAR AL ÁCIDO DESOXIRIBONUCLEICO. LA DNASA ES UNA ENZIMA EXTRACELULAR, DE TIPO ENDONUCLEASA; PARA DEMOSTRAR LA ESPECIFICIDAD DE LA DNASA PRODUCIDA POR LA BACTERIA, SE INCORPORA VERDE DE METILO AL MEDIO COMO INDICADOR (23).

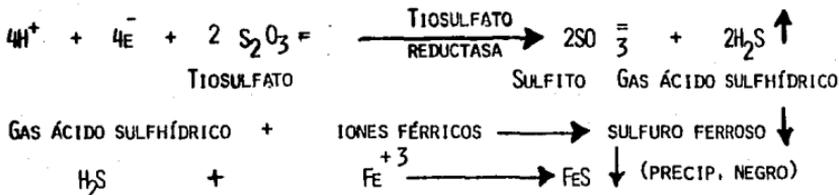
EN CAJAS CON MEDIO DE AGAR DNASA (DESPROVISTAS DE HUMEDAD), INOCULAR UNA ASADA DE UN CULTIVO PURO DE 24-48 HORAS DE DESARROLLO EN UN ÁREA CIRCULAR DE APROXIMADAMENTE 1 CM. DE DIÁMETRO. INCUBAR A 37°C CON ATMÓSFERA REDUCIDA DE OXÍGENO DURANTE 5 DÍAS Y EXAMINANDO LAS CAJAS DIARIAMENTE. UNA ZONA CLARA O INCOLORA ALREDEDOR DEL ÁREA DE CRECIMIENTO SE CONSIDERA UNA REACCIÓN POSITIVA, ESTO ES, LOS ORGANISMOS QUE PRESENTAN ACTIVIDAD DNASA HIDROLIZARÁN EL DNA QUE DARÁ COMO RESULTADO, LA FORMACIÓN DE UN COMPLEJO CON EL VERDE DE METILO PARA DAR UNA ZONA INCOLORA ALREDEDOR DEL DESARROLLO BACTERIANO. POR EL CONTRARIO, AL NO PRODUCIRSE UNA ZONA DE INHIBICIÓN ALREDEDOR DEL ÁREA DE CULTIVO, SE CONSIDERA NEGATIVA LA REACCIÓN (18).

PRUEBA RÁPIDA DE PRODUCCIÓN DE (H₂S) ACIDO SULFÚDRICO:

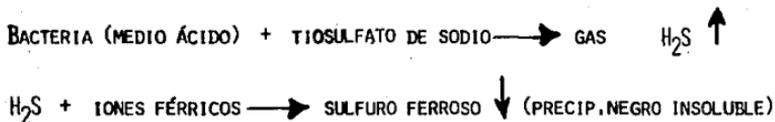
SE UTILIZA PARA OBTENER UNA ESTIMACIÓN DEL PODER CATABÓLICO DE UN MICROORGANISMO EN RELACIÓN CON LOS COMPUESTOS DE AZUFRE, PERO LAS ENZIMAS RESPONSABLES DEL OSCURECIMIENTO CAUSADO POR ALGUNAS CEPAS DE CAMPYLOBACTER NO SON - - -

BIEN CONOCIDAS.

LA PRUEBA DEL ÁCIDO SULFHÍDRICO, SIRVE PARA DETERMINAR SI SE HA LIBERADO H_2S POR ACCIÓN ENZIMÁTICA, DE LOS AMINOÁCIDOS QUE CONTIENEN AZUFRE PRODUCIENDO UNA REACCIÓN VISIBLE DE COLOR NEGRO (23).



REACCIÓN TOTAL:



SEROTIPIFICACION

PARA DETERMINAR EL SEROTIPO DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE *CAMPYLOBACTER* Y DE ACUERDO AL ESQUEMA DE TRABAJO EN EL QUE NOS BASAMOS, SE DEBEN SEGUIR LOS SIGUIENTES PASOS:

- 1) PROBAR LA CEPA CON LOS ANTISUEROS POLIVALENTES.
- 2) IDENTIFICAR EL SEROTIPO CON EL ANTISUERO MONOVALENTE NO ABSORBIDO.
- 3) CONFIRMAR EL SEROTIPO INDIVIDUAL OBTENIDO CON UN ANTISUERO ESPECÍFICO ABSORBIDO.

EL ESQUEMA DE SEROTIPIFICACIÓN ESTÁ COMPUESTO POR 9 ANTISUEROS POLIVALEN--
TES, 60 ANTISUEROS MONOVALENTES Y 20 ANTISUEROS ABSORBIDOS O ESPECÍFICOS QUE -
PROVIENEN DEL LABORATORIO CENTRAL PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES EN ONTARIO,
CANADÁ. LOS SUEROS SE OBTUVIERON TANTO DE HUMANOS COMO DE ANIMALES (POLLOS,
BOVINOS, CERDOS, PATOS), PARA USAR LOS ANTISUEROS SE VAN A DILUIR COMO SE INDI
CA EN CADA VIAL, CON UNA SOLUCIÓN DE PBS-MERTHIOLATE 1:10,000.

SE REQUIERE UNA SOLUCIÓN SALINA DE CLORURO DE SODIO AL 2% PARA PROBAR QUE
NO HAY AUTOAGLUTINACIÓN CON CADA CEPA QUE SE VAYA A SEROTIPIFICAR, SI SE AUTO-
AGLUTINA CON ESTA SOLUCIÓN DEBERÁ DE RESEMBRARSE EN AGAR MUELLER HINTON CON 5%
DE SANGRE, DE 5 A 10 VECES COMO MÁXIMO.

SI A LA DÉCIMA RESIEMBRA SE AUTOAGLUTINA ENTONCES NO SE PRUEBA MÁS Y EL -
RESULTADO NO INCLUIRÁ NINGÚN SEROTIPO.

LOS CULTIVOS QUE NO PRESENTEN AUTOAGLUTINACIÓN, SE PROBARÁN CON LOS PRIME
ROS CUATRO SUEROS POLIVALENTES PARA LO CUAL, SE REQUIERE DE UNA SOLUCIÓN DE --
DNASA CON PBS EN DONDE SE VA A SUSPENDER UNA PEQUEÑA CANTIDAD DE LA CEPA. (VER
APÉNDICE). SI AGLUTINA CON ALGUNO SE PRUEBAN LOS SUEROS MONOVALENTES QUE CO-
RRESPONDAN Y SE CONFIRMA EL SEROTIPO USANDO LOS SUEROS ESPECÍFICOS O ABSORBI--
DOS. EN EL CASO DE NO AGLUTINAR CON ALGUNO DE LOS SUEROS POLIVALENTES SE --
UTILIZAN LOS OTROS CINCO Y SI AGLUTINA CON ALGUNO DE ELLOS SE SIGUE EL MISMO -
MECANISMO ARRIBA INDICADO.

CABE HACER MENCIÓN DE QUE HAY CEPAS QUE NO AGLUTINAN CON NINGÚN SUERO PA-
RA LO CUAL SE REALIZAN RESIEMBRAS (MÁXIMO 10) Y SI NO SE OBTIENE RESULTADO, DI
CHAS CEPAS NO QUEDARÁN INCLUIDAS EN NINGÚN SEROTIPO.

EN EL SIGUIENTE ESQUEMA SE MUESTRAN LOS ANTISUEROS POLIVALENTES CON SUS RESPECTIVOS SUEROS MONOVALENTES:

<u>POLIVALENTE 1</u>		<u>POLIVALENTE 2</u>		<u>POLIVALENTE 3</u>	
ANTISUERO TIPO	4	ANTISUERO TIPO	1	ANTISUERO TIPO	8
	5		2		9
	6		7		11
	17		21		28
	20		36		29
	23		44		53
	38		55		60

<u>POLIVALENTE 4</u>		<u>POLIVALENTE 5</u>		<u>POLIVALENTE 6</u>	
ANTISUERO TIPO	18	ANTISUERO TIPO	10	ANTISUERO TIPO	22
	19		13		24
	45		14		25
	46		15		26
	48		16		27
	51				30

<u>POLIVALENTE 7</u>		<u>POLIVALENTE 8</u>		<u>POLIVALENTE 9</u>	
ANTISUERO TIPO	31	ANTISUERO TIPO	12	ANTISUERO TIPO	52
	32		40		54
	33		42		56
	35		47		57
	39		49		58
			50		59

RESULTADOS Y DISCUSION

LOS AISLADOS DE CAMPYLOBACTER OBTENIDOS FUERON BIOTIPIFICADOS Y SEROTIPIFICADOS DE ACUERDO AL ESQUEMA PROPUESTO POR H. LIOR. TODAS LAS CEPAS FUERON RESEMBRADAS COMPROBÁNDOSE SU MORFOLOGÍA COLONIAL Y MICROSCÓPICA, MEDIANTE UN FROTIS Y TINCIÓN DE GRAM. A LAS CEPAS PURAS SE LES REALIZARON LAS PRUEBAS -- BIOQUÍMICAS Y SEROLÓGICAS CORRESPONDIENTES.

LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA BIOTIPIFICACIÓN SE MUESTRAN EN EL CUADRO 1. EN ÉL SE PRESENTAN LOS BIOTIPOS DE ACUERDO AL ORIGEN DE LOS AISLADOS Y SEPARAN DO LAS MUESTRAS EN ORIGEN ANIMAL Y HUMANO, Y ÉSTE SUBDIVIDIDO EN ADULTOS Y NIÑOS. EN LAS 180 MUESTRAS DISPONIBLES FUE POSIBLE DETERMINAR EL BIOTIPO, ENCONTRANDO QUE EN LAS CEPAS DE ORIGEN HUMANO EL BIOTIPO PREVALENTE ES CAMPYLOBACTER JEJUNI I, EN PROPORCIONES SEMEJANTES EN ADULTOS Y EN NIÑOS. EN CAMBIO, EN EL GRUPO DE AISLADOS PROVENIENTES DE ANIMALES EL BIOTIPO PREVALENTE ES EL -- C. JEJUNI II, CORRESPONDIENDO AL 55% DEL TOTAL DE LAS CEPAS DE ESTE ORIGEN.

AL CALCULAR SI LA RELACIÓN ENTRE BIOTIPO Y ORIGEN DE LOS AISLADOS ES SIGNIFICATIVA, ENCONTRAMOS QUE SÓLO EN EL CASO DE C. JEJUNI II, HAY DEPENDENCIA ENTRE EL BIOTIPO Y EL ORIGEN DEL AISLADO ($\chi^2 = 0.05$).

EN EL CUADRO 2 SE PRESENTAN LOS RESULTADOS DE LA SEROTIPIFICACIÓN DE LOS - 180 AISLADOS DE ACUERDO AL ORIGEN DE LOS MISMOS. SE OBTUVO UN SEROTIPO INDIVIDUAL EN 123 CASOS, UN SEROTIPO MIXTO EN 18 CASOS Y SE OBSERVÓ QUE ALGUNAS CEPAS PRESENTARON AUTOAGLUTINACIÓN O NO AGLUTINARON (13 Y 26 CASOS RESPECTIVAMENTE). ESTOS DATOS CORRESPONDEN A LOS RESULTADOS FINALES OBTENIDOS, INCLUYENDO HASTA - 10 RESEMBRADAS EN AQUELLAS MUESTRAS QUE PRESENTABAN AGLUTINACIÓN MIXTA, AUTOAGLUTINACIÓN O NO ERAN AGLUTINANTES.

CUADRO No. 1

BIOTIPO	ORIGEN DE LAS MUESTRAS							
	ANIMAL		H U M A N O				TOTAL	
			ADULTOS		NIÑOS			
POSITIVOS	PORCIENTO	POSITIVOS	PORCIENTO	POSITIVOS	PORCIENTO	POSITIVOS	PORCIENTO	
C. JEJUNI I	6	30	39	42.3	31	45.5	76	42
C. JEJUNI II	11	55	13	14.1	21	30.8	45	25
C. JEJUNI III	-	-	5	5.4	1	1.4	6	3
C. COLI I	2	10	21	22.8	11	16.1	34	19
TOTAL	20	11	92	51	68	38	180	100

CUADRO No. 2

SEROTIPO	ORIGEN DE LAS MUESTRAS			TOTAL
	ANIMAL	ADULTO	Niños	
36	-	5	13	18
11	2	5	6	9
19	-	4	4	6
4	1	4	5	6
45	1	2	4	7
2	3	2	3	6
9	-	4	2	6
46	1	4	1	6
13	5	3	2	6
38	-	3	2	5
44	2	3	2	5
48	-	3	1	4
55	-	3	2	5
8	-	2	1	3
18	-	2	1	3
21	-	2	1	3
60	-	2	1	3
7	-	2	1	3
28	-	2	2	4
29	-	2	2	4
17	1	2	-	3
32	-	1	-	1
53	-	1	-	1
59	1	-	-	1
SUBTOTAL	16	58	49	123
MIXTO	2	10	6	18
AUTOAGLUTINANTE	2	7	4	13
NO AGLUTINANTE	-	17	9	26
SUBTOTAL	4	34	19	57
TOTAL	20	92	68	180

CALCULANDO (χ^2 $p=0,05$) DE LOS DATOS, ENCONTRAMOS QUE 4 DE LOS SEROTIPOS PRESENTAN UNA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA DE ACUERDO AL ORIGEN DE LOS AISLADOS. - LOS SEROTIPOS INCLUIDOS EN ESTA CATEGORÍA SON: EL 36 Y EL 1 QUE SON PREVALENTES EN EL GRUPO DE HUMANOS NIÑOS Y SEROTIPOS 2 Y 13 QUE SON SIGNIFICATIVAMENTE PREVALENTES EN EL GRUPO DE MUESTRAS DE ANIMALES. NO SE ENCONTRÓ NINGÚN SEROTIPO CUYA PREVALENCIA SEA SIGNIFICATIVA EN EL GRUPO DE ADULTOS.

EN 57 AISLADOS (30% DEL TOTAL) NO SE OBTUVO UN SEROTIPO ESPECÍFICO. ESTAS MUESTRAS PUEDEN DIVIDIRSE EN TRES CLASES: LAS DE SEROTIPO MIXTO, LAS AUTOAGLUTINANTES Y LAS QUE NO AGLUTINAN CON NINGUNO DE LOS SUEROS DISPONIBLES.

EN EL CUADRO 3 SE PRESENTAN LOS SEROTIPOS MIXTOS OBTENIDOS EN 18 DE LAS MUESTRAS (10% DEL TOTAL) AÚN DESPUÉS DE 10 RESIEMBRAS.

LAS CEPAS AUTOAGLUTINANTES CORRESPONDEN AL 7% DEL TOTAL (13 AISLADOS) Y EL 14% RESTANTE (26 AISLADOS) SON MUESTRAS QUE NO AGLUTINAN CON NINGUNO DE LOS SUEROS DISPONIBLES.

EN EL CUADRO 4 SE PRESENTAN LOS RESULTADOS DE BIOTIPOS CONTRA SEROTIPOS, SE PUEDE OBSERVAR QUE ES PREDOMINANTE EL CAMPYLOBACTER JEJUNI I, SEROTIPO 36, ASÍ MISMO, C. JEJUNI I ES PREDOMINANTE EN LAS CEPAS NO AGLUTINANTES.

EN EL CUADRO 5 SE PRESENTAN LOS BIOTIPOS OBTENIDOS EN EL GRUPO DE NIÑOS DEL ESTUDIO OMS, DIVIDIDOS EN NIÑOS DIARREICOS (PACIENTES) Y NIÑOS SANOS (CONTROLES). AL ANALIZAR POR χ^2 $p=0,05$, NO ENCONTRAMOS DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS DOS GRUPOS PARA NINGUNO DE LOS BIOTIPOS PRESENTES.

EN EL CUADRO 6 SE PRESENTAN LOS SEROTIPOS EN ESTE MISMO GRUPO DE MUESTRAS.

OBSERVÁNDOSE UNA MARCADA PREVALENCIA AUNQUE NO SIGNIFICATIVA ESTADÍSTICAMENTE, DEL SEROTIPO 36 EN EL GRUPO DE PACIENTES, REPRESENTANDO EL 24% EN DICHO GRUPO.

EN EL CUADRO 7 SE MUESTRAN LOS RESULTADOS DE BIOTIPOS CONTRA SEROTIPOS DE LOS NIÑOS ESTUDIADOS, SE PUEDE OBSERVAR QUE LOS MÁS COMUNMENTE AISLADOS SON -- LOS BIOTIPOS C. JEJUNI I Y II, Y DENTRO DE ÉSTOS LOS SEROTIPOS 36, 1 Y NO --- AGLUTINANTES.

CUADRO No. 3

SEROTIPOS	ORIGEN DE LAS MUESTRAS			TOTAL
	ANIMALES	ADULTOS	NIÑOS	
1/36	-	1	-	1
2/1	-	-	2	2
2/28	-	1	-	1
4/2	1	1	1	3
21/55	-	-	1	1
29/55	1	2	-	3
36/1	-	-	1	1
44/45	-	1	-	1
45/36	-	1	-	1
46/55	-	1	-	1
48/8	-	-	1	1
55/29	-	2	-	2
TOTAL	2	10	6	18

CUADRO No. 4

BIOTIPOS DE CAMPYLOBACTER						
SEROTIPOS	JEJUNI I	JEJUNI II	JEJUNI III	COLI I	COLI II	TOTAL
36	10	6	-	2	-	18
11	6	3	-	-	-	9
19	4	2	1	2	-	9
4	4	3	-	-	2	9
45	5	2	-	-	-	7
2	1	-	-	3	3	7
9	4	2	-	-	-	6
46	1	2	-	1	4	6
13	-	5	-	1	-	6
38	2	1	1	1	-	5
44	-	-	-	5	-	5
48	2	-	-	2	1	5
55	1	-	-	3	-	4
8	-	-	-	-	-	3
18	3	-	-	1	1	3
21	3	-	-	-	-	3
60	3	-	-	1	-	3
7	1	1	-	-	-	2
28	-	1	-	1	-	2
29	-	-	-	-	2	2
17	-	1	-	-	-	1
32	-	-	-	-	1	1
53	-	-	-	-	-	1
59	1	-	-	-	-	1
MIXTO AUTOAGLUTINANTE NO AGLUTINANTE	5 4 13	6 4 6	- 3 1	5 1 4	2 1 2	18 13 26
TOTAL	76	45	6	34	19	180
%	42	25	3	19	11	100

CUADRO No. 5

NINOS DEL ESTUDIO OMS

BIOTIPOS	PACIENTES	CONTROLES	TOTAL
C. JEJUNI I	22	9	31
C. JEJUNI II	11	10	21
C. JEJUNI III	1	0	1
C. COLI I	6	5	11
C. COLI II	2	2	4
TOTAL	42	26	68

CUADRO No. 6

NITROS DEL ESTUDIO OMS

SEROTIPOS	PACIENTES	CONTROLES	TOTAL
36	10	3	13
1	4	2	6
11	3	1	4
19	3	2	5
4	1	3	4
45	2	1	3
2	-	1	1
9	1	1	2
46	-	1	1
38	2	-	2
48	1	1	2
55	-	1	1
8	1	-	1
18	1	-	1
60	1	-	1
28	1	1	2
MIXTO	4	2	6
AUTOAGLUTINANTE	3	1	4
NO AGLUTINANTE	4	5	9
TOTAL	42	26	68

CUADRO No. 7
NIÑOS DEL ESTUDIO OMS

SERO TIPOS	BIOTIPOS DE CAMPYLOBACTER					T O T A L
	JEJUNI I	JEJUNI II	JEJUNI III	COL I I	COL I II	
36	7	5	0	1	0	13
1	3	3	0	0	0	6
11	1	1	0	2	0	4
19	2	1	0	0	2	5
4	3	1	0	0	0	4
45	1	0	0	1	1	3
2	0	1	0	0	0	1
9	1	1	0	0	0	2
46	0	0	0	0	1	1
38	0	1	0	1	0	2
48	1	0	0	1	0	2
55	0	0	0	1	0	1
8	0	0	0	1	0	1
18	1	0	0	0	0	1
60	1	0	0	0	0	1
28	0	1	0	1	0	2
MIXTO	2	2	0	2	0	6
AUTOAGLUT.	2	1	1	0	0	4
NO AGLUT.	6	3	0	0	0	9
T O T A L	31	21	1	11	4	68

EN EL CUADRO 8 SE ENCUENTRAN LOS BIOTIPOS DE ACUERDO AL SEXO DE LOS NIÑOS ESTUDIADOS. SE OBSERVA QUE HAY UNA LIGERA PREVALENCIA AUNQUE NO SIGNIFICATIVA, DE C. JEJUNI II Y C. COLI I EN LOS SUJETOS DEL SEXO MASCULINO. ASIMISMO, EN EL CUADRO 9 SE PRESENTAN ESTOS DATOS PARA LOS SEROTIPOS, PUDIÉNDOSE OBSERVAR QUE HAY UNA MAYOR INCIDENCIA EN EL SEXO MASCULINO DE LOS SEROTIPOS 36, 1, 11 Y NO AGLUTINANTES.

EN EL CUADRO 10 SE PRESENTAN DESGLOSADOS LOS DATOS DE BIOTIPOS DE ACUERDO A LA EDAD DE LOS NIÑOS Y CONSIDERANDO EL QUE SEAN PACIENTES O CONTROLES. ES INTERESANTE NOTAR LAS DIFERENCIAS ENTRE PACIENTES Y CONTROLES PARA EL CASO DE C. JEJUNI I, SOBRE TODO EN LOS NIÑOS DE MENOR EDAD, AUNQUE AL CALCULAR χ^2 $p = 0.05$, ESTAS DIFERENCIAS NO SON SIGNIFICATIVAS, LO CUAL PUEDE DEBERSE AL NÚMERO REDUCIDO DE MUESTRAS QUE QUEDAN INCLUIDAS EN CADA GRUPO. ALGO SIMILAR OCURRE CON LOS SEROTIPOS (CUADRO 11), EN DONDE HAY UNA MAYOR PREVALENCIA EN LOS GRUPOS DE NIÑOS MENORES DE 12 MESES DE EDAD, SIENDO PREVALENTES LOS SEROTIPOS 36, 1, MIXTOS Y NO AGLUTINANTES.

LA DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DE CAMPYLOBACTER SE PRESENTA EN LA GRÁFICA 1, EN ELLA PODEMOS VER QUE HAY DOS PICOS DE PREVALENCIA, DURANTE EL VERANO Y EN EL MES DE ENERO.

A TODOS LOS NIÑOS (PACIENTES) INCLUIDOS EN EL ESTUDIO OMS SE LES APLICÓ UN CUESTIONARIO, LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS 42 CASOS SE PRESENTA A CONTINUACIÓN:

- 1) CONSISTENCIA DE LAS HECEs: ACUOSA = 8 ; SUAVE = 34
- 2) NÚMERO DE EVACUACIONES EN 24 HRS.:

- 3 EVACUACIONES = 3
- 4-6 EVACUACIONES = 13
- 6-8 EVACUACIONES = 10
- 9-MÁS EVACUACIONES = 16

3) EVACUACIONES CON MOCO Y SANGRE: sí = 14 ; NO = 28

4) PRESENCIA DE FIEBRE: sí = 20 ; NO = 22

5) VÓMITO EN 24 HRS.: sí = 16 ; NO = 26

6) TIPO DE ALIMENTACIÓN:

A) LECHE MATERNA = 1

B) LECHE MATERNA MÁS OTRAS COMIDAS Y LECHE ARTIFICIAL = 9

C) LECHE ARTIFICIAL = 4

D) LECHE ARTIFICIAL MÁS OTRAS COMIDAS = 28

7) DESHIDRATACIÓN: NINGUNO DE LOS PACIENTES PRESENTÓ DESHIDRATACIÓN.

8) LEUCOCITOS FECALES: sí = 19 ; NO = 23

9) ERITROCITOS FECALES: sí = 15 ; NO = 27

10) OTROS ENTEROPATÓGENOS AISLADOS: sí = 20 ; NO = 22

PODEMOS OBSERVAR QUE SE PRESENTA UN ALTO NÚMERO DE EVACUACIONES Y DE CONSISTENCIA SUAVE. LA PRESENCIA DE MOCO Y SANGRE (33%), ES MENOR QUE LA REPORTADA EN LA LITERATURA (2, 32).

DE IGUAL MANERA, LOS ERITROCITOS Y LEUCOCITOS FECALES NO SON PREDOMINANTES.

APROXIMADAMENTE EL 48% DE LOS NIÑOS CON DIARREA PRESENTARON FIEBRE, Y UN 38% VÓMITO.

COMO SE OBSERVA EN LOS DATOS, LA MAYORÍA DE LOS NIÑOS (67%) ESTABAN SIENDO ALIMENTADOS CON LECHE ARTIFICIAL MÁS OTRAS COMIDAS.

SE ENCONTRARON OTROS PATÓGENOS EN EL 48% DE LOS CASOS, SIENDO EL SEROTIPO 36 EL QUE TUVO UNA MAYOR RELACIÓN, CON 6 MUESTRAS POSITIVAS A OTROS MICROORGANISMOS. LOS SEROTIPOS RELACIONADOS CON UNO O MÁS ENTEROPATÓGENOS SON LOS SIGUIENTES: 11, 45, 48, 38, 18, 4, 19, MIXTO, AUTOAGLUTINANTES Y NO AGLUTINANTES.

CUADRO No. 8

NITROS DEL ESTUDIO OMS

CAMPYLOBACTER						
SEXO	JEJUNI I	JEJUNI II	JEJUNI III	COLI I	COLI II	TOTAL
MASCULINO	18	14	0	9	1	42
FEMENINO	13	7	1	2	3	26
TOTAL	31	21	1	11	4	68

CUADRO No. 9

NINOS DEL ESTUDIO OMS

SEROTIPOS	S E X O		TOTAL
	MASCULINO	FEMENINO	
36	9	4	13
1	5	1	6
11	4	0	4
19	1	4	5
4	3	1	4
45	1	2	3
2	0	1	1
9	1	1	2
46	0	1	1
38	1	1	2
48	2	0	2
55	1	0	1
8	1	0	1
18	1	0	1
60	0	1	1
28	1	1	2
MIXTO	2	4	6
AUTOAGLUTINANTES	3	1	4
NO AGLUTINANTES	6	3	9
TOTAL	42	26	68

CUADRO No. 10

NIÑOS DEL ESTUDIO OPS

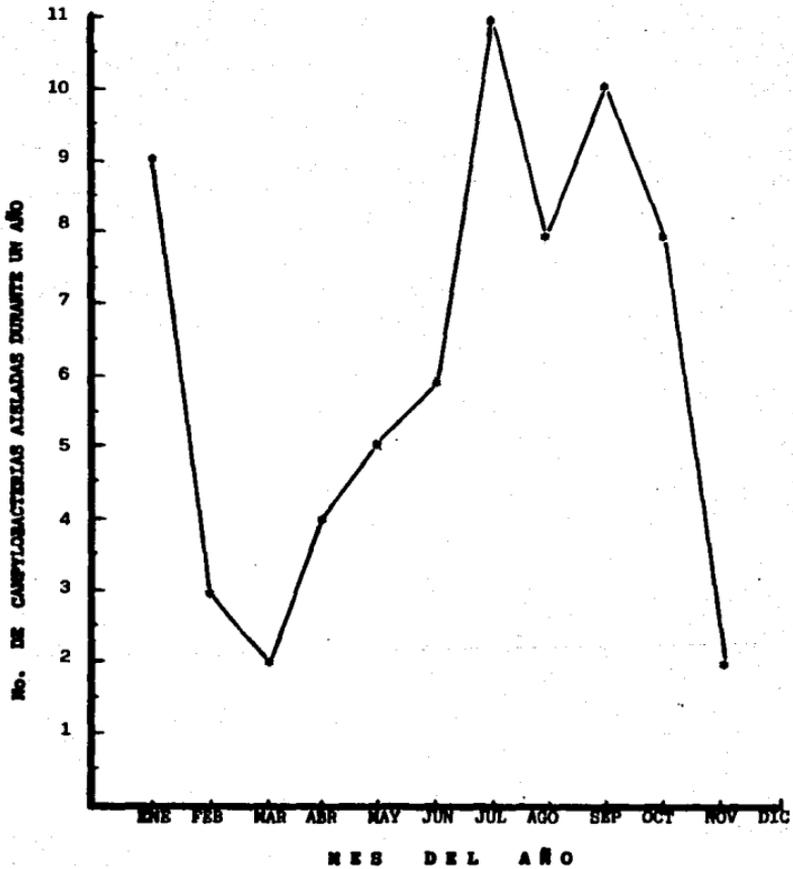
EDAD EN MESES	C. JEJUNI I		C. JEJUNI II		C. JEJUNI III		C. COLI I		C. COLI II		TOTAL
	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	
0 - 6	12	6	6	5	0	0	3	2	1	0	35
7 - 12	6	1	3	3	1	0	1	2	1	0	18
13 - 18	3	1	2	0	0	0	1	1	0	1	9
19 - 24	0	1	0	2	0	0	1	0	0	0	4
25 - 36	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
TOTAL	22	9	11	10	1	0	6	5	2	2	68

CUADRO No. 11

Niños del estudio OMS

SERO TIPOS	GRUPOS DE EDAD EN MESES										
	0 - 6		7 - 12		13 - 18		19 - 24		25 - 36		TOTAL
	P	C	P	C	P	C	P	C	P	C	
36	9	-	-	1	1	-	-	2	-	-	13
1	2	2	1	-	1	-	-	-	-	-	6
11	1	1	-	-	2	-	-	-	-	-	4
19	2	-	-	1	1	1	-	-	-	-	5
4	-	2	1	-	-	1	-	-	-	-	4
45	1	-	1	1	-	-	-	-	-	-	3
2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
9	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2
46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
38	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2
48	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
55	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1
8	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
18	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
60	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
28	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	2
MIXTO	3	2	1	-	-	-	-	-	-	-	6
AUTOAGLUTINANTE	-	1	3	-	-	-	-	-	-	-	4
NO AGLUTINANTE	1	3	2	1	1	-	-	1	-	-	9
T O T A L	22	13	12	6	6	3	1	3	1	1	68

GRAFICA No. 1



CONCLUSIONES

EN ESTE ESTUDIO ENCONTRAMOS QUE EL BIOTIPO MÁS COMÚN ES EL CAMPYLOBACTER JEJUNI I, ENCONTRÁNDOSE EN PROPORCIÓN SIMILAR EN ADULTOS Y EN NIÑOS. SIN EMBARGO, EN EL CASO DE LAS MUESTRAS DE ORIGEN ANIMAL EL BIOTIPO PREVALENTE ES EL C. JEJUNI II. EN ESTE ÚLTIMO CASO LA RELACIÓN ES ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA - - - - - (χ^2 $p=0.05$) Y ES INTERESANTE NOTAR EL HECHO DE QUE C. JEJUNI I EN HUMANOS ES CASI IGUAL EN ADULTOS Y NIÑOS (42.3% vs. 45.5%) MIENTRAS QUE C. JEJUNI II SE PRESENTA EL DOBLE DE VECES EN NIÑOS (14.1% vs. 30.8%).

CON LA METODOLOGÍA ACTUAL, NO TODOS LOS CAMPYLOBACTERS SON SEROTIFICABLES, EN EL PRESENTE ESTUDIO SE OBTUVIERON RESULTADOS DE SEROTIPOS PARA EL 70% DE LAS MUESTRAS. DENTRO DE ESTE PORCENTAJE ESTADÍSTICAMENTE SÓLO SON SIGNIFICATIVAS -- LAS ASOCIACIONES DE LOS SEROTIPOS 36 Y 1 EN AISLADOS DE HUMANOS NIÑOS Y LAS DE SEROTIPOS 2 Y 13 CON LOS DE ORIGEN ANIMAL. ESTOS DATOS PODRÍAN INDICAR QUE LAS INFECCIONES EN HUMANOS NO SON TRANSMITIDAS SIGNIFICATIVAMENTE DE ANIMALES INFECTADOS, YA QUE SE OBSERVA QUE TANTO LOS BIOTIPOS COMO LOS SEROTIPOS PREVALENTES PARA AMBOS GRUPOS SON DIFERENTES. AÚN ASÍ EL HECHO DE QUE EN NIÑOS SE ENCUENTRE UN MAYOR PORCENTAJE QUE EN ADULTOS DE C. JEJUNI II ES UN FENÓMENO QUE DEBERÍA ESTUDIARSE MEJOR.

EN 57 DE LAS MUESTRAS QUE REPRESENTAN UN 30% DEL TOTAL NO SE OBTUVO UN SEROTIPO ESPECÍFICO. 18 DE ELLAS AGLUTINARON CON MÁS DE UN SUERO Y POR LO TANTO SE -- CLASIFICARON COMO SEROTIPOS MIXTOS. LOS SEROTIPOS MIXTOS PUEDEN EXPLICARSE PENSANDO O EN UNA COINFECCIÓN SIMULTÁNEA CON DOS CEPAS DE DISTINTOS SEROTIPOS O BIEN SER EL PRODUCTO DE UNA NUEVA INFECCIÓN EN UN INDIVIDUO ACARREADOR DE UN CAMPYLOBACTER ADQUIRIDO PREVIAMENTE. ESTO NOS HACE PREGUNTARNOS SOBRE LA EFECTIVIDAD -

DE LA RESPUESTA INMUNE INDUCIDA POR LOS CAMPYLOBACTERS, FENÓMENO QUE ESTÁ POCO ESTUDIADO. TRECE MUESTRAS PRESENTAN AUTOAGLUTINACIÓN Y OTROS 26 NO AGLUTINAN CON NINGUNO DE LOS SUEROS. ES PROBABLE QUE EXISTAN CEPAS QUE A PESAR DEL NÚMERO DE RESIEMBRAS, NO EXPRESEN LOS DETERMINANTES ANTIGÉNICOS O BIEN QUE SE TRATE DE ---- OTROS SEROTIPOS NUEVOS, NO INCLUIDOS ENTRE LOS SUEROS CON LOS QUE SE REALIZÓ EL ESTUDIO.

LOS FACTORES RESPONSABLES DE LA PATOGENIA EN MUCHOS ORGANISMOS INFECCIOSOS NO SON CLARAMENTE CONOCIDOS. EN EL CASO DE LA E. COLI QUE ES UNA DE LAS MÁS AMPLIAMENTE ESTUDIADAS, SE HA DEMOSTRADO QUE SON DIVERSOS LOS MECANISMOS POR LOS CUALES ESTE MICROORGANISMO ES PATÓGENO, EN EL CASO DE CAMPYLOBACTER NO SE HAN REPORTADO TODAVÍA LOS PRINCIPALES FACTORES RESPONSABLES DE SU PATOGENIA.

EN ESTE ESTUDIO NOS ENCONTRAMOS CON QUE EL BIOTIPO Y EL SEROTIPO DE LOS CAMPYLOBACTERS AISLADOS, NO PARECE TENER RELACIÓN CON LA PRESENCIA DE DIARREA, ASÍ, NUESTROS RESULTADOS MUESTRAN QUE LOS AISLADOS DE NIÑOS SANOS SON DEL MISMO TIPO. ESTO NOS INDICA QUE HAY QUE INICIAR LA BÚSQUEDA DE OTROS PARÁMETROS QUE SEAN MARCADORES DE PATOGENICIDAD, TALES COMO TOXINAS, FACTORES DE ADHERENCIA, INVASIVIDAD, ETC., Y QUE PODRÍAN APLICARSE EN EL DIAGNÓSTICO DE ESTAS INFECCIONES.

BIBLIOGRAFIA

- (1) ANDERS B.J., B.A. LAUER AND S.W. PAISLEY. CAMPYLOBACTER GASTROENTERITIS IN NEONATES. AM. J. DIS. CHILD. 135:900-902, 1981.
- (2) BLASER M.J., I.D. BERKOWITZ, F.M. LA FORCE, ET AL. CAMPYLOBACTER ENTERITIS CLINICAL AND EPIDEMIOLOGIC FEATURES. ANNALS OF INTERNAL MEDICINE 91:179-185, 1979.
- (3) BROUGHAM D.I. AND R.J. MEECH. CAMPYLOBACTER ENTERITIS: A COMMON CAUSE OF ADULT DIARRHOEA. N.Z. MED. J. 90:239-240, 1979.
- (4) BUCK G.E., C. FOJTASEK, K. CALVERT AND M.T. KELLY. EVALUATION OF THE CAMPY PAK II GAS GENERATOR SYSTEM FOR ISOLATION OF CAMPYLOBACTER FETUS SUBSP. JEJUNI. J. CLIN. MICRO 15 (1): 41-42, 1982.
- (5) BUCK G.E., K.A. PARSHALL AND C.P. DAVIS. ELECTRON MICROSCOPY OF THE COCCOID FORM OF CAMPYLOBACTER JEJUNI. J. CLIN. MICROB. 18 (2): 420-421, 1983.
- (6) BUTZLER J.P. CAMPYLOBACTER INFECTION IN MAN AND ANIMALS. WHO COLLABORATING CENTER FOR CAMPYLOBACTER JEJUNI. CRC PRESS, INC.
- (7) CHAN F.I.H., A.M.R. MACKENZIE. ADVANTAGE OF USIN ENRICHMENT CULTURE TECHNIQUES TO ISOLATE CAMPYLOBACTER JEJUNI FROM STOOLS. J. INFECT. DIS.: 481-482, 1984.
- (8) CHAN F.I.H., A.M.R. MACKENZIE. ENRICHMENT MEDIUM AND CONTROL SYSTEM FOR ISOLATION OF CAMPYLOBACTER FETUS SUBSP. JEJUNI FROM STOOLS. J. CLIN MICROB. 15: 12-15, 1982.

- (9) FOX J.G. AND S. ZANOTTI. THE HAMSTER AS A RESERVOIR OF CAMPYLOBACTER FETUS SUBSP. JEJUNI. J. INFECT. DIS. 143(6): 856, 1981.
- (10) HERBERT G.A., D.G. HOLLIS, R.E. WEAVER, ET AL. 30 YEARS OF CAMPYLOBACTER: BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS AND A BIOTYPING PROPOSAL FOR -- CAMPYLOBACTER JEJUNI. J. CLIN. MICROB. 15(6): 1065-1073, 1982.
- (11) HUDSON P.J., R.L. VOGT, J. BRONDOUN AND C.M. PATTON. ISOLATION OF CAMPYLOBACTER JEJUNI FROM MILK DURING AN OUTBREAK OF CAMPYLOBACTERIOSIS. J. INFEC. DIS. 150 (5): 789, 1984.
- (12) INFORME EPIDEMIOLÓGICO ACTUAL 1978. SALUD PÚBLICA DE MÉXICO V: XXI: 5, SEPT-OCT., 1979 p. 621-660.
- (13) KAPLAN R.L. CAMPYLOBACTER, IN MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 3A. - ED. AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, D.C. 1980, P. - 235-241.
- (14) KARMALI M.A. AND P.C. FLEMING. CAMPYLOBACTER ENTERITIS IN CHILDREN. J. PED. 94 (4): 527-533, 1979.
- (15) KARMALI M.A. AND P.C. FLEMING. APPLICATION OF THE FORTNER PRINCIPLE TO ISOLATION OF CAMPYLOBACTER FROM STOOLS. J. CLIN. MICROB. 10 (2): 245-247, 1979.
- (16) KARMALI M.A., M. KOSOY, A. NEWMAN, M. TISCHLER, J.L. PENNER. REINFECTION WITH CAMPYLOBACTER JEJUNI. THE LANCET, Nov. 14: 1104, 1981.
- (17) KLIPSTEIN F.A. AND R.F. ENGERT. PROPERTIES OF CRUDE CAMPYLOBACTER JEJUNI HEAT-LABILE ENTEROTOXIN. INFECT. IMMUN. 45 (2): 314-319, - 1984.

- (18) LIOR, H. NEW EXTENDED BIOTYPING SCHEME FOR CAMPYLOBACTER JEJUNI, -
CAMPYLOBACTER COLI AND "CAMPYLOBACTER LARIDIS". J. CLIN. MICROB. -
20 (4): 636-640, 1984.
- (19) LIOR, H., D.L. WOODWARD, J.A. EDGAR, L.J. LAROCHE AND P. GILL. SE-
ROTYPING OF CAMPYLOBACTER JEJUNI BY SLIDE AGGLUTINATION BASED ON -
HEAT-LABILE ANTIGENIC FACTORS. J. CLIN. MICROB. 15: 761-768, 1982.
- (20) LIOR H., D.L. WOODWARD, J.A. EDGAR, L.J. LAROCHE. SEROTYPING BY -
SLIDE AGGLUTINATION OF CAMPYLOBACTER JEJUNI AND EPIDEMIOLOGY. THE
LANCET Nov. 14: 1103, 1981.
- (21) LUECHTEFELD W.N., L.B. RELLER, M.J. BLASER AND W.L. WANG. COMPARI-
SON OF ATMOSPHERES OF INCUBATION FOR PRIMARY ISOLATION OF CAMPYLO-
BACTER FETUS SUBSP. JEJUNI FOR ANIMAL SPECIMENS: 5% OXYGEN VERSUS
CANDLE JAR. J. CLIN. MICROB. 15 (1): 53-57, 1982.
- (22) LUECHTEFELD W.N. AND W.L. WANG. HIPPURATE HYDROLISIS BY AND TRIPHE
NYL TETRAZOLIUM TOLERANCE OF CAMPYLOBACTER FETUS. J. CLIN. MICROB.
15 (1): 137-140, 1982.
- (23) MAC FADDIN, J.F. BIOCHEMICAL TEST FOR IDENTIFICATION OF MEDICAL --
BACTERIA 2da. ED. 1980. ED. WILLIAMS AND WILKINS, BALTIMORE. LON
DON P. 94-104. 141-152.
- (24) MEHLMAN J.I. SUMMARY INFORMATION ON CAMPYLOBACTER SPECIES. BUREAU
OF FOODS, FDA, WASHINGTON, D.C.
- (25) MORALES DE LA VEGA A. (TESIS) AISLAMIENTO DE CAMPYLOBACTER FETUS
SSP. JEJUNI DE PACIENTES CON SÍNDROME DIARREICO DEL HOSPITAL GENE-
RAL DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL DEL IMSS, 1983, U. VERACRUZANA, --
XALAPA, VER.

- (26) OLARTE J. AND G.I. PÉREZ. CAMPYLOBACTER JEJUNI IN CHILDREN WITH -- DIARRHEA IN MEXICO CITY. PED. INFECT. DIS. 2 (1): 18-20, 1983.
- (27) OLARTE, J. DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO, EN "ENFERMEDADES DIARREICAS EN EL NIÑO", 7A. ED. ED. MÉDICAS HIM, MÉXICO, 1981, 57, 87, - - 130-132.
- (28) PAI C.H., S. SORGER, L. LACKMAN, R.E. SINAI AND M.I. MARKS. CAMPYLOBACTER GASTROENTERITIS IN CHILDREN; IN, BRIEF CLINICAL AND LABORATORY OBSERVATIONS. J. PED. 94 (4): 589-591, 1979.
- (29) PAISLEY W.J., S. MIRRET, B.A. LAUER, M. ROE AND L.B. RELLER. DARK FIELD MICROSCOPY OF HUMAN FECES FOR PRESUMPTIVE DIAGNOSIS OF CAMPYLOBACTER FETUS SUBSP. JEJUNI ENTERITIS. J. CLIN MICROB. 15 (1): - 61-63, 1982.
- (30) PARK H.C., D.L. HIXON, A.S. POLHEMUS, C.B. FERGUSON, S.L. HALL ET. AL J. A RAPID DIAGNOSIS OF CAMPYLOBACTER ENTERITIS BY DIRECT SMEAR EXAMINATION AMER. J. CLIN PATH. 80: 388-390, 1983.
- (31) PENNER J.L., J.N. HENNESSY, R.B. CONGI. SEROTYPING OF CAMPYLOBACTER JEJUNI AND CAMPYLOBACTER COLI ON THE BASIS OF THERMOSTABLE ANTIGENS. EUR. J. MICROB. 2 (4): 378-383, 1983.
- (32) RETTING J.P. CAMPYLOBACTER INFECTIONS IN HUMAN BEINGS. J. PED. 94 (6): 855-864, 1979.
- (33) RUBIN S.J. AND M. WOODWARD. ECHANCED ISOLATION OF CAMPYLOBACTER - JEJUNI BY COLD ENRICHMENT IN CAMPY-THIO BROTH. J. CLIN. MICROB. - 18 (4): 1008-1010, 1983.

- (34) Ruíz P.G., E. ESCAMILLA AND N. TORRES. EXPERIMENTAL CAMPYLOBACTER DIARRHEA IN CHICKENS. *INFECT. IMMUN.* 34 (1): 250-255, 1981.
- (35) SMIBERT R.M. THE GENUS CAMPYLOBACTER. *ANN. REV. MICROB.* 32: - - 673-709, 1978.
- (36) SKIRROW M.B. CAMPYLOBACTER ENTERITIS: A "NEW" DISEASE. *BRITISH MED. J.* 2: 9-11, 1977.
- (37) SKIRROW M.B. AND J. BENJAMIN. "1001" CAMPYLOBACTER: CULTURAL CHARACTERISTICS OF INTESTINAL CAMPYLOBACTERS FROM MAN AND ANIMALS. -- *J. HYG. CAMB.* 85: 427-442, 1980.
- (38) SPELMAUG R.D., M. J. GILCHRIST AND J.A. WASHINGTON II. BACTERICIDAL ACTIVITY OF ANTIBIOTICS AGAINST CAMPYLOBACTER FETUS SUBSPECIES INTESTINALIS. *J. INFECT. DIS.* 143 (3): 500, 1981.
- (39) STERN J.N. CAMPYLOBACTER FETUS SSP. JEJUNI: RECOVERY METHODOLOGY AND ISOLATION FROM LAMB CARCASSES. *J. FOOD. SC.* 46 (2): 660-661, 1981.
- (40) THOMPSON S.J., F.E., CAHOON AND D.S. HODGE. RATE OF CAMPYLOBACTER SPP. ISOLATION IN THREE REGIONS OF ONTARIO, CANADA, FROM 1978 TO - 1985. *J. CLIN. MICROB.* 24 (5): 876-878, 1986.
- (41) TOTTEN A.P., F.C. TENOUER, P.L. PERINE AND K.K. HOLMES. CAMPYLOBACTER CINAEDI (SP. NOV.) AND CAMPYLOBACTER FENNELIAE (SP. NOV.) TWO NEW CAMPYLOBACTER SPECIES ASSOCIATED WITH ENTERIC DISEASE IN HOMOSEXUAL ME. *J. INFECT. DIS.* 15 (1): 131-139, 1985.

- (42) WANG L.W., N.W. LUECHTEFELD, L.B. RELLER AND M.J. BLASER. ENRICHED BRUCELLA MEDIUM FOR STORAGE AND TRANSPORT OF CULTURES OF CAMPYLOBACTER FETUS SSP. JEJUNI. J. CLIN. MICROB. 12 (3): 479-480, 1980.
- (43) WANG L.W., N.W. LUECHTEFELD, M.J. BLASER AND L.B. RELLER. COMPARISON OF CAMPY PAK II WITH STANDARD 5% OXYGEN AND CANDLE JARS FOR GROWTH OF CAMPYLOBACTER JEJUNI FROM HUMAN FECES. J. CLIN. MICROB. 16 (2): 291-294, 1982.
- (44) WANG, L.W., L.B. RELLER AND M.J. BLASER. COMPARISON OF ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PATTERNS OF CAMPYLOBACTER JEJUNI AND CAMPYLOBACTER COLI. ANTIMIC B. AGENTS AND CHEMOTHERAPY 26 (3): 351-353, - 1984.
- (45) WATSON A.L. AND J.L. BROOKS. CAMPYLOBACTER ENTERITIS AND YERSINIA ENTEROCOLITICA INFECTION IN NEW ZEALAND. N.Z. MED. J. 90: 240-242, 1979.
- (46) WHO SCIENTIFIC WORKING GROUP ON EPIDEMIOLOGY AND ETIOLOGY, ENTERIC INFECTIONS DUE TO CAMPYLOBACTER, YERSINIA, SALMONELLA AND SHIGELLA. BULLETIN OF THE WORLD HEALTH ORGANIZATION MONDIALI DE LA SANTÉ. -- GENEVA, 14-16 Nov. 1979.

APENDICE

MEDIO DE CULTIVO SELECTIVO PARA CAMPYLOBACTER Y MÉTODO DE SKIRROW (MODIFICADO)

- 1.- POLIMIXINA B (SULFATO DE)..... 2.5 MG/10 ML. DE AGUA DEST. ESTÉRIL. DE LA SOLUCIÓN SE TOMAN 0.25 ML. POR CADA 100 ML. DE MEDIO.
- 2.- VANCOMICINA..... 10 MG/10 ML. DE AGUA DEST. ESTÉRIL. TOMAR 1 ML. DE LA SOLUCIÓN POR CADA 100 ML. DE MEDIO.
- 3.- CEFOPERAZONA..... 15 MG/10 ML. DE AGUA DEST. ESTÉRIL. TOMAR 0.25 ML. DE LA SOLUCIÓN POR CADA 100 ML. DE MEDIO.
- 3.- TRIMETOPRIM..... 10 MG/5 ML. DE METANOL ABSOLUTO. - TOMAR 0.25 ML. POR CADA 100 ML. DE MEDIO.

BASE DE AGAR SANGRE (BBL) 4 G. POR CADA 100 ML.

SANGRE DE CARNERO DESFIBRINADA 10 ML. POR CADA 100 ML. AGUA DESTILADA.

SE MEZCLAN LOS ANTIBIÓTICOS ASÉPTICAMENTE Y EN EL ORDEN QUE SE INDICA; LA MEZCLA DE ANTIBIÓTICOS Y LA SANGRE SE LE ADICIONAN AL MEDIO DE LA BASE DE AGAR CUANDO ÉSTE ÚLTIMO ESTÉ YA AUTOCLAVEADO Y TIENE UNA TEMPERATURA NO MAYOR DE --- 45°C.

MEDIO DE MUELLER HINTON CON SANGRE (PARA RESEMBRAR CAMPYLOBACTER SP.).

AGAR DE MUELLER-HINTON (OXOID)..... 3.8 G/100 ML.

SANGRE DE CARNERO DESFIBRINADA..... 5 ML./100 ML. MEDIO

AGUA DESTILADA..... 100 ML.

EL MEDIO DEL AGAR SE DISUELVE EN AGUA, SE ESTERILIZA EN AUTOCLAVE, A 15 --- LB./PG² DE PRESIÓN, 121°C POR ESPACIO DE 15 MINUTOS. SE DEJA ENFRIAR HASTA - ALCANZAR UNA TEMPERATURA DE 45°C Y ENTONCES SE ADICIONA LA SANGRE DE CARNERO --- (5%), SE INCORPORA Y SE MEZCLA BIEN CON AGITACIÓN MANUAL; SE SIRVE EN CAJAS DE PETRI Y SE DEJAN SOLIDIFICAR A TEMPERATURA AMBIENTE; SE CONSERVAN EN REFRIGERACIÓN (4-8°C) HASTA EL MOMENTO DE SU USO.

MEDIO DE CONSERVACIÓN PARA CAMPYLOBACTERIAS.

CALDO BRUCCELLA (GIBCO)..... 2.8 G.
GLICEROL (BAKER)..... 15 ML.
AGUA DESTILADA..... 85 ML.

UNA VEZ HECHA LA MEZCLA SE AGREGAN EN PORCIONES DE 10 ML. EN TUBOS CON ROSCA Y SE ESTERILIZAN A 121°C CON 15 LB./PG² DE PRESIÓN POR 15 MINUTOS. DEJAR EN FRIAR A TEMPERATURA AMBIENTE Y SE GUARDA EN REFRIGERACIÓN HASTA SER USADAS.

MEDIO DE TRANSPORTE PARA CAMPYLOBACTERIAS.

WILKINS-CHALGREN ANAEROBE BROTH (OXOID)..... 3.3g/100 ML.
BACTO-AGAR (OXOID)..... 0.5g/100 ML.
SANGRE DE CARNERO DESFIBRINADA..... 5 ML./100 ML.
AGUA DESTILADA..... 100 ML.

PREPARAR EL MEDIO Y ADICIONAR A 0.5% DE AGAR; AUTOCLAVEAR Y DEJAR ENFRIAR - HATA 45°C, AGREGAR 5% P/V DE SANGRE DE CARNERO DESFIBRINADA. MEZCLAR Y SERVIR EN VIALES DE 5 ML. DE CAPACIDAD Y DE PLÁSTICO, UNA CANTIDAD DE 4 ML. DEJAR ENFRIAR EN POSICIÓN VERTICAL, REFRIGERAR HASTA SU USO.

MEDIO PARA LA PRUEBA DE LA HIDRÓLISIS DEL ADN

MEDIO DE AGAR DNAasa (DIFCO).....	4.2g./100 mL.
VERDE DE METILO (FISCHER) AL 0.5%.....	1.35 mL.
AGUA DESTILADA.....	100 mL.

PREPARAR EL AGAR DNAasa DE ACUERDO A LAS INSTRUCCIONES Y ADICIONAR 1.35 ML. DE UNA SOLUCIÓN ACUOSA AL 0.5% P/V DE VERDE DE METILO POR CADA 100 ML. DEL MEDIO DE AGAR. ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE, VACIAR APROXIMADAMENTE 25 ML. A CADA CAJA DE PETRI.

PREPARACIÓN DEL VERDE DE METILO:

PESAR 0.5 G. DE VERDE DE METILO Y DISOLVERLO EN 100 ML. DE AGUA DESTILADA Y LAVAR DE 3 A 5 VECES CON CLOROFORMO HATA QUE ÉSTE APAREZCA INCOLORO.

MEDIO FBP, MODIFICADO PARA LA PRUEBA RÁPIDA DE PRODUCCIÓN DE H₂S.

BASE A: CALDO BRUCCELLA (GIBCO).....	2.9 g.
FOSFATO DE SODIO DIBÁSICO.....	0.118 g.
FOSFATO DE POTASIO MONOBÁSICO.....	0.025 g.
AGAR (OXOID).....	0.2 g.
AGUA DESTILADA.....	97 mL.

ESTERILIZAR POR 15 MINUTOS A 15 LBS./PG² Y DEJAR ENFRIAR A 45°C.

PREPARAR LAS SIGUIENTES SOLUCIONES POR SEPARADO CON AGUA DESTILADA Y ESTERILIZAR POR FILTRACIÓN:

SOLUCIÓN B SULFATO FERROSO 7 H ₂ O.....	10%
SOLUCIÓN C METABISULFITO DE SODIO.....	10%
SOLUCIÓN D PIRUVATO DE SODIO.....	10%

ADICIONAR ASÉPTICAMENTE 1 ML. DE SOLUCIÓN B A 1 ML. DE SOLUCIÓN C, MEZCLAR BIEN Y ADICIONARSE A 1 ML. DE SOLUCIÓN D. TODO SE MEZCLA BIEN Y ENTONCES SE ADICIONA LENTAMENTE AL MEDIO DE BASE A. SE AJUSTA EL PH A 7.3. SE DISTRIBUYE EL MEDIO EN TUBOS DE 13 X 100 CON TAPÓN DE ROSCA, 3 ML. A CADA TUBO. SE PREPARA EL MEDIO CADA 2 SEMANAS.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DNASA (10 MG./VIAL) (DNASA DE PÁNCREAS DE BOVINO, GRADO II CAT. No. 104 159) (EC 3.1.21.1) BOEHRINGER MANNHEIM, GERMANY.

PREPARAR LA SOLUCIÓN DNASA PBS 0.1% EN LA SIGUIENTE FORMA:

ASÉPTICAMENTE AÑADIR 10 ML. DE SOLUCIÓN DE PBS AL FRASCO VIAL QUE CONTIENE DNASA (10 MG.), SUSPENDER Y DISOLVERLA COMPLETAMENTE. POSTERIORMENTE ALICUOTAR EN TUBOS DE VIDRIO 1 ML. C/U Y CONGELAR.

SOLUCIÓN DE TRABAJO:

DESCONGELAR UNO DE LOS TUBOS Y AÑADIRLE 4 ML. DE SOLUCIÓN DE PBS ALICUOTAR EN TUBOS DE VIDRIO UNA CANTIDAD DE 0.5 ML., LOS TUBOS QUE NO SE UTILICEN DEBERÁN GUARDARSE EN CONGELACIÓN.