



2 2ej
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTITLAN

FRECUENCIA DE Campylobacter fetus subespecie jejuni, AISLADO E IDENTIFICADO A PARTIR DE HECES DE NIÑOS MENORES DE 7 AÑOS, QUE ASISTIERON AL HOSPITAL CENTRAL DE PETROLEOS MEXICANOS ATZCAPOTZALCO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A
MARIA DEL CARMEN AMEZCUA ROSALES

DIRECTOR DE LA TESIS:
PATOLOGO CLINICO ANDRES PEREZ GUERRERO

COASESOR DE LA TESIS:
D. F. B. MARIA DE LOURDES QUINTVEROS CORPUS



V N A M

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1990

PALLA DE ORIGEN



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 esta 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

	Páginas
INTRODUCCION.....	II
I HISTORIA.....	1
II GENERALIDADES.....	4
II.1 ANTECEDENTES DE AISLAMIENTO.....	10
II.2 PATOGENICIDAD.....	11
II.3 HALLAZGOS CLINICOS.....	12
II.4 TRANSMISION.....	13
II.5 DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.....	14
II.6 SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIOTICOS.....	16
II.7 TRATAMIENTO.....	16
III OBJETIVOS.....	17
IV MATERIAL Y METODO.....	18
IV.1 EXAMEN BACTERIOLOGICO.....	20
V RESULTADOS.....	25
VI DISCUSION DE RESULTADOS.....	27
CONCLUSIONES.....	29
BIBLIOGRAFIA.....	31

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

Como es bien sabido por los Profesionales de la Salud y por la población en general, las gastroenteritis y las enfermedades diarreicas agudas persisten como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, constituyendo en la actualidad uno de los principales problemas de Salud Pública en los Países en vías de desarrollo. (20)

Estudios realizados por la Secretaria de Salud han demostrado que las enfermedades gastrointestinales en México tienen un elevado índice de mortalidad, haciéndose por Ley la notificación de casos y número de muertes por cualquier microorganismo causante de la misma. Este elevado índice se encuentra ampliamente ligado a factores SOCIALES y ECONOMICOS y es por ello que son motivo de múltiples estudios epidemiológicos. Datos provenientes de la Organización Mundial de Salud, indicaron que el período comprendido entre 1968 y 1970, se observaron tasas de mortalidad de 140 a 200 defunciones por 100,000 habitantes en países como Honduras, El Salvador y México. Se calcula que en 1975, en Asia, Africa y Latino América murieron por diarrea entre 5 y 18 millones de niños menores de 5 años . Si bien la diarrea es mortal con más frecuencia en los niños de corta edad, también constituye una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en niños y adultos de todas las edades. En los últimos 45 años las tasas de mortalidad más elevadas se han presentado en los niños menores de un año con porcentajes del 50 al 55 % del total de defunciones por diarrea, mien-

tras que en el grupo de 1 a 4 años las cifras han sido del 20 al 25 % y en los niños mayores de 5 años entre 20 y 30 %. (5,29,35)

Las diarreas se encuentran asociadas en la mayoría de los casos con agentes bacterianos, aunque también se han encontrado involucrados agentes virales en un elevado porcentaje, así como agentes parasitarios, pero en un porcentaje menor, así mismo agentes micóticos, etc. Entre los microorganismos bacterianos que se han aislado e identificado como posibles causantes de diarrea en los niños de la Ciudad de México son algunos de la familia Enterobacteriaceae como son : Escherichia coli (algunos de sus serotipos denominados enteropatógenos son capaces de causar gastroenteritis principalmente en lactantes), algunas especies de Shigella, Salmonella y Yersinia. Diferentes investigadores han señalado la presencia de nuevos agentes bacterianos productores de diarrea en humanos, como agentes patógenos, como es el caso de Campylobacter jejuni, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica, Vibrio cholerae, etc. (29)

Un reconocido agente enteropatógeno como posible causante de diarreas en el hombre es Campylobacter jejuni, teniendo un origen zoonótico. La prevalencia de éste agente en pacientes que sufren diarrea aguda, varía según el País, las características geográficas y el desarrollo socioeconómico de su población. Los estudios de Campylobacter jejuni han demostrado altas tasas de prevalencia, que en algunas poblaciones de Sudáfrica son cercanas al 40 %, en cambio en países desarrollados fluctúa alrededor del 5 %. Investigaciones realizadas en Canadá, Estados Unidos de América, Holanda, e Inglaterra, lo hacen responsable de entre el 5 y 14 % de las díg

reos. En México en esta materia, existen escasos reportes que revelan niveles de entre 2.3 % hasta el 17 % de aislamientos en casos de niños con diarrea y del 1 al 4 % de aislamientos en casos de niños sin diarrea. (3,9,14,21,31,32)

La enteritis por Campylobacter semeja a otras diarreas bacterianas agudas, en particular la Disentería por Shigella. (22)

Numerosas especies animales han sido comprobadas como portadoras de Campylobacter jejuni, y varias de ellas han sido relacionadas con brotes de campilobacteriosis en el hombre, generalmente éstos hallazgos han sido asociados al consumo de alimentos contaminados de origen animal, carnes, agua y leche. El ciclo corto de contaminación fecal-oral parece ser menos importante, sin embargo se conocen algunos casos de enfermedad diarreica por contacto directo con animales contaminados. (13)

Los antecedentes con respecto al descubrimiento del Campylobacter jejuni como un enteropatógeno, así como el grado de dificultad para su aislamiento fué motivo de estudio para investigar la frecuencia del mismo en una población infantil tomada al "azar", que presentaba o no problemas diarreicos en el momento de la toma.

I. H I S T O R I A

Aproximadamente desde hace tres décadas diversas investigaciones han revelado la presencia de campilobacteriosis en humanos y en animales.

En 1909 y 1911 Stockman y Mc. Padyean (2) describen en Gran Bretaña los abortos "espirales" o "vibrionáceos", epizootias de las ovejas y esporádicamente en las vacas, y describen también el agente infeccioso causal. En 1918 Smith en Estados Unidos, aísla estos microorganismos de fetos bovinos abortados, encontrando el género al que denomina Vibrio fetus. (5)

Smith y Orccutt en 1927 (5), 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. Fué en 1940 el más significativo desarrollo de la asociación de los vibrios microaerofílicos con enfermedades humanas. Levy en 1946, describió una gran variedad de personas con gastroenteritis, siendo aislados vibrios microaerofílicos de cultivos y en frotis de evacuaciones, identificandolos como Vibrio jejuni. Vinzent y col. en 1947 (2), reportan 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.

Elizabeth King, en 1957 (5), describió varios casos de diarrea en humanos ocasionados por unos microorganismos a los que denominó

"vibrios relativos", siendo estos aislados de niños recién nacidos y de niños con diarrea a partir de cultivos de sangre. King llamo la atención sobre las diferencias en temperatura a que crecen estas bacterias, siendo ella la primera en realizar estudios más detallados de dichas cepas de origen humano, sugiriendo que estos "vibrios relativos", son idénticos a los Vibrio jejuni definidos por Jones en 1931 y por Levy en 1946. (2,5)

Ya en 1966, se conocían aproximadamente 34 casos de campilobacteriosis y en 1970, 74 casos referidos a todos los grupos de edad y a diferentes patologías (endocarditis, meningitis, sepsis neonatal, etc.). (9,26)

En 1972 hubo un avance significativo cuando en Europa Dekeyser y col., usando una técnica de filtración para coprocultivo así como un medio selectivo, aislaron por primera vez el denominado Campylobacter jejuni de las heces de 2 enfermos que padecieron de gastroenteritis. Para el año 1973 Butzler y asociados, empleando técnicas similares, reportan un 6 % de incidencia en pacientes con diarrea y un 2 % en pacientes sin diarrea por Campylobacter jejuni. (5)

En 1975 Skirrow (9) llamó a la campilobacteriosis intestinal una "nueva enfermedad" y en México, Olarte cita a Campylobacter jejuni como un nuevo agente bacteriano en la etiología de las diarreas. Skirrow así mismo en 1977 informó tras haber realizado coprocultivos de materias fecales no filtradas y usando un medio selectivo que contenía 3 antibióticos, que un 7.1 % de 803 pacientes con gastroenteritis eran positivos a Campylobacter jejuni. (2,21)

En Inglaterra, en 1978 se reportaron 161 casos de diarrea aguda en menores de un año por Campylobacter jejuni. En los últimos 10 años se ha encontrado un incremento en las observaciones en cuanto a enfermedades producidas en humanos , debido a Campylobacter jejuni, gracias al desarrollo de nuevas técnicas selectivas de aislamiento y de medios de cultivo específicos.

II. GENERALIDADES

Veron y Chatelain en 1973 (21) propusieron la transferencia de los vibrios microaerofilicos del género *Campylobacter* (*campylo - curvo*, bacter - vara) a la familia de los Spirillaceae; ya que anteriormente estaban incluidos dentro de la familia Vibrionaceae. Entre las razones más importantes para la transferencia están las siguientes : los verdaderos vibrios son anaerobios facultativos, producen ácido a partir de los hidratos de carbono, tienen un metabolismo fermentativo y contenido de guanina - citocina de 40 a 53 moles por ciento, en cambio las cepas de *Campylobacter* son microaerofilicas o anaerobias, no producen ácido a partir de los carbohidratos, tienen un contenido de guanina - citocina de 20 a 36 moles por ciento, no tienen metabolismo fermentativo. (5,21)

Campylobacter ha sido aislado de la boca y del tracto genital femenino en los seres humanos, y desarrolla también en el tracto intestinal y vesícula, tanto de los hombres como de los animales. Ha sido recuperado en hemocultivos de pacientes con septicemias o endocarditis y en deposiciones disentéricas, generalmente de individuos que han estado en contacto directo con ganado vacuno u ovino. (1,7,8,15,17)

Actualmente la clasificación de especies del género *Campylobacter* que tiene mayor aceptación es la del Manual Bergey que en su 9ª edición (1984) enumera 5 especies, las cuales se dividen a la vez en catalasa positiva y catalasa negativa:

I. Microorganismos catalasa positiva.

1.- Campylobacter fetus.

a) Campylobacter fetus subespecie fetus (de importancia médica): causante de abortos en ovejas, esporádicamente en ganado vacuno y en casos de infecciones en humanos. Crece en el contenido intestinal y vesícula biliar del hombre y de los animales, se transmite por vía oral.

b) Campylobacter fetus subespecie venerealis: agente causal de abortos e infertilidad en el ganado vacuno, se aísla de moco cervico vaginal, semen y prepucio de animales infectados. No existen reportes de infecciones en humanos, la vía de transmisión es venérea.

2.- Campylobacter jejuni (de importancia médica): reconocido como agente importante de gastroenteritis infecciosa en humanos en todo el mundo. Causante también de abortos en bovinos; infecta el tracto intestinal de ovinos, bovinos, caprinos, porcinos, aves silvestres y humanos. Debido a la introducción de medios de cultivos selectivo que han favorecido su aislamiento de muestras de heces se ha podido conocer su frecuencia de aislamiento.

3.- Campylobacter coli (de importancia médica): aislado del tracto intestinal de cerdos, pollos y del hombre, puede ser patógeno para el mismo.

II. Microorganismos catalasa negativa.

1.- Campylobacter sputorum.

- a) Campylobacter sputorum subespecie sputorum: se encuentra como flora en las grietas de las encías de los humanos.
- b) Campylobacter sputorum subespecie hubulus: aislado de semen y moco vaginal de ovejas y ganado vacuno sano.
- c) Campylobacter sputorum subespecie mucosalis: produce adenomatosis intestinal y enteritis necrótica en cerdos.

2.- Campylobacter concisus: no se considera patógeno, se aísla de gingivitis, periodontitis, etc., de humanos. (21,28)

El género Campylobacter está clasificado dentro de la familia Spirillaceae, son pequeños bacilos curvos gram negativos, delgados, no esporulados, de 1.5 a 5 μ m de largo por 0.2 a 0.5 μ m de ancho, para su aislamiento primario requieren de un medio enriquecido como caldo tripteína soya con uso de antibióticos como inhibidores (vancomicina, polimixina B y trimetoprim). Es esencial para su desarrollo una concentración de dióxido de carbono de 5 a 10 % y de oxígeno de 3 a 15 %. Su temperatura de crecimiento varía de 25°C a 43°C aunque puede crecer a 37°C. (2,6,16)

El desarrollo a diferentes temperaturas ha sido empleado como una prueba para diferenciar las especies, ya que Campylobacter jejuni crece a 43°C pero no a 25°C, mientras que las otras dos subespecies no. Los vibrios relacionados con King crecen a 42°C pero no a 25°C. Unas cuantas cepas de Campylobacter jejuni han sido re-

portadas que crecen a ambas temperaturas, pero estas cepas son consideradas subespecie intestinalis. (21)

Al microscopio Campylobacter jejuni se observa en forma de espiral, "S", ó de ala de gaviota. En cultivos viejos presenta formas cocobaciloides, que aparecen en cadenas con 3 a 5 espirales, el microorganismo lleva un flagelo polar en uno o ambos extremos. Con el microscopio de contraste de fase en el exámen en fresco puede demostrarse su característica y rápida movilidad en forma lineal o en sacacorcho. Se incuba a una temperatura ideal de 42°C a 43°C, no utiliza carbohidratos, produce H₂S que se observa con tiras de papel filtro impregnadas con acetato de plomo, es oxidasa y catalasa positivo, no produce pigmento, reduce nitratos a nitritos, las pruebas de Voges Proskauer y Rojo de Metilo son negativas, es un microorganismo esencialmente *i n e r t e* desde el punto de vista bioquímico, por tanto existen pocas pruebas bioquímicas para la diferenciación de las especies. (ver cuadro 1). Aparte de las pruebas antes mencionadas una característica para diferenciar Campylobacter jejuni de otras especies que no son de interés médico es la sensibilidad que presenta éste a altas concentraciones de ácido nalidíxico (30 µg) ya que las demás especies son resistentes así como su resistencia a la cefalotina. (ver cuadro 2) (5,11,23, 26,29)

Los cultivos de Campylobacter jejuni presentan colonias que se asemejan a "pequeñas gotas de rocío" y que tienen la característica de crecer siempre en la dirección de la estría. Algunos autores han observado en aislamientos primarios que las colonias son peque

CUADRO Nº 1

CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE ESPECIES DE Campylobacter
DE INTERES MEDICO

ESPECIE	Crecimiento					Reacciones bioquímicas					
	25 °C	36 °C	42 °C	glicina 1%	NaCl 35%	oxidasa	catalasa	No ₃ red.	H ₂ S (TSI)	H ₂ S (tiras con acetato de plomo)	Hidrólisis de hipurato
<u>C. jejuni</u>	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
<u>C. coli</u>	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
<u>C. fetus sub. fetus</u>	+	+	d	+	-	+	+	+	-	d	-

(26)

d: 11-89% de las cepas son positivas (resultado variable).

C U A D R O N º 2

PRUEBAS DIFERENCIALES PARA EL GENERO Campylobacter

	catalasa	oxidasa	Crecimiento						inhib.		prod. H ₂ S		hidrólisis de hipurato
			25 °C	36 °C	42 °C	glicina al 1%	NaCl al 3%	* ácido nalidixic	* cefalotina	TSI	acetato de plomo		
<u>C. jejuni</u>	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	
<u>C. coli</u>	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	
<u>C. fetus</u>													
<u>C. sub. fetus</u>	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	V	+	
<u>C. sub. venerealis</u>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	V	-	
<u>C. sputorum</u>													
<u>C. sub. sputorum</u>	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	
<u>C. sub. bubulus</u>	-	+	V	+	-	+	+	V	+	+	+	-	
<u>C. sub. mucosalis</u>	-	+	-	+	+	-	-	V	+	+	+	-	
<u>C. concisus</u>	-	+	-	+	-	-	-	-	?	+	+	-	

(8)

V: Algunas cepas son positivas y otras negativas.

?: No se sabe.

*: Sensidiscos de 30 µg

mas (0.5-1.0 μ m) y que su aspecto varía de formas lisas a rugosas, planas o levemente elevadas, y de color blanco o cremoso, la mayoría son no hemolíticas aunque se han presentado colonias poco hemolíticas. Con el tiempo de incubación las colonias lisas se hacen mucoides. El subcultivo puede producir colonias de "vidrio tallado con facetas reflejas. El cultivo en caldo muestra siempre enturbamiento con depósitos pulverulentos. (6,10,16,18,19,24,30,33)

Las cepas tipo de las especies de *Campylobacter* pueden ser almacenadas durante años por procesos de liofilización, congelación a -80°C o en nitrógeno líquido. (21)

Debido a su lento crecimiento, medio de cultivo selectivo para su desarrollo, y sus requerimientos de microaerofilia, las enteritis por *Campylobacter jejuni* se diagnosticaban inicialmente en forma ocasional. Actualmente estudios en países desarrollados y subdesarrollados reportan que aumentan los casos de enteritis por esta bacteria, principalmente en muestras con diarrea, y que en ocasiones el porcentaje de aislamiento es mayor que el de los microorganismos clásicos como *Shigella* y *Salmonella*.

En las enteritis por *Campylobacter jejuni* la susceptibilidad de la población es general, no hay diferencia en sexo ni edad; sin embargo, la alta incidencia es en los primeros meses de vida y en niños de 1 a 4 años de edad. (21)

II.1 Antecedentes de aislamientos

A pesar de que *Campylobacter jejuni* presenta una distribución mundial, en México son pocos los hospitales que lo han podido ais-

lar e identificar. Entre los hospitales que han aislado el microorganismo se encuentran el Hospital Infantil de México de la Secretaría de Salud (S.S.), el Instituto Nacional de Nutrición, la Unidad de Pediatría del Hospital General de México de la S.S., el Hospital General Centro Médico la Raza del Instituto Mexicano del Seguro Social, etc.

En el Hospital Central de Petróleos Mexicanos de Atzacapotzalco se ha tenido la inquietud de estudiar e investigar el microorganismo pero aún no se cuenta con suficientes datos estadísticos.

II.2 Patogenicidad

Existen datos sobre los mecanismos de patogenicidad que participan en la infección por *Campylobacter*, aparentemente uno de ellos es la invasividad por el hecho de que en las muestras fecales se observa la presencia de moco y sangre, además de observarse por medio del sigmoidoscopio, congestión y edema en la mucosa intestinal, presentándose esto en el 20 ó 30 % de pacientes con enteritis. Esta invasividad posiblemente se deba al flagelo que posee el *Campylobacter jejuni* ya que juega un importante papel en la colonización de la mucosa intestinal. El segundo mecanismo de patogenicidad puede ser la producción de una enterotoxina, debido a la observación de muestras diarreicas acuosas, solo que existen diferencias en los bioensayos para poner de manifiesto esta enterotoxina. (8)

Las observaciones histológicas y microbiológicas principalmente de muestras obtenidas de autopsias y de recto-sigmoidoscopia en

niños, indican que los órganos principalmente afectados son yeyuno e ileon. Se han mostrado hallazgos compatibles con colitis ulcerativa aguda o enfermedad de Crohn, estas referencias sugieren que Campylobacter jejuni puede también invadir la mucosa del colon. (6,17)

II.3 Hallazgos Clínicos

El padecimiento causado por Campylobacter jejuni se caracteriza por un período de incubación de 2 a 10 días, con malestar abdominal seguido de diarrea aguda durante varios días, generalmente con fiebre, la diarrea puede contener sangre o moco y generalmente no se presenta vómito ni deshidratación. En pacientes sin tratamiento antimicrobiano, el microorganismo puede encontrarse en heces durante muchas semanas con elevación de anticuerpos.

La enfermedad puede complicarse con colitis ulcerativa aguda, artritis reactiva, artritis séptica, meningitis o colecistitis entre otras.

En las diarreas agudas por Campylobacter jejuni los microorganismos son excretados por los pacientes durante la fase aguda de la enfermedad, que suele durar de 1 a 21 días, pero por lo general se resuelve en el término de una semana. La fase aguda de la enfermedad es seguida por un período de convalecencia que varía de una a tres semanas, lapso en el cual se sigue excretando el microorganismo. (9,29,34,35)

La fase aguda de la enfermedad y el período de convalecencia son los de mayor riesgo de transmisión de la infección y en estos

casos se pueden considerar a los portadores como un peligro para la salud pública.

Butzler fué el primero en confirmar la presencia de Campylobacter jejuni en portadores sanos, y recientemente en varias investigaciones realizadas en países desarrollados y subdesarrollados como la India, República de África Central, etc. se ha observado la presencia de Campylobacter jejuni en personas sanas, sin padecimiento alguno de diarrea. (21)

II.4 Transmisión

La vía más común de transmisión de la enfermedad es a través de contacto directo, particularmente con animales domésticos tales como perros, gatos, aves, etc. (4,12)

Varias epidemias han sido relacionadas con animales infectados y sus productos tales como: leche cruda, huevos, aves de consumo, aves congeladas, etc. (13)

Los reservorios de Campylobacter jejuni son ilimitados e incluyen bovinos, ovinos, porcinos, perros, gatos, equinos, roedores y aves. La prevalencia entre animales de fincas y animales domésticos es explicada por la gran abundancia de excrementos de pájaros salvajes. La contaminación del agua ha tenido implicaciones en tres grandes epidemias. La transmisión de la enfermedad de una persona a otra, particularmente entre niños y familiares, así como epidemias en pabellones de recién nacidos se ha debido a transmisión fecal oral. El verano es la estación del año en que se registran más casos de infecciones en climas templados. (4,12,13,16,17)

La infección también es adquirida por la actividad sexual anal-genital-oral.

Algunos autores hacen incapié en que debe tomarse en cuenta como agente etiológico en los cuadros diarreicos adquiridos en forma intrahospitalaria (cuando por algún motivo el cambio de camas no es frecuente, cuando el personal cuenta con pocas precauciones higiénicas, cuando hay camas contiguas, etc.) lo que postularía mejores bases epidemiológicas en el cuidado de estos pacientes. Por último, en el neonato se sugiere que la infección probablemente ocurra durante el paso por el canal de parto o bien por la ingestión de alimentos contaminados. (8,14,19,30)

Con los estudios de transmisión que se han realizado se ha llegado a afirmar que el microorganismo puede sobrevivir in-vitro a 37°C durante dos meses y también puede sobrevivir en las heces, leche, agua y orina. La leche no pasteurizada ha sido citada como fuente principal de infección en varios brotes infecciosos en humanos. (16)

II.5 Diagnóstico de Laboratorio

El diagnóstico para la campilobacteriosis se apoyará siempre en el cultivo de heces, ya sea de un hisopado rectal o bien de la materia fecal fresca, en caso de no ser posible se podrá emplear un medio de transporte como Cary Blair que es excelente para Campy-bacter jejuni. Además de emplear un medio selectivo como Campy-BAP o Butzler para procesar adecuadamente el espécimen. Si la muestra es líquida se inoculan varias gotas o con un hisopo rectal se

deposita en la placa y luego se estria de manera convencional para obtener colonias puras. Existen diferentes medios selectivos básicos disponibles comercialmente como son : el medio selectivo de Skirrow, Campy-BAP, el medio de Butzler, agar selectivo para *Campylobacter* ssp., etc. Alternativamente, las heces pueden ser pasadas a través de una serie de filtros con miliporos colocados unos encima de otros y la última cámara fijada con un filtro de 0.65 μ . Se inoculan de 3 a 5 gotas del filtrado en una placa con medio de cultivo no inhibitorio, como agar chocolate e incubada en una atmósfera microaerofílica a 42°C. Este procedimiento es embarazoso, y se realiza en un tiempo prolongado, por lo que no se recomienda para el uso rutinario de un laboratorio.

Los cultivos de *Campylobacter jejuni* deben ser incubados en una atmósfera que contenga 5 % de O₂ , 10 % de CO₂ y 85 % de N₂ debido a su naturaleza microaerofílica. Esta atmósfera es muy fácil de obtener en laboratorios equipados con jarras o incubadoras anaeróbicas y un cilindro de gas que contenga mezcla de gases apropiadas. También se pueden obtener buenos resultados con una jarra anaeróbica o bolsa plástica que emplea un sobre generador de gases. Actualmente existen varios sistemas para obtener condiciones microaerofílicas para el uso de laboratorios. Después de obtener una atmósfera adecuada, se recomienda incubar los coprocultivos a 42°C tan pronto como sea posible. (17)

Las técnicas especiales, incluyendo el uso de medio selectivo e incubación en una atmósfera microaerofílica a 42°C, son requeridas para una eficiente identificación. (17)

II.6 Sensibilidad a los antibióticos

Campylobacter jejuni se sabe que es sensible a los siguientes antibióticos: tetraciclinas, kanamicina, cloranfenicol, neomicina, furazolidona y eritromicina siendo este último el antibiótico de elección. El trimetoprim, la novobiocina, la polimixina B y las cefalosporinas, principalmente, son antibióticos que no son recomendados por la literatura para el tratamiento de la campilobacteriosis ya que el microorganismo presenta resistencia a ellos. (5, 18, 20, 22, 27, 34)

II.7 Tratamiento

Se ha concluido que la terapia apropiada ha abolido los signos clínicos y la excreción del organismo en las heces en la mayoría de los casos de diarrea por Campylobacter jejuni. Aunque es discutible el uso de agentes antimicrobianos en el tratamiento de las diarreas bacterianas producidas por Campylobacter, se sugiere que con solo una terapia de hidratación adecuada y atención cuidadosa al equilibrio de líquidos y electrolitos, el paciente sale avante. Las dosis que recomienda la literatura para la eritromicina, en el tratamiento de estas enteritis, es de 40mg/Kg por día, de 7 a 10 días. Otro medicamento que recomienda la literatura para el tratamiento de la enteritis es la gentamicina, a una dosis de 3 a 5 mg por kilogramo de peso por vía intramuscular o intravenosa cada 8 horas. Empleando el antibiótico de elección, aunado a una hidratación adecuada del paciente, el cuadro cede en las primeras 24 horas. (20, 21, 27, 32, 34)

III. O B J E T I V O S

En los problemas diarreicos en la actualidad ya es factible poder identificar un gran número de bacterias enteropatógenas no clásicas con ayuda tanto de medios selectivos como de técnicas adecuadas. Gracias a este avance y a la inquietud clínica, sobre el elevado índice de aislamiento de estos microorganismos, el objetivo de esta investigación es:

- 1.- Comprobar experimentalmente que Campylobacter jejuni es una bacteria difícil para su aislamiento e identificación y qué posibles factores intervienen para ello.
- 2.- Aislar e identificar de una manera selectiva Campylobacter jejuni de heces de niños menores de 7 años con y sin problemas diarreicos.
- 3.- Saber la frecuencia de Campylobacter jejuni en la población infantil estudiada.

IV. MATERIAL Y METODO

Para efectuar el estudio de Campylobacter jejuni a partir de las heces fecales, se llevaron a cabo visitas al Laboratorio de Análisis Clínicos, en el Hospital Central de Petróleos Mexicanos Atzacapotzalco, durante los meses de enero a abril y de junio a noviembre.

Las muestras se obtuvieron al "azar" tanto de niños aparentemente sanos y sin diarrea, como de niños con diarrea (6 con problemas gastrointestinales) que asistieron al Laboratorio Clínico, o que se encontraban internados por alguna de estas razones. De esta forma se visitó durante el muestreo el 5° piso en la sección correspondiente a recién nacidos y prematuros, el 6° piso en la sección correspondiente a lactantes y maternales y por último la sección correspondiente a preescolares. Así mismo se tomaron en cuenta a los niños que eran mandados por su Pediatra, sin tener problemas diarreicos ni gastrointestinales manifiestos en ese momento.

El muestreo se realizaba de 1 a 2 veces por semana, el número de muestras promedio era de aproximadamente 8, no importando sexo y haciendo incapié en la edad y en las características macroscópicas de las heces, así como si se tenía un tratamiento previo con antimicrobianos y por cuanto tiempo.

El total del número de muestras fué de 500

El medio que se empleó fué selectivo para el aislamiento de Campylobacter ssp y se empleó así mismo un suplemento para cumplir con las condiciones de anaerobiosis requeridas, debido a la toma

inmediata de la muestra no fué necesario el uso de medios de transporte.

Los medios de cultivo empleados, reactivos y colorantes así como el material de vidriería e instrumentos para desarrollar el presente trabajo fueron los siguientes:

1.- Medios de cultivo.

a) Medios de cultivo sólidos:

agar selectivo para *Campylobacter* ssp. (Merck) (ver anexo 1)

agar sangre (Merck)

agar Mueller Hinton (Merck)

b) Medios de cultivo líquidos:

caldo tioglicolato (BBL)

c) Medios de cultivo semi-sólidos:

caldo tioglicolato (BBL) con agar bacteriológico (Bioxón)

2.- Reactivos y Colorantes.

1.- agua destilada

2.- solución salina fisiológica 0.9 % (ABBOTT)

3.- solución de peróxido de hidrógeno

4.- solución de acetato de plomo saturada

5.- sobres de Anaerocult C (Merck) (ver anexo 2)

6.- aceite de inmersión (Sigma) viscosidad tipo A

7.- colorante de cristal violeta (preparado en el mismo laboratorio del Hospital de PEMEX)

8.- colorante de lugol (PEMEX)

9.- solución de alcohol-acetona (PEMEX)

10.- colorante de safranina (PEMEX)

11.- solución de fucsina (PEMEX)

3.- Material de vidrieria e Instrumentos

1.- pipetas graduadas de 5 y 10 ml (Pyrex)

2.- cajas petri de vidrio y/6 de plástico (LSAYM)

3.- jarra para anaerobiosis de gas-pack

4.- porta objetos (Madesa)

5.- cubre objetos (Madesa)

6.- papel filtro (Wattman)

7.- hisopos estériles de algodón

8.- asa de platino

9.- Microscopio (Carl Zeizz)

10.- estufa de incubación graduada a 37°C (sin marca)

11.- estufa de incubación graduada a 42°C (sin marca)

12.- refrigerador a 5°C (Nieto)

13.- autoclave (Vernitron General Purpose)

14.- mechero fisher

15.- maskin-tape

16.- sensidiscos de ac. nalidixico y cefalotina (Bigaux)

IV.1 Exámen Bacteriológico

Todas las muestras que se sometieron al exámen bacteriológico se obtuvieron de heces fecales, se trabajaron de la siguiente manera: inmediatamente después de obtener la muestra se procede en forma estéril a su inoculación en un medio específico para el cre-

cimiento del *Campylobacter*, haciendo el aislamiento por la técnica de dilución con ayuda de asas de platino estériles, anotando en la caja del medio de cultivo y en el respectivo registro el número de muestra, nombre del niño (a), edad, lugar de procedencia, fecha y observaciones si es necesario.

Cada una de estas cajas ya aisladas se colocan en una jarra para anaerobiosis de gas-pack, añadiendoseles un sobre de Anaerocult C hidratado, para obtener la atmósfera ideal para su crecimiento, tapando perfectamente la jarra se coloca en una estufa de incubación a la temperatura ideal de 42°C ó en su defecto a la temperatura de 37°C durante 48 horas. Este procedimiento se lleva a cabo con cada lote de muestras tomadas.

Pasado el tiempo de incubación, se procede a observar la morfología colonial de cada una de las muestras y aquellas que no llegan a presentar desarrollo se pueden dejar incubando durante 12 o 24 horas más. Las cajas que presentan desarrollo y que cumplan con las características morfológicas de la literatura se les realizará un frotis tñendolo por la técnica modificada de Gram. Si se observan al microscopio bacterias en forma de "S", ala de gaviota, o coma, se purifica la bacteria, resemandola en medio de *Campylobacter ssp* ó en agar sangre por duplicado bajo las mismas condiciones.

Va teniendo la bacteria en forma pura se efectúan las pruebas bioquímicas disponibles y a la vez específicas para la diferenciación de la especie jejuni, como son: oxidasa, catalasa, crecimiento a 25°C, crecimiento a 42°C, producción de ácido sulfhídrico con

tiras de papel filtro impregnadas con acetato de plomo, así como la sensibilidad y resistencia al ácido nalidixico y a la cefalotina respectivamente.

ANEXO 1

Agar selectivo para *Campylobacter* ssp.

Composición en gr/lt de agua desmineralizada:

Peptone

Protein mixture.....21.0

Electrolyte..... 5.0

Starch soluble..... 1.0

agar-agar.....13.0

ph of the ready for use medium at 37°C = 7.3 ± 0.1

Suplemento de agar selectivo de *Campylobacter*: el suplemento selectivo de *Campylobacter* es una mezcla de 3 antibióticos diferentes en forma liofilizada. Durante el cultivo y el aislamiento de las especies de *Campylobacter* (por ejemplo jejuni) la contaminación por la flora fecal se suprime por la adición de este suplemento.

Composición:

Vancomicina..... 2.0 mg

Polimixina.....50.0 µg

Trimetoprim..... 1.0 mg

Se enfría el medio a 45°C - 50°C

ANEXO 2

Anaerocult C

Los sobres de Anaerocult C sirven para producir una atmósfera reducida en oxígeno y enriquecida en CO_2 . En una jarra para anaerobios de 2.5 lt. se encuentra o se produce de 8 a 10 % en volúmen de CO_2 y de 5 a 7 % en volúmen de oxígeno en el cultivo de las especies de *Campylobacter*. (25)

V. RESULTADOS

En el cuadro número 3 se presentan en forma resumida el resultado de las características de cada una de las muestras estudiadas así como el porcentaje de aislamiento que se obtuvo. En dicho cuadro se puede ver que: 98 muestras corresponden a niños internos y de las cuales 52 de ellas, eran de niños con problemas diarreicos, y 46 eran muestras de niños sin problemas diarreicos. Del total de 98 muestras 55 de estas correspondían al sexo femenino y 43 al sexo masculino. No se obtuvo ningún aislamiento de Campylobacter jejuni. También se ve que 402 muestras corresponden a niños externos, de los cuales 95 presentaban problemas diarreicos y 307 muestras pertenecían a niños "aparentemente sanos". De estas 402 muestras 216 correspondían al sexo femenino y 186 al sexo masculino. De estas muestras se obtuvieron 4 aislamientos positivos a Campylobacter jejuni pertenecientes a niños menores de 1 año equivalente al 0.8 % y 8 aislamientos positivos a Campylobacter jejuni de niñas cuyas edades fluctúan entre 2 y 5 años (preescolares) equivalentes al 1.6 % de aislamiento.

El total de muestras positivas fué de 12 equivalente al 2.4 %. Todas las muestras positivas pertenecieron a niños externos y "aparentemente sanos" ya que no presentaban diarrea ni problemas gastrointestinales al momento de la toma.

C U A D R O N° 3

Resultado de las características de cada una de las muestras de heces estudiadas y porcentaje de aislamiento de Campylobacter jejuni

Edad	N° de muestras	N° m.c.d.	N° m.s.d.	N° S.F.	N° S.M.	N° m.p.f.	N° m.p.m.	P.a.
Recién nacidos de 0 días a un mes	[17] (0)	[2] (0)	[15] (0)	[10] (0)	[7] (0)	[0] (0)	[0] (0)	[0] (0)
Lact. menores de un mes a un año	[58] (90)	[38] (30)	[20] (60)	[33] (61)	[25] (29)	[0] (4)	[0] (0)	[0] (0.8)
Lact. mayores de 1 a 2 años	[12] (201)	[10] (51)	[2] (150)	[6] (101)	[6] (100)	[0] (0)	[0] (0)	[0] (0)
Preescolares de 2 a 5 años	[9] (104)	[2] (14)	[7] (90)	[5] (50)	[4] (54)	[0] (4)	[0] (4)	[0] (1.6)
Escolares de 5 a 12 años	[2] (7)	[0] (0)	[2] (7)	[1] (4)	[1] (3)	[0] (0)	[0] (0)	[0] (0)

[]: Muestras de niños internos.

(): Muestras de niños externos

N° m.c.d.: Número de muestras con diarrea.

N° m.s.d.: Número de muestras sin diarrea.

N° S.F.: Número de muestras correspondiente al sexo femenino.

N° S.M.: Número de muestras correspondiente al sexo masculino.

N° m.p.f.: Número de muestras positivas del sexo femenino.

N° m.p.m.: Número de muestras positivas del sexo masculino.

P.a.: Porcentaje de aislamientos positivos a Campylobacter jejuni

VI. DISCUSION DE RESULTADOS

En base a los resultados obtenidos en este estudio, se puede afirmar que Campylobacter jejuni estuvo presente en un 2.4% de las muestras de heces de niños externos, de ambos sexos y que "no presentaban diarrea" en el momento de la toma. Con este hallazgo se confirman las experiencias previas de diferentes autores como Butzler el cual reporta 6 % de aislamientos en niños con diarrea y 2 % en niños sin diarrea, y en México el porcentaje de aislamientos en niños con diarrea varía del 2.3 al 17 % y de niños sin diarrea entre el 1 y 4 % de aislamientos. Si analizamos el porcentaje obtenido en este estudio se puede ver que está dentro de los límites de porcentaje aislados en niños sin diarrea, así como la edad. Esto aparentemente no es muy significativo, sin embargo si tomamos en cuenta que estos niños son considerados "aparentemente sanos" y que su nivel de vida es Socioeconómicamente BUENO la cifra se vuelve significativa. Una posible justificación es que empezaban con la infección sin presentar manifestación clínica aparente, o bien que como se mencionó anteriormente son portadores sanos que en un futuro pueden llegar a manifestar la enfermedad o bien seguir infectando tanto a animales como a personas que conviven con ellos empezandose así el ciclo de contaminación.

Se siente la necesidad de efectuar futuras investigaciones tendientes a realizar un seguimiento epizootiológico con los niños que presentaron Campylobacter jejuni en sus heces, así mismo se queda la inquietud de estudios posteriores pero tomando en cuenta

a niños con diarrea aguda ó bien con gastroenteritis exclusivamente y de esta manera saber la frecuencia real de aislamientos y si es uno de los microorganismos causantes de la misma.

El hecho de que no se aisló Campylobacter jejuni en niños con diarrea severa ó bien con gastroenteritis pudo deberse a que no se encontraba en ese momento la bacteria presente, a que fué invadida por otro tipo de bacterias, ó bien a que no se encontraba como una posible causa de diarrea, además de tomar en cuenta que el número de muestras que se trabajaron de estos niños fué mucho menor que el número de muestras trabajadas de niños sin diarrea.

El elevado porcentaje aislado de Campylobacter jejuni de muestras del sexo femenino también se pudo deber a que se muestrearon más niñas que niños ya que el estudio fué al azar.

El estudio que aquí se realizó fué con todos los medios, así como el material "ideal" para el "desarrollo y crecimiento" de la bacteria, no siendo necesario emplear medios de transporte y efectuando el aislamiento e identificación en un tiempo corto que es lo que se espera en cualquier Laboratorio u Hospital.

CONCLUSIONES

- 1.- En el Hospital de Petróleos Mexicanos Atzacapotzalco se pudo aislar e identificar el Campylobacter jejuni de la población infantil estudiada.
- 2.- Se comprobó que efectivamente es una bacteria "difícil" y "exigente" para poder ser aislada e identificada en forma rutinaria, sin embargo con la metodología adecuada y satisfaciendo las necesidades del medio, atmósfera, temperatura, etc puede efectuarse su identificación satisfactoriamente.
- 3.- Se necesita además de cumplir con las necesidades requeridas por la bacteria de tener cierta experiencia para poder trabajar con ella.
- 4.- Campylobacter jejuni puede ser aislado de heces fecales de cualquier persona ya que no influye la edad ni el sexo.
- 5.- El porcentaje de aislamiento que se obtuvo en niños sin diarrea está dentro del rango que señala la literatura.
- 6.- No se puede afirmar en esta investigación que Campylobacter jejuni estaba presente ó es el causante de las diarreas ó gastroenteritis que los niños presentaban en el momento de la toma ya que no fué posible su aislamiento.
- 7.- No se explica qué factores intervinieron para que no se aislara de niños con diarrea, pero es probable que se deba a que la población muestreada con diarrea fué mucho menor que la muestreada sin diarrea.
- 8.- El número de muestras fué propuesto por los Clínicos que de

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

alguna forma les causó interés esta investigación.

- 9.- Comprobamos que aún en niños de un buen nivel socio-económico Campylobacter jejuni está presente y no es exclusivo de niños de muy bajo nivel socio-económico como se pensaba, aunque en el porcentaje de aislamiento sí varía de uno a otro.
- 10.- Esta investigación deja la inquietud de un mayor número de investigaciones con respecto al origen de la transmisión, el porcentaje real de aislamiento en niños con diarrea o gastroenteritis, etc.
- 11.- No se hizo necesaria la utilización de cepas tipo de Campylobacter jejuni para compararlas con las aisladas en el laboratorio debido a la "experiencia" que tiene la Química responsable del área de Bacteriología, así como la Asesora, las cuales cooperaron incondicionalmente para la realización de esta investigación.
- 12.- Lo ideal sería que cada Laboratorio Clínico así como en el que se efectuó esta investigación contara con lo indispensable por lo menos en cuanto a material y medios de cultivo para realizar este tipo de aislamientos en forma rutinaria y así poder controlar y prevenir la rapidez con la que se transmite la infección.

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

- 1.- Angeles Ma. de Lourdes. (1984): "Aislamiento de *Campylobacter fetus* subespecie *intestinalis* a partir de moco cervico - vaginal, vesicula biliar y heces de orina de 4 estados de la República". Tesis de Licenciatura. F.M.V.Z., U.N.A.M. pp. 2-9
- 2.- Archinet F. (1979): "Vibriosis Humana". Técnicas en Bacteriología. Editorial Jims Barcelona España. pp. 395-398
- 3.- Basualdo Ma. del Carmen., Ramirez P. Ma. Teresa., López A. Ma. del Rocío. (1989): "Recuperación de *Campylobacter* ssp en relación con otros microorganismos clásicos causantes de diarrea en niños menores de 2 años de la zona Oriente de la Ciudad de México". Laborat-Acta 2, Archivos Mexicanos de Laboratorio 1:15-18
- 4.- Basurto B.B., Palacios A. J., Vázquez M. R. et. al. (1989): "Frecuencia de *Campylobacter jejuni* *Salmonella* spp y Parvovirus canino en perros con gastroenteritis en la Ciudad de México". XOLO Revista de la Canofilia Mexicana 1:36-39
- 5.- Bouchan Valencia Patricia. (1989): "Prueba de susceptibilidad in vitro a 16 agentes antimicrobianos contra *Campylobacter fetus* subespecie *jejuni* subespecie *coli*". Tesis de Licenciatura. Q.F.B., F.E.S.-Cuautitlán U.N.A.M pp. 8-10,12-15,19-22, 27,32-35,37-40
- 6.- Braude I. Abraham. (1984): "Microbiología Clínica". Editorial Panamericana Buenos Aires. pp. 402-409,413-416
- 7.- Burrows Williams Dr. (1974): "Tratado de Microbiología". Edi-

- torial Interamericana S.A. de C.V. 2ª ed. pp. 468-469
- 8.- Camarena Camacho Pedro A. (1985): "Frecuencia de aislamiento de Campylobacter jejuni y Campylobacter coli en pollos con y sin síndrome diarreico". Tesis de Licenciatura. Q.B.P., I.P.N pp. 1-7,13,28-33
 - 9.- Carboney Castellanos A., Pérez Pérez G. (1984): "Presencia de Campylobacter jejuni en muestras de materia fecal en pacientes con y sin diarrea, estudiados en Instituciones Hospitalarias del D. F." Boletín de Epidemiología 4:2-11
 - 10.- CONACYT. (1982): "Determinación de la vibriosis genital bovina en el Centro Experimental Pecuuario del Estado de Puebla "Las Margaritas" (CEPEP"M) Septiembre.
 - 11.- Cowan and Steels. (1974): "Manual for the identification of medical bacteria". Cambridge University Press Great Britain 2ª ed. pp. 119-121
 - 12.- Diversos (1988): "Enteritis vibriónica canina". Avances en Medicina Veterinaria Sección D: Diversos. pp.157-167
 - 13.- Figueroa G. Guillermo., Vivian Soto., Hidalgo Héctor., et. al. (1984): "Aislamiento de Campylobacter jejuni y Salmonella de cáscaras y membranas de huevo". Boletín del Instituto de Salud Pública de Chile 24:75-80
 - 14.- Flores Solorio Sergio G., Vázquez Alvarado Virginia., Moreno A. Laura. (1983): "Campylobacter como agente etiológico de diarrea en niños". Boletín Médico del Hospital Infantil de México 40:315-318
 - 15.- Frobisher Hinsdill Crabtre. (1974): "Fundamentals of microbiology"

- logy". W. B. Saunders Company Philadelphia. 9ª ed. pp. 482
- 16.- García Moreno Julio Dr., Maldonado Ballesteros Aurora T. M. et. al. (1981): "Primer aislamiento en Chile de Campylobacter fetus subespecie jejuni y Yersinia enterocolitica desde deposición de niños menores de 2 años de edad con diarrea aguda". Boletín del Instituto de Salud Pública de Chile 22:23-26
 - 17.- Guido Controni, Ng Sang Francisco. (1984): "Infecciones Humanas por Campylobacter: sus aspectos clínicos y de laboratorio". Archivos Dominicanos de Pediatría 20:23-26
 - 18.- Hagan y Bruner. (1983): "Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos". Editorial La Prensa Médica Mexicana. 4ª ed pp. 130-134
 - 19.- Hernández F., Herrera M. I., Rivera P. (1984): "Alteraciones morfológicas ocurridas espontáneamente en cultivos de Campylobacter fetus subespecie jejuni". Revista Costarricense de Ciencias Médicas 5:61-63
 - 20.- James D. Cherry M. D. (1978): "Susceptibility of Campylobacter fetus subsp. jejuni to twenty-nine Antimicrobial Agents". Antimicrob. Agents Chemother 14:553-556
 - 21.- Jasso S. José F. (1989): "Establecimiento de la técnica para el aislamiento de Campylobacter jejuni como agente etiológico de enteritis y su frecuencia en relación con los enteropatógenos bacterianos tradicionales en la población del Hospital General Centro Médico "La Raza". Tesis de Licenciatura. Q.F.B F.E.S.-Cuautitlán U.N.A.M.
 - 22.- Jawets Ernest, Melnick L. (1985): "Microbiología Médica". Edi

- torial El Manual Moderno. 11ª ed. pp. 155
- 23.- Jean F. Mc. Fadin. (1984): "Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias" Editorial Panamericana Buenos Aires Argentina.
 - 24.- Koneman Elmer W. (1983): "Diagnóstico Microbiológico". Editorial Panamericana Buenos Aires Argentina. pp. 248-249
 - 25.- Literatura proporcionada por los Laboratorios Merck 16275 (1988): "Anaerocult C".
 - 26.- Literatura proporcionada por los Laboratorios Merck (1988): "Campylobacter". pp. 1-4
 - 27.- Litter Manuel. (1980) : "Farmacología". Editorial Ateneo Buenos Aires Argentina. pp. 1607,1615,1617-1623
 - 28.- Mancera Martínez Arturo, Flores Castro Ricardo, Suárez G. Fco. (1980): "Campylobacter fetus subespecie intestinalis: primer aislamiento asociado con aborto epizootico ovino en México". Revista Latinoamericana de Microbiología 22:109-111
 - 29.- "Manual de Bacteriología Médica" (1983). Editada por la Academia de Profesores de Bacteriología Médica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. pp. 19-21,61-63
 - 30.- "Manual Merck de Veterinaria" (1988). Publicado por Merck & Co. Inc. Rabway, N. J. U.S.A., Centrum Madrid España. 3ª ed. en español. pp. 155-157
 - 31.- Morales Castillo Martha E., García Pérez Martha., Pedroza J.L et. al. (1984): "Frecuencia de Campylobacter fetus subespecie jejuni y Yersinia enterocolitica en niños con diarrea aguda". Boletín Médico. Hospital Infantil de México 41:86-93

- 32.- M. B. Skirrow. (1977): "Campylobacter enteritis: a "new" disease". British Medical Journal. pp. 9-11
- 33.- M. Smibert Robert. (1978): "The Genus Campylobacter". Ann. Rev. Microbiol. 32:673-709
- 34.- Perlman D. M., Ampel N. M., Schifman R. B. et. al.(1988): "Infecciones persistentes por Campylobacter jejuni en pacientes infectados por virus de la Inmunodeficiencia Humana". Trabajos Distinguidos Infectología 1:6-7
- 35.- Tobillo Lalo Laura. (1983): "Incidencia de bacterias enteropatógenas en una población infantil en la Ciudad de México". Tesis de Licenciatura. Q.B.P., I.P.N. pp. 4-7,11,12,16-18,25