

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO

ESCUELA DE QUIMICO FARMACOBIOLOGÍA



“PREVALENCIA DE CAMPYLOBACTER EN MUESTRAS DE HUMANOS, RASTROS Y CARNE CRUDA DE POLLO, PUERCO Y RES EN MICHOACÁN”

TESIS

QUE PRESENTA:

P.Q.F.B. IVÁN DÁVALOS CHÁVEZ.

ASESOR DE TESIS:

Q.F.B. ELDA GABRIELA VÁZQUEZ NARVÁEZ

COASESOR:

Q.F.B. BERTHA BALLESTEROS SILVA

MORELIA MICHOACÁN, DICIEMBRE DEL 2006

DEDICATORIA.

A mis padres por haberme brindado su amor, apoyo incondicional y confianza durante todos estos años. Gracias por darme la oportunidad de estudiar una carrera universitaria.

A mis hermanos por darme siempre su apoyo y cariño.

A Erika por haber estado conmigo durante todo éste tiempo apoyándome y alentándome a seguir adelante gracias.

A todos mis amigos, en especial a Juan, Jesús, Mauricio, Jorge y Raúl. Gracias por haber pasado tantos momentos especiales juntos.

A toda mi familia por todos sus consejos y apoyo moral.

A todos mis maestros, gracias por todas sus enseñanzas.

AGRADECIMIENTO

A la Q.F.B. Gabriela Vázquez Narváez por todo el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

A la Q.F.B. Dora María Lemus Olivares por todo el apoyo y las enseñanzas para la realización de este trabajo.

A la Q.F.B. Bertha Ballesteros Silva por su gran ayuda en la realización de este trabajo.

A la Q.F.B. Magally y al Q.F.B. José Luis, gracias por su amistad y gran apoyo.

A mis sinodales:

Q.F.B. María Rebeca Tinoco Martínez

Q.F.B. Ricardo Vega Tavera.

Q.F.B. Dora Maria Lemus Olivares

Por su tiempo en la revisión y las grandes aportaciones hechas a este trabajo.

El presente trabajo se realizó conjuntamente en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General “Dr. Miguel Silva” y el Laboratorio Estatal de Regulación Sanitaria, los dos en la Ciudad de Morelia, Michoacán., como parte del proyecto RESISVET bajo la asesoría de la Q.F.B. Elda Gabriela Vázquez Naváez..

Para la realización de éste trabajo se contó con el apoyo de la FDA (Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica), USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica) y FUNSALUD (Fundación para la salud).

Con el título de: **“Prevalencia de Campylobacter en muestras de humanos, rastros y carne cruda de pollo, puerco y res en Michoacán “.**

ÍNDICE

I	INTRODUCCIÓN	8
1.1.	Antecedentes históricos del género	8
1.2.	Agente infeccioso	9
1.3.	Taxonomía	10
1.4.	Estructura antigénica	11
1.5.	Patogenicidad	12
1.6.	Campylobacterias de importancia clínica	13
1.7.	Síndromes clínicos	13
1.8.	Patogenia	16
1.9.	Vías de transmisión	18
1.10.	Epidemiología	19
1.11.	Diagnóstico de laboratorio	21
1.12.	Tratamiento y prevención	29
II .	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
III .	JUSTIFICACIÓN	34
IV.	OBJETIVOS	38
V.	MATERIAL Y MÉTODOS	40
5.1	Selección del universo de estudio	40
5.2	Criterio de inclusión	40
5.3	Criterio de exclusión	40
5.4	Material biológico	41
5.5	Procedencia de las muestras	41
5.6	Esquemas de procedimiento	43
5.6.1	Guía para la siembra de heces de niños sanos y muestras diarreicas.	43
5.6.2	Guía para la siembra de carne en trozo y carne molida de pollo, puerco y res.	45
5.6.3	Guía para la siembra de intestinos de res, puerco y pollo en rastros.	47
VI.	RESULTADOS	50
VII.	DISCUSIÓN	53
VIII.	CONCLUSIONES	56
IX.	ANEXOS	59

X. REFERENCIAS	77
-----------------------	-----------

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1 TAXONOMÍA DEL <i>CAMPYLOBACTER</i>	10
TABLA No. 2 FUENTE Y ENFERMEDADES EN HUMANOS PRODUCIDAS POR <i>CAMPYLOBACTER</i> .	13
TABLA No. 3 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO <i>CAMPYLOBACTER</i> .	27

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1 ESTRUCTURA ANTIGÉNICA DE <i>CAMPYLOBACTER</i> .	12
FIGURA No. 2 VÍAS DE TRANSMISIÓN Y PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD	18

I. INTRODUCCIÓN

1.-INTRODUCCION.

Los microorganismos *Campylobacter* causan enfermedades tanto diarreicas como sistémicas y se encuentran entre las causas infecciosas de mayor distribución mundial.

La infección por *Campylobacter* en animales domesticados también muestra una amplia distribución.

La clasificación de las bacterias dentro de la familia *Campylobacteriaceae* suele modificarse con frecuencia. Algunas especies previamente clasificadas como *Campylobacter* se reclasificaron en el genero *Helicobacter*.⁽⁶⁾

1.1.-ANTECEDENTES HISTÓRICOS DEL GÉNERO

Las primeras observaciones de bacterias semejantes a *Campylobacter* fueron realizadas por Escherich en 1886 a partir de materia fecal de niños y de gatos con diarrea. Aunque no pudo realizar los aislamientos, Escherich denominó *Vibrio felinus* a las bacterias observadas sólo microscópicamente. Los primeros aislamientos de especies del género *Campylobacter* fueron realizados en el área de la microbiología veterinaria, en 1909 y 1913. Mac Fadyean y Stockmann y posteriormente Smith en 1918 establecieron la participación de una bacteria microaerófila en el aborto del ganado bovino y ovino, de morfología similar a las especies del género *Vibrio*, por lo que se la denominó *Vibrio fetus*.⁽⁴⁾

El microorganismo clasificado en el presente como *Campylobacter jejuni* fue descubierto en 1931 por Jones y colaboradores como agente causal de la disentería invernal del ganado bovino. Pasaron 26 años antes que King describiera un grupo de bacilos curvos móviles, microaerófilos, aislados de sangre de niños con disentería aguda, que esta autora denominó “relacionados con vibriones”, debido a que eran similares en muchos aspectos al *Vibrio fetus*. King mencionó que los vibriones aislados a partir de sangre de los niños podían estar estrechamente relacionados con el microorganismo descrito como *V. jejuni* por Jones en 1931 y que era importante como causa de síndromes diarreicos durante la infancia.⁽⁷⁾

En 1963, Sébald y Veron proponen la creación del género *Campylobacter* para incluir estas bacterias.

En la década de los 70, Butzler y Skirrow, Bolton y Robertson, Blaser y colaboradores, desarrollaron medios selectivos que permitieron aislar estos microorganismos con relativa facilidad y establecer su participación en diferentes cuadros infecciosos en el hombre.

En 1972 Dekeseyer y Butzler aislaron los microorganismos de las heces de pacientes con enteritis aguda usando una técnica de filtración que permitía el pasaje de pequeños bastones

curvos a través de una membrana, pero retenía microorganismos fecales más grandes. Esta técnica se utiliza actualmente para el aislamiento de otras especies del género diferentes de *C. jejuni subsp. jejuni* o *C. coli* como son: *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis* y *C. jejuni subsp. doylei*.⁽⁴⁾

1.2.-AGENTE INFECCIOSO

El género *Campylobacter* (del griego *Campylo-curvo*) agrupa 18 especies de carácter zoonótico. Entre las que destacan *C. jejuni* y *C. coli* como importantes agentes de diarrea para el ser humano (Vandamme y De Ley 1991).

Las especies del género *Campylobacter* agrupan bacilos Gram negativos curvos, que miden de 0.2 a 0.5 µm de ancho y 1.5 a 5 µm de largo, con tinción de Gram pueden observarse de diferentes formas: comas, en forma de alas de gaviota, espirilados o en forma de S; son microaerófilas (requieren menor tensión de Oxígeno) y capnofílicas (requieren mayor cantidad de Bióxido de carbono), móviles por medio de un flagelo no envainado único, polar. Estos microorganismos no fermentan ni oxidan a los carbohidratos, son oxidasa y catalasa positivos, obtienen energía de la utilización de aminoácidos e intermediarios de 4 y 6 carbonos del ciclo de Krebs, no forman fimbrias, no producen cápsula ni esporas, reducen los nitratos, pueden desarrollarse en glicina al 0.5 %, son ureasa negativos y del 11 al 89 % de las cepas positivas se desarrollan mejor a 42 °C.

Existe gran diversidad genotípica y fenotípica aún dentro de las especies actualmente reconocidas como *Campylobacter*.⁽⁷⁾

En cultivos de varios días (más de tres) adquieren formas esféricas u ovoides que han perdido su capacidad para multiplicarse en medios de cultivo y que son consideradas como formas viables no cultivables.

Estas bacterias están ampliamente distribuidas en la naturaleza, reconociendo como reservorio natural a una gran variedad de animales, tanto domésticos como de vida silvestre. Las aves de consumo y sus productos constituyen uno de los principales reservorios y fuente de infección humana.⁽⁴⁾

1.3.-TAXONOMÍA

Vandamme y colaboradores, mediante una variedad de técnicas de biología molecular (que incluyen hibridación de DNA-rRNA, análisis de secuencia de RNA ribosomal 16S y análisis de inmunotipificación) han determinado que todas las especies denominadas *Campylobacter* y

los taxones relacionados pertenecen al mismo grupo filogenético que éstos autores denominaron superfamilia VI de rRNA. En el presente, se incluyen 5 géneros en la superfamilia: *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter*, *Wolinella* y “*Flexispira*”. (Ver tabla 1)

Las especies reconocidas como pertenecientes al género *Campylobacter* forman tres grupos de homología de rRNA separados, que representan distintos géneros de microorganismos, estos son:

- Grupo I de rRNA. Contiene las verdaderas especies de *Campylobacter*: *Campylobacter fetus* (especie prototipo), *C.coli*, *C. concisus*, *C. curvus*, *C. gracilis*, *C.helveticus*, *C. hyoilei*, *C.hyointestinalis*, *C.jejuni*, *C.lari*, *C.mucosalis*, **C.rectus**, *C.showae*, *C.spotorum*, *C.upsaliensis* y la especie erróneamente clasificada en cuanto género *Bacteroides ureolyticus*.
- Grupo II de rRNA. Contiene las especies de *Arcobacter*: *A.butzleri*, *A.cryaerophilus*, **A.nitrofigilis** y *A.skirrowii*.
- Grupo III de rRNA. Contiene las especies de *Helicobacter*.

TABLA 1.- TAXONOMÍA DEL *CAMPYLOBACTER*

Clase VI	<i>Epsilonproteobacteria</i>
Orden I	<i>Campylobacteriales</i>
Familia I	<i>Campylobacteriaceae</i>
Género I	<i>Campylobacter</i>
Género II	<i>Arcobacter</i>
Género III	<i>Sulfurospirillum</i>
Género IV	<i>Thiovulum</i>
Familia II	<i>Helicobacteriaceae</i>
Género I	<i>Helicobacter</i>
Género II	<i>Wolinella</i>

Clasificación dada por el manual Bergey's de Bacteriología

Tabla tomada de (3)

1.4.-ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

La estructura de la pared celular de *Campylobacter* es la típica de bacterias Gram negativas se encuentra formada por galactosa, manosa y ramnosa. El principal antígeno del género es el lipopolisacárido de la membrana externa (antígeno O). Es frecuente la heterogeneidad

serológica de los aislados de *Campylobacter* y se reconocen más de 90 antígenos polisacáridos somáticos O diferentes y 50 antígenos capsulares (Vi) y flagelares (H).⁽⁸⁾

También se ha identificado una proteína en la pared que se considera como una adhesina que le permite invadir la mucosa y la submucosa del intestino.

1.- ANTÍGENO SOMÁTICO “O”. Se trata de un lipopolisacárido termoestable localizado en la parte más externa de la pared celular y consiste en unidades repetidas de polisacáridos. Algunos polisacáridos “O” contienen azúcares únicos. Son resistentes al calor y alcohol.

2.- ANTÍGENO FLAGELAR “H”. Se localizan sobre los flagelos y se desnaturalizan mediante calor o alcohol. Están compuestos por proteínas termolábiles, son bifásicos lo que indica que existe variación de fases (cambio del antígeno flagelar de un estado o fase I a otra diferente o fase II).

Los antígenos de la fase I se indican con letras minúsculas: a,b,c, etc., los correspondientes a la fase II, con números arábigos: 1, 2, 6, 8 etc., y letras minúsculas solas o numeradas.

3.- ANTÍGENO CAPSULAR “K”. Algunos son polisacáridos y otros son proteínas. A veces se asocian con virulencia. Es lábil al calor, álcalis, ácidos y alcohol, y envuelve al antígeno que puede rodear la pared de una célula y enmascarar la actividad del antígeno somático. ⁽⁶⁾

1.5.-PATOGENICIDAD

Las *Campylobacterias* poseen diversos factores de virulencia, entre ellos:

FLAGELOS Y LIPOPOLISACÁRIDO. Estas bacterias no poseen fimbrias pero, se ha demostrado que el flagelo y el LPS actúan como adhesinas que le permiten la adherencia a la célula epitelial y al mucus intestinal, paso inicial para la instalación de la infección. La adherencia puede ser inhibida experimentalmente con anticuerpos anti-flagelo. ⁽⁴⁾

TOXINAS. Produce toxinas parecidas al colerágeno y la linfotoxina “T” de *E. coli* así como a las de shigella.⁽³⁾Estos factores enterotóxicos se unen al gangliósido GM1 y activa la adenilciclase, aumentando el AMP cíclico, provocando una diarrea secretora.

A pesar de estas evidencias experimentales, la producción de una enterotoxina por parte de *Campylobacter* aun está en discusión ya que, hasta ahora, no se ha detectado el gen codificador.

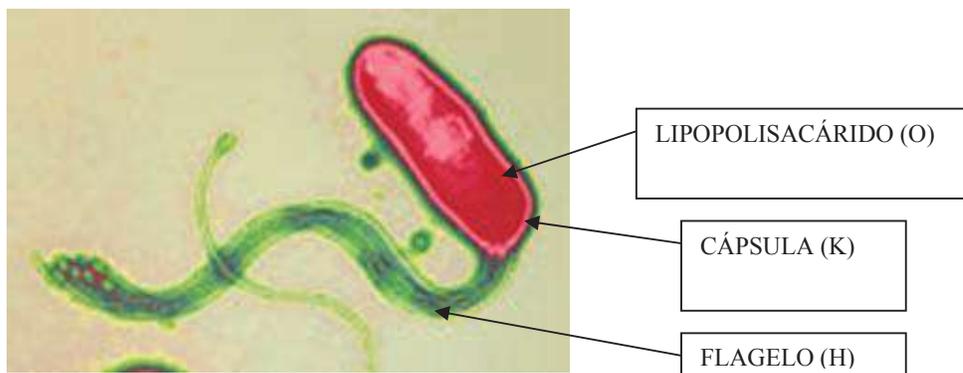
Además, se ha demostrado la producción de citotoxinas sobre células CHO, HeLa y Vero, entre las que destaca la “cytolethal distending toxin” que tiene la capacidad de producir distensión y posterior muerte celular.

Aún no ha sido aclarada la importancia real de la producción de toxinas en el desarrollo de la enfermedad provocada por estos microorganismos.⁽⁴⁾

INVASIVIDAD. Se debe principalmente a la presencia de la microcápsula, con lo que se explica la capacidad para producir infecciones sistémicas. Esto se comprueba con la aparición de ciertas cepas de *Campylobacter* en la sangre de pacientes con septicemia.⁽⁸⁾

ENZIMAS. Estas bacterias tienen la capacidad de producir varias enzimas, entre ellas proteasas.⁽⁸⁾

FIGURA 1
ESTRUCTURA ANTIGÉNICA DE CAMPYLOBACTER



TOMADO DE: <http://www.medialabinc.net>

1.6.-CAMPYLOBACTERIAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA

Se conocen cinco especies que pueden aislarse como agentes etiológicos de casos humanos: *C.jejuni subesp.doylei*, *C.laridis* y *C.coli*, *C.sputorum bv.sputorum* se asocian a gastroenteritis, y *C.fetus subesp.fetus* ha sido aislado de sangre de pacientes con septicemia, de casos de meningitis, abscesos y ocasionalmente de las heces de pacientes con gastroenteritis.

Otras especies de *Campylobacter* han sido encontradas en el hombre, pero no se les ha asociado con enfermedad humana, por ejemplo: *C.conciscus*, *C. curvus*, *C. rectus*, *C. showae*, *C. gracilis* aislados de encías.

Se conocen especies de *Campylobacter* que solamente se han encontrado en animales.⁽¹⁾ (Ver tabla 2)

TABLA 2.
FUENTE Y ENFERMEDADES EN HUMANOS PRODUCIDAS POR CAMPYLOBACTER

ORGANISMO	FUENTE	ENFERMEDAD EN HUMANOS
<i>C. concisus</i> , <i>C. curvus</i> , <i>C. rectus</i> , <i>C. showae</i>	Humanos	No se presenta
<i>C. gracilis</i>	Humanos	No se presenta
<i>C. coli</i>	Humanos, cerdos, toros, ovejas, aves	Gastroenteritis, septicemia
<i>C. jejuni subesp. jejuni</i>	Aves de corral, puercos, toros, perros, gatos, aves	Gastroenteritis, septicemia, meningitis y proctitis.
<i>C. jejuni subesp. doylei</i>	Humanos	Gastroenteritis, gastritis y septicemia
<i>C. lari</i>	Humanos, aves, aves de corral, ríos y agua de mar	Gastroenteritis y septicemia
<i>C. hyointestinalis subesp.</i> <i>hyointestinalis</i>	Cerdos, hamsters, ciervos y ganado	Gastroenteritis
<i>C. upsaliensis</i>	Perros y gatos	Gastroenteritis, septicemia y abscesos
<i>C. fetus subesp. fetus</i>	Humanos, ovejas y ganado	Septicemia y gastroenteritis en humanos, abortos en animales.
<i>C. fetus subesp. veneralis</i>	Ganado	Septicemia
<i>C. sputorum bv. sputorum</i>	Humanos, ganado y cerdos	Abscesos y gastroenteritis
<i>C. mucosalis</i>	Cerdos	No se presenta
<i>C. sputorum bv. fecalis</i>	Ovejas y toros	No se presenta
<i>C. hyoilei</i>	Cerdos	No se presenta
<i>C. helveticus</i>	Gatos y perros	No se presenta
<i>C. hyointestinalis subesp. lawsonii</i>	Cerdos	No se presenta

* Las especies en azul son las de mayor importancia clínica.

Tomada de : (2)

1.7.-SÍNDROMES CLÍNICOS

a) EN HUMANOS.

Pueden distinguirse cuatro tipos clínicos de infección por *Campylobacter*:

1.- Gastroenteritis. Es la enfermedad más común. El periodo de incubación es de 1 a 10 días con una media de 2 a 5 días. Se caracteriza por una rápida elevación de la temperatura, acompañada de malestar general, cefalea, dolores musculares y abdominales que preceden a la diarrea. La enfermedad se acompaña también de náuseas, vómitos, ruidos hidroaéreos, anorexia y tenesmo. La diarrea comienza generalmente a las 24 horas posteriores al inicio de

los síntomas. Las deposiciones, disgregadas o acuosas, pueden ser mucosanguinolentas, muchas veces son oscuras o ligeramente verdosas, con mayor olor. Con frecuencia se ven células de inflamación y un predominio de microorganismos de formas curvas y espirilares.

La enfermedad es autolimitada, alcanzando su mayor expresión entre el 2º y 4º día, remitiendo completamente después del séptimo día. La presentación puede ser variable, desde una forma leve de corta duración a un cuadro más severo y prolongado con características similares a shigellosis o salmonelosis. (4)

2.- Septicemia. Es producida con más frecuencia por *C. fetus*, las bacterias se diseminan desde el yeyuno a múltiples órganos mediante el torrente sanguíneo y puede haber afectación del aparato circulatorio, endocarditis, pericarditis y tromboflebitis. (7)

3.- Aborto. Durante el embarazo la infección se manifiesta por síntomas respiratorios, neumonitis, fiebre y bacteremia. Suele haber abortos con fetos muertos. (9)

4.- Meningoencefalitis. Se puede presentar tanto en neonatos como en adultos, puede ir acompañada de otras manifestaciones, como abscesos cerebrales, hemorragias subaracnoideas entre otras. (9)

5.- Colonización asintomática. Aunque el 97% de los pacientes con diarrea debida a *Campylobacter jejuni* dejan de excretar la bacteria luego de 4 a 7 semanas, incluso sin tratamiento, los pacientes restantes son portadores del microorganismo durante periodos prolongados (1 a varios años). En consecuencia *C.jejuni* puede recuperarse de muestras de heces sin ser el agente etiológico de una diarrea. Los portadores son más comunes en países tropicales y subdesarrollados. (1)

6.- El microorganismo se ha aislado en artritis, colecistitis, infecciones pleuropulmonares, peritonitis con menor incidencia. (9)

En pacientes inmunocomprometidos puede presentarse otras complicaciones como colecistitis aguda, pancreatitis, cistitis, artritis reactiva, síndrome urémico hemolítico, nefritis intersticial, hepatitis y, varios días después del cuadro, se puede desarrollar un síndrome de Guillan-Barre. (4)

B) EN ANIMALES.

Bovinos:

1.- Enteritis. La enteritis por *Campylobacter* en terneros es clínicamente similar a la del hombre. Presentan fiebre moderada y diarrea que puede durar hasta 14 días. También es posible que este agente pueda causar mastitis en las vacas. Además pueden ser agentes de aborto.

2.- Vibriosis genital. Es causada principalmente por *C. fetus subsp. venerealis* y en menor grado por *C. fetus subsp. fetus*, es una de las principales causas de infertilidad debido a una muerte embrionaria temprana. El síntoma principal es la repetición de celo, el animal infectado continúa en etapa de celo aún después de la monta. En un brote, una alta proporción de hembras vuelven al servicio y tan solo de un 25 al 40 % de ellas quedan preñadas después de haber sido cubierta dos veces. Las que quedan finalmente preñadas abortan después de unos 5 meses de gestación.

Una proporción de hembras albergan *C. fetus subsp. venerealis* durante toda la gestación y se constituyen una fuente de infección para los toros en la próxima estación de monta. Luego de la infección inicial, las hembras adquieren inmunidad y recuperan su fertilidad, los embriones se desarrollan normalmente, sin embargo, esta inmunidad es parcial y los animales pueden reinfectarse.

La infección se transmite por el servicio natural o por inseminación artificial. Los toros son portadores normales, de manera temporaria. El agente etiológico es sensible a los antibióticos que se agregan al semen en la práctica de inseminación artificial.

Campylobacter fetus subsp. fetus es causante de abortos esporádicos en bovinos y ovinos, se eliminan por la materia fecal.

Ovinos:

1.- Aborto. *C. jejuni* es una importante causa de aborto en ovinos. En la aparición de brotes se le atribuye un papel similar al de *C. fetus subsp. fetus* y con menor frecuencia *C. fetus subsp. venerealis*.

Las ovejas abortan en el último período de la gestación o dan nacimiento a corderitos muertos o débiles que pueden morir a los pocos días. La infección también origina metritis o placentitis que pueden llevar a septicemia y muerte de las madres.

Es bastante común una pérdida del 10 al 20% de los corderos. Los animales que se infectan adquieren inmunidad y no vuelven a abortar por unos 3 años.

Aves de Corral:

1.-Enteritis. El *Campylobacter* puede propagarse fácilmente de un ave a otra a través de una fuente común de agua o mediante contactos con heces infectadas. La enfermedad se manifiesta con diarreas profusas autolimitadas.

Perros y gatos:

1.- Enteritis.- Cachorros con diarrea han constituido la fuente de infección para sus dueños. La diarrea es el síntoma predominante y el vómito es frecuente. La enteritis en gatos por *C. jejuni* es rara.

Estos han sido descritos también como reservorios de *C. upsaliensis*.

Otros mamíferos: es probable que ocurra enteritis en muchas otras especies. Se describió en monos y también en potrillos.

1.8.-PATOGENIA

El microorganismo se adquiere por vía oral (ingestión de comidas y bebidas contaminadas) o por contacto con animales infectados. *Campylobacter* es sensible al pH gástrico, por lo que debe ingerirse un inóculo de 10^4 - 10^6 para que se produzca la infección.

Sin embargo, en algunos casos es altamente infectivo, provocando la infección con dosis del orden de 500 microorganismos. (4)

Los pacientes expuestos a un gran número de gérmenes o los que carecen de ácido gástrico, es más probable que desarrollen enfermedad. Los individuos pertenecientes a poblaciones con incidencia alta de enfermedad endémica desarrollan niveles perceptibles de anticuerpos séricos y secretores específicos, sufren enfermedad menos grave.

El cuadro se caracteriza por destrucción de la superficie mucosa del yeyuno, el íleon y el colon. En el examen macroscópico, la superficie mucosa aparece edematosa y con sangre. El examen histológico revela ulceración de la mucosa, abscesos en las criptas de las glándulas epiteliales e infiltración de la lámina propia por neutrófilos, células mononucleares y eosinófilos. Ese proceso inflamatorio sugiere inflamación de tejido intestinal por los microorganismos. Se han detectado enterotoxinas, toxinas citopáticas y actividad citotóxica en

los aislados de *C.jejuni*; sin embargo, no están bien definidos los papeles exactos de esos factores en la enfermedad.⁽⁸⁾

También pueden atravesar mucosa intestinal y proliferar en la lámina propia y ganglios, de manera semejante a la infección producida por *Salmonella* pudiendo, a partir de allí, generar infecciones extraintestinales, aunque la acción inhibitoria del suero contribuye a limitar la aparición de bacteriemias en la gran mayoría de los casos. Algunas cepas producen toxinas termolábiles semejante a la de *Vibrio cholerae* y de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC).⁽⁴⁾

Campylobacter fetus tiene la tendencia a diseminarse desde el tracto gastrointestinal hacia el torrente sanguíneo y a focos distantes. Eso sucede sobre todo en pacientes debilitados o inmunodeprimidos.

Los estudios in vitro han demostrado que *C.fetus* es resistente a la acción bactericida del suero mediada por el complemento y por anticuerpos, mientras que *C. jejuni* sucumbe con rapidez, *C. fetus* está cubierto por una proteína llamada proteína S que evita su muerte en el suero mediada por el complemento, esto es, inhibe la unión del C3b a la bacteria.⁽⁸⁾

FIGURA 2 . VÍAS DE TRANSMISIÓN Y PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD

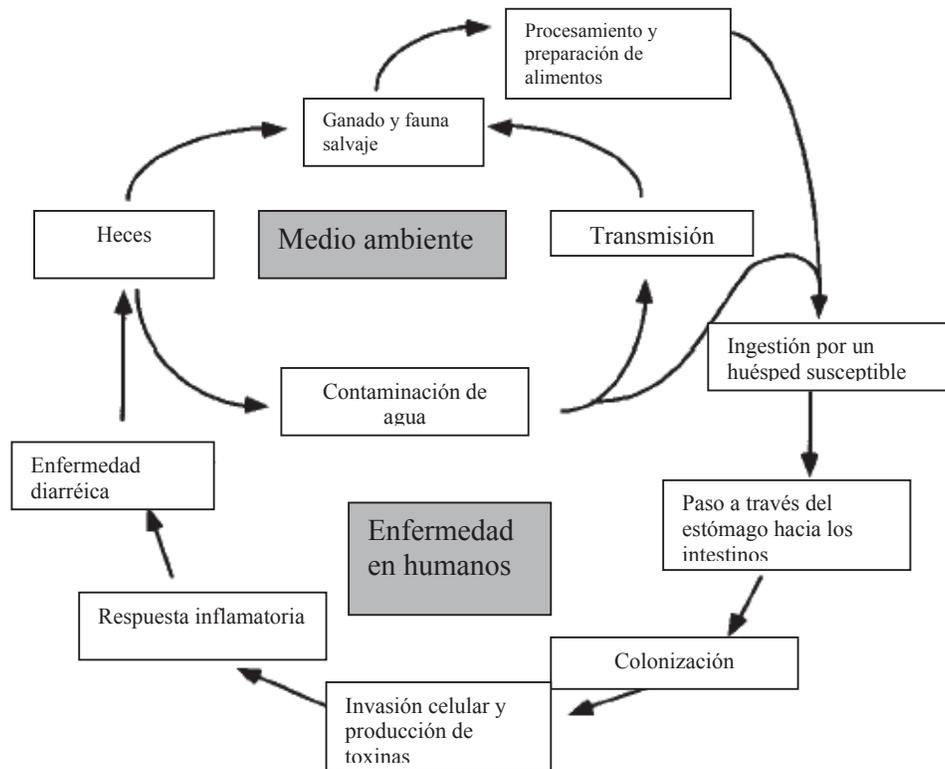


FIGURA 2.
Las infecciones por *C. jejuni* son comúnmente adquiridas por manejo inadecuado de alimentos y consumo de pollo mal cocido, por consumir leche no pasteurizada y agua contaminada. La enfermedad en humanos por *C. jejuni* va desde un cuadro diarreico leve hasta uno muy severo, éste se caracteriza por la presencia de sangre y leucocitos en las muestras de heces.

Tomado de : www.open-access-biology.com/.../konkel.html

1.9.-VÍAS DE TRANSMISIÓN

La infección por *Campylobacter* en el hombre generalmente es transmitido por la convivencia con animales infectados, pero otra persona infectada puede contaminar alimentos y hacer la transmisión de persona a persona por contaminación fecal de alimentos. ⁽¹⁰⁾

Las personas se infectan al consumir alimentos, leche o agua contaminados. Los pollos contaminados son responsables de más de la mitad de las infecciones por *Campylobacter* en

países subdesarrollados. Los productos alimentarios que reducen la acidez gástrica (leche) producen un descenso de la dosis infecciosa. (8)

Se considera que un alto porcentaje de infecciones es provocado por consumo de carne de ave mal cocida o por contaminación cruzada al momento de preparar alimentos. (4)

En el hombre, no se admite el contagio venéreo, sin embargo en las comunidades de homosexuales, es probable que estos microorganismos sean transmitidos sexualmente, en forma análoga a otros agentes de gastroenteritis. (1)

Este microorganismo puede atravesar la barrera placentaria.

En animales, la transmisión se produce a través de la ingestión de agua y alimentos contaminados. (9)

A diferencia de otros agentes de gastroenteritis alimentarias, como *Salmonella* y *Estafilococos*, las *Campylobacterias* no se multiplican en los alimentos.(1)

1.10.-EPIDEMIOLOGIA

La campylobacteriosis es una zoonosis de distribución mundial. Las especies diarreogénicas de *Campylobacter* se encuentran habitualmente como comensales del tracto gastrointestinal de una gran variedad de mamíferos y de aves, tanto domésticos como de vida libre.

La enteritis por *Campylobacterias* se parece a otras diarreas bacterianas agudas, en particular a la disentería por *Shigella*.

Muchos de los casos de enteritis humana han sido asociados al contacto con animales, agua o alimentos de origen animal –especialmente de aves- contaminados con estas bacterias.

En países industrializados, *Campylobacter* es el primer agente de diarrea. La enfermedad es más frecuente en los meses de verano, siendo afectados todos los grupos étnicos de ambos sexos, no encontrándose, habitualmente, portadores sanos (sin embargo se pueden dar casos de portadores).

En países en vías de desarrollo *Campylobacter* es el segundo o tercer agente de diarrea, según sea el lugar geográfico. La enfermedad parece ser más frecuente en niños de corta edad.

C. jejuni y *C. coli* son causas importantes de diarreas agudas en viajeros que visitan zonas en vías de desarrollo. No soportan durante mucho tiempo situaciones de desecación o congelamiento, características que limitan su transmisión. Sobreviven en la leche, otros

alimentos o el agua a 4°C durante una semana. La desinfección con cloro y la pasteurización destruyen estos microorganismos.

De la misma forma que con otros patógenos entéricos, es importante tener presente, para efectos de prevención, la transmisión fecal-oral de persona a persona sobre todo en lactantes, que no controlan esfínteres.

Los brotes originados de una fuente común, por ejemplo, leche no pasteurizada, a veces requieren medidas de salud pública para su control. (4)

Se estima que cada año se producen más de 2 millones de infecciones por *C.jejuni* y que tales infecciones son más frecuentes que las causadas por *Salmonella* y *Shigella* en conjunto. *C. fetus* infecta a individuos ancianos e inmunodeprimidos.(8)

La infección por *Campylobacter* recae en el campo de la medicina veterinaria. Los ganaderos experimentan serias pérdidas económicas como resultado de abortos e infertilidad de bovinos y ovinos infectados. (12)

En México no se conoce con precisión los datos estadísticos debido a que solamente en el Instituto Nacional de la Nutrición (INN) y en el Instituto Nacional de Pediatría (INP) se han publicado estudios estadísticos que señalan que en México el problema es menor que en otros países, sin embargo, debemos estar atentos a los trabajos publicados en otros estados del país para conocer mejor la incidencia de esta enfermedad.

Este padecimiento es más frecuente en niños.(10)

Las especies *C. jejuni* y *C. coli* están reconocidas como causantes de gastroenteritis en el hombre. Su estudio en este aspecto comienza en 1972 y actualmente el interés radica en la identificación y el control de las principales fuentes de infección: carnes de abasto, aves, leche y agua.

Muchas especies del género forman parte de la flora intestinal normal de animales: bovinos, ovinos, cerdo, perros y gatos, aves de corral y de vida libre.

Las aves constituyen el principal reservorio de *C. jejuni*. Es posible encontrarlas en heces y carcasas de aves recién sacrificadas y es probable la contaminación en los huevos. A pesar de ser portadoras del microorganismo, no muestran signos clínicos de la enfermedad.

El ganado porcino es el principal portador de *C. coli*, pudiendo tener además *C. jejuni* como comensal habitual.

En el ganado vacuno es habitual encontrar *C. jejuni* y *C. coli* en sus heces. Durante el sacrificio y la evisceración, se contaminan las canales, aunque es mucho menor que en el caso de las aves y los cerdos. La leche puede contaminarse a partir de las heces y ser causa de

gastroenteritis cuando se la consume sin pasteurizar. Se ha descrito mastitis bovina aunque su frecuencia es baja.

En las carnes de abasto, el nivel de contaminación por *C. jejuni/coli* desciende considerablemente a partir del siguiente día de almacenamiento en refrigeración. Esto es comprensible teniendo en cuenta que la temperatura óptima de desarrollo es alta, 42-43°C requiriendo una temperatura mínima de 32°C para iniciar su multiplicación.

La incidencia de este germen es superior en productos de origen aviar, aún en condiciones de refrigeración, ya que la tasa de contaminación es mucho mayor que en animales de abasto.

Otro alimento de origen animal, vector del microorganismo es la leche cruda contaminada con heces o procedentes de vacas con mastitis por *Campylobacter*.

El agua no potabilizada contaminada también es fuente de infección para el ser humano.

1.11.-DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

MUESTRAS

Las muestras de deposiciones pueden ser tomadas con hisopo rectal o bien por evacuación espontánea, pudiendo mantenerse a temperatura ambiente por algunas horas, evitando su desecación. La refrigeración de las muestras prolonga en algunos días la sobrevivencia del microorganismo. Si es necesario usar un medio de transporte, debe utilizarse el medio Cary Blair modificado por la reducción de la concentración de agar en un 0,12%.

EXAMEN MICROSCOPICO DIRECTO

Las muestras de materia fecal pueden ser examinadas a través de una tinción de Gram utilizando carbol fucsina como colorante de contraste, o por tinción simple con azul de metileno para identificar leucocitos y formas bacilares curvas. La observación en microscopio de contraste de fase o de campo oscuro de bacilos curvos y/o espirilados con gran motilidad en forma circular o de sacacorchos permite un diagnóstico presuntivo rápido cuyo valor predictivo sobrepasa el 85%.

CULTIVO EN MEDIOS SELECTIVOS

Las placas de medios selectivos (agar Skirrow, Virion, Blaser, etc.) se siembran en forma directa con hisopo o con 2-3 gotas de deposiciones acuosas o de una suspensión de ellas y se diseminan por estrías. Se incuban en una atmósfera microaerófila que tenga 5-10% de oxígeno y 3 a 10% de dióxido de carbono y a 42-43°C por 48 horas.

Cuando se pesquisa la presencia de especies no termófilas, la incubación se hace a 37°C, en la misma atmósfera pero prolongando el período de incubación hasta 5 ó 7 días.

Dado que en una diarrea el número de *Campylobacter* es alto, no es necesario realizar enriquecimiento. Se recomienda utilizar medios de enriquecimiento sólo en caso de esperar un bajo número de microorganismos (manipuladores, convalecientes).

METODO DE FILTRACION PARA LA DETECCION DE CAMPYLOBACTER EN HECES (*)

El método se basa en la separación de *Campylobacter* del resto de la flora microbiana presente en las heces, como por ejemplo los coliformes, que quedan retenidos en la superficie de una membrana de celulosa de 0,45 o 0,66 µm; los bacilos que logran transponer la membrana van a depositarse sobre un medio rico con sangre que actuará como sustrato para el crecimiento del microorganismo. De esta manera se obtiene un cultivo selectivo, situación que reemplaza a la adición de antibióticos, para eliminar la flora acompañante. Este método se recomienda para el aislamiento de las especies emergentes (ej. *C. upsaliensis*, *C. jejuni subsp. doylei*).

Procedimiento: Dejar las placas de agar sangre estériles a 37°C por 1 ó 2 horas para facilitar la absorción de líquido. Depositar asépticamente con una pinza los filtros estériles de nitrocelulosa de 0,45 µm sobre la superficie del medio de cultivo. Realizar una suspensión de materia fecal en solución fisiológica (o caldo de cultivo) y con una micropipeta o pipeta Pasteur, depositar de 100 a 200 µl sobre la membrana, evitando de no derramar sobre el medio de cultivo. Dejar que se filtre por un tiempo mínimo de 30 minutos y recargar los filtros nuevamente. Una vez que se ha secado la suspensión

Sobre el filtro, levantarlo con la pinza y desecharlo. Es opcional estriar el filtrado. Acondicionar las placas en jarras para incubar en microaerofilia a 37°C durante 24-48 horas para una primera revisión.

La incubación debe prolongarse hasta 7 días antes de dar por negativa una muestra.

Si la diarrea es acuosa, no es necesario realizar una suspensión en solución fisiológica.

Una vez obtenidas las colonias sospechosas de *Campylobacter*, continuar con los métodos de identificación y tipificación.⁽⁵⁾

ATMOSFERA DE INCUBACION

Existen varios métodos para obtener una atmósfera adecuada para el desarrollo de estos microorganismos.

Reemplazo de una atmósfera normal por una mezcla de gases apropiada: se retira el aire contenido en la jarra anaeróbica con bomba de vacío y se reemplaza por una mezcla conteniendo 85% de nitrógeno, 10% de dióxido de carbono y 5% de oxígeno.

Algunas especies, como *C. hyointestinalis*, requieren de la presencia de hidrógeno para crecer. Sobres generadores de gases especiales para *Campylobacter*: son sobres que se consiguen en el comercio (BBL, Oxoid, Bio-Merieux) que aportan una atmósfera aproximada de 5-10% de oxígeno y 5-12% de dióxido de carbono.

Jarra con vela: la combustión de la vela aporta una atmósfera aproximada de 17-19% de oxígeno y de 2-4% de dióxido de carbono. Con este sistema el aislamiento de *Campylobacter* se mejora si se incluye al medio de cultivo el suplemento FBP que aumenta alrededor de 10 veces la aerotolerancia del microorganismo. Se postula que el rendimiento de este método es mayor a 42-43°C que a 37°C.

TEMPERATURA DE INCUBACIÓN

Las especies termófilas de *Campylobacter* crecen mejor a 42-43°C que a 37°C. La mayor temperatura actúa como inhibidor adicional de la flora fecal.

Si no se cuenta con una estufa a esa temperatura, se puede utilizar una de 37°C con las consideraciones del caso.

EXAMEN DE LAS PLACAS

Para las especies termófilas, el tiempo de incubación ideal es de 48 horas, aunque si el caso lo requiere, se pueden examinar a las 18-24 horas.

MORFOLOGIA COLONIAL

Las colonias sospechosas pueden observarse planas, no hemolíticas de aspecto acuoso, grisáceas, con bordes irregulares y con tendencia a diseminarse por la estría de inoculación. Muchas veces se pueden ver incoloras. Se les debe realizar una identificación presuntiva para su posterior confirmación y tipificación.

IDENTIFICACION PRESUNTIVA

Tinción de Gram: debido a que este microorganismo no se tiñe bien con safranina, se recomienda el uso de carbol fucsina (fucsina fenicada) al 0,8% como coloración de contraste. Teniendo en cuenta la morfología característica, es posible realizar sólo una coloración simple con este colorante.

Catalasa: La enzima catalasa descompone el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno bajo la fórmula $2 H_2O_2 \rightarrow 2 H_2O + O_2$. De esta manera las bacterias se protegen del efecto tóxico del H_2O_2 , que es un producto final del metabolismo aerobio de los azúcares.

Oxidasa: La enzima, citocromo oxidasa es convertida a su forma activa por la transferencia de electrones al oxígeno molecular. En presencia de oxígeno molecular un gran número de electrones pueden ser transferidos por el sistema citocromo oxidasa a una cantidad de compuestos orgánicos, entre ellos a la p-aminodimetilamina. Una reacción positiva se evidencia por el desarrollo de color rojo..

Motilidad: se realiza por microscopía de contraste de fase o campo oscuro donde se observa microorganismos espiralados o con forma de S con movimientos en espiral o en tirabuzón.

IDENTIFICACION FINAL

Hidrólisis del hipurato: Esta prueba se basa en la acción de la enzima hipuricasa sobre el hipurato de sodio lo que produce glicina y ácido benzoico.

La reacción del reactivo (ninhidrina) produce una coloración azul-violeta en contacto con la glicina.

Producción de ácido sulfhídrico: La reacción se basa en la liberación de ácido sulfhídrico por la acción de la enzima cisterna desulfhidrasa sobre los aminoácidos que contienen azufre. Se pone en evidencia por indicadores como sulfato ferroso, tiosulfato de sodio, etc.

Hidrólisis de indoxil acetato: Esta prueba se basa en la hidrólisis del indoxil acetato por medio de esterasas bacterianas, las que actúan sobre el substrato produciendo la liberación de indol.

(⁴) (Ver tabla 3).

PREPARACION DE MUESTRAS PARA ANALISIS DE ALIMENTOS.

Las muestras pueden conservarse refrigeradas y protegidas del aire durante una a tres semanas. Una vez abiertos los envases deben ser analizadas de inmediato, dado que la introducción de oxígeno provoca daño celular.

Carnes de origen bovino, porcino o aviar: sembrar muestras de 25 gr. en 100 ml. caldo de enriquecimiento (Agregar suplemento A y B) . Incubar en atmósfera microaerófila a 37° C durante 3-4 horas, luego incubar a 42°C, durante 24-48 horas. Sembrar en placa de agar selectivo, incubar a 42°C durante 48 horas.

Alimentos congelados: luego de descongelar, sembrar muestras de 25 gr. en 100 ml. de caldo de enriquecimiento, agregar suplemento A, incubar a 32°C durante 3-4 horas en microaerofilia. Agregar suplemento B, incubar a 37°C por 2 horas. Continuar la incubación a 42°C por 24-48 hs.

Suplemento antibiótico A (agregar 5 ml de solución cada 1000 ml de medio base)

Vancomicina 0,1 g.

Trimetoprima 0,1 g.

Agua destilada 50 ml

Suplemento antibiótico B (agregar 5 ml de solución cada 100 ml de medio base)

Cefoperazona 0,032 g.

Cicloheximida 0,1 g. (opcional)

Caldo brucella 50 ml.

Agua: los métodos para aislar *Campylobacter* no están estandarizados y deben ser considerados como procedimientos de investigación. En aguas de escasa turbidez se deben filtrar varios litros (1 a 4) a través de filtros de 47 mm. de diámetro y 0,45 µm de poro. Se coloca el o los filtros en un medio de enriquecimiento selectivo. Se incuba durante 24-48 hs. a 42°C en atmósfera microaerobia. Luego de la incubación se siembra el cultivo en un medio selectivo.

Si el agua es clorada se requiere el agregado de 5 ml de solución de tiosulfato de sodio 1M por litro en el momento de la toma de muestra.

Si se trata de agua de mar o de agua con alto contenido de sales, lavar el filtrado con 100-1000 ml de buffer fosfato estéril.

Campylobacter es sensible a altas concentraciones de sal.

Para aislar *Campylobacter* de ríos, el uso de la tórula o hisopo de Moore también es recomendable. (4)

TABLA 3.

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DEL GÉNERO CAMPYLOBACTER

Microorganismo	Catalasa	Nitratos	Sulfuro de Hidrógeno en TSI	Ureasa	Acetato de Indoxilo	Hipurato
<i>C. coli</i>	+	+	-	-	+	-
<i>C. concisus</i>	-	+	+	-	ND	-
<i>C. curvus</i>	-	+	+	-	+	-
<i>C. fetus subesp. fetus</i>	+	+	-	-	-	-
<i>C. fetus subesp. venerealis</i>	+	+	-	-	-	-
<i>C. gracilis</i>	-	+	-	-	V	-
<i>C. helveticus</i>	-	+	-	-	+	-
<i>C. hyoilei</i>	+	+	+	-	ND	-
<i>C. hyointestinalis subesp. hyointestinalis</i>	+	+	+	-	-	-
<i>C. hyointestinalis subesp. lawsonii</i>	+	+	+	-	-	-
<i>C. jejuni subesp. jejuni</i>	+	+	-	-	+	+
<i>C. jejuni subesp. doylei</i>	V	-	-	-	+	+
<i>C. lari</i>	+	+	-	-	-	-
<i>C. mucosalis</i>	-	+	+	-	-	-
<i>C. rectus</i>	-	+	+	-	+	-
<i>C. showae</i>	+	+	+	-	+	-
<i>C. sputorum bv. bubulus</i>	-	+	+	-	-	-
<i>C. sputorum bv. faecalis</i>	+	+	+	-	-	-
<i>C. sputorum bv. sputorum</i>	-	+	+	-	-	-
<i>C. upsaliensis</i>	- (d)	+	-	-	+	-

CONTINUACIÓN DE LA TABLA 3

Microorganismo	Desarrollo							Sensibilidad	
	25 ° C	37 ° C	42 ° C	Mac Conkey	TMAO 0.1 %	NaCl 1.5 %	Glicina 1 %	Ac. Nalidixico	Cefalotina
<i>C. coli</i>	-	+	+	+	-	-	+	S	R
<i>C. concisus</i>	-	+	C	+	-	+	C	R	R
<i>C. curvus</i>	-	+	+	ND	ND	ND	+	C	S
<i>C. fetus subesp. fetus</i>	+	+	-	+	-	V	+	R	S
<i>C. fetus subesp. venerealis</i>	+	+	-	+	-	V	-	R	S
<i>C. gracilis</i>	ND	+	ND	ND	ND	ND	ND	R	S
<i>C. helveticus</i>	-	+	+	ND	-	ND	ND	S	S
<i>C. hyoilei</i>	ND	+	+	ND	ND	ND	+	S	R
<i>C. hyointestinalis subesp. hyointestinalis</i>	V	+	+	+	+	-	+	R	S
<i>C. hyointestinalis subesp. lawsonii</i>	-	+	+	ND	ND	ND	V	R	ND
<i>C. jejuni subesp. jejuni</i>	-	+	+	+	-	-	+	S	R
<i>C. jejuni subesp. doylei</i>	-	+	D	ND	-	-	+	S	S
<i>C. lari</i>	-	+	+	+	+	+	+	R	R
<i>C. mucosalis</i>	C	+	+	+	C	C	C	C	S
<i>C. rectus</i>	-	+	D	ND	ND	ND	+	S	S
<i>C. showae</i>	-	+	+	ND	ND	ND	V	R	S
<i>C. sputorum bv. bubulus</i>	-	+	C	-	+	+	+	R	S
<i>C. sputorum bv. faecalis</i>	-	+	+	+	+	+	+	R	S
<i>C. sputorum bv. sputorum</i>	-	+	+	+	C	+	+	V	S
<i>C. upsaliensis</i>	-	+	+	-	-	-	C	S	S

* Sensibilidad a antibióticos con discos de 30 µg. +, 90 % o más de las cepas positivas; -, 90 % p más de las cepas negativas; V, 11% - 89 % de las cepas positivas; D, reacción débil; ND, no se dispone de resultados; C, datos contradictorios en la bibliografía; R, resistente, S, sensible; TMAO, óxido de trimetilamina. Las áreas sombreadas indican reacciones clave.

Tomado de (7)

1.12.-TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

Estas bacterias son susceptibles a una amplia variedad de antibióticos, entre los que se incluyen Eritromicina, Tetraciclina, aminoglucósidos, cloranfenicol y clindamicina.

La mayoría de los aislamientos se muestran resistentes a penicilinas, cefalosporinas y sulfamidas; debido a que es Gram negativo.

La Eritromicina es el antibiótico de elección y se usa para tratar la enteritis cuando se considera indicado, para las infecciones sistémicas se emplea en general un aminoglucósido.

(⁸)

El fármaco de elección para las endocarditis y las infecciones extraintestinales graves, es la Gentamicina; para el resto de formas extraintestinales, la Tetraciclina, y para los cuadros del SNC, el cloranfenicol. (⁹)

Se han informado recidivas luego de tratamientos de corta duración. (¹²)

La gastroenteritis por *Campylobacter* se evita mediante la preparación correcta de los alimentos, en particular los pollos, el consumo de leche pasteurizada y las precauciones para prevenir la contaminación del suministro de agua. No es probable que se consiga eliminar el reservorio animal de *Campylobacter*. (⁸)

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Campylobacter en humanos es adquirido principalmente a través de alimentos contaminados de origen animal, pero también se da el contagio de persona a persona. Esto se ha demostrado a través del estudio de diferentes tipos de muestras (alimentos y heces) que producen enfermedad siguiendo diferentes investigaciones.

Esta investigación forma parte de una red de vigilancia epidemiológica denominado proyecto RESISVET en colaboración con FUNSALUD, FDA y USDA, en la que se buscan enteropatógenos en alimentos, animales y humanos. Donde se buscarán los géneros *Campylobacter sp* y *jejuni*, *Salmonella sp*, y *Escherichia coli*, como indicador epidemiológico de prevalencia y resistencia bacteriana.

Este estudio se realiza en cuatro estados de la República Mexicana: Yucatán; San Luís Potosí; Michoacán y Sonora.

El presente estudio se realiza para conocer el patrón de prevalencia de cepas de *Campylobacter jejuni* y otras especies aisladas de muestras diarreicas de humanos, carnes crudas de pollo, res y puerco en el estado de Michoacán.

En esta investigación se hará el aislamiento de *Campylobacter* de tres tipos de carne: pollo, res y puerco ya que son los principales reservorios de este patógeno humano, contaminando los productos alimentarios derivados de animales durante la matanza y el procesamiento.

Desde que la mayoría de los laboratorios de investigación de Europa y Norteamérica comenzaron a procesar las muestras de heces en pacientes con diarrea específicamente para el aislamiento de *Campylobacter*, se demostró que es el agente etiológico más común de gastroenteritis. Esto ha tenido un gran impacto de salud pública debido a que la transmisión de la enfermedad se lleva a cabo por varias causas dentro de las cuales están: la contaminación fecal de los alimentos, el contagio por convivencia directa con animales (principalmente aves), por consumo de carne mal cocida o por contaminación cruzada al momento de preparar los alimentos. Ha sido difícil prevenir la enfermedad por *Campylobacter* debido a las malas prácticas higiénicas teniendo como resultado una cada vez mayor incidencia de gastroenteritis a causa de este patógeno. ⁽¹⁾

Se desconoce la incidencia real de infecciones por *Campylobacter*, puesto que la enfermedad no se declara de forma sistemática a las autoridades sanitarias. Sin embargo, se ha estimado que cada año se producen más de 2 millones de infecciones por *C. jejuni* y que tales infecciones son más frecuentes que las causadas por *Salmonella* y *Shigella* en conjunto. ⁽¹²⁾

En México no se conocen con precisión los datos estadísticos de la incidencia de *Campylobacter* ya que se han publicado pocos estudios sobre este tema, de aquí la importancia de esta investigación.

III. JUSTIFICACIÓN

III. JUSTIFICACIÓN.

Campylobacter es uno de los aislamientos bacterianos más comunes asociados con enfermedad producida por alimentos en países industrializados como Estados Unidos de Norteamérica, Inglaterra, Holanda, Japón y otras naciones. El número anual de casos detectados excede los casos de salmonelosis declarados en muchos países europeos.

En varios países de la unión europea el impacto de la campylobacteriosis en la salud pública se valoro de varias maneras. En los Países Bajos, la carga sanitaria de infecciones por especies termofílicas de *Campylobacter* se ha evaluado mediante el uso de Años de vida ajustados por discapacidad (Disability Adjusted Life Year; DALY). DALY es la suma de los Años de vida perdidos por mortalidad prematura y los Años vividos con discapacidad, ponderada con el factor entre 0 y 1 para la gravedad de la enfermedad. Los principales determinantes de la carga sanitaria fueron gastroenteritis aguda en la población general, mortalidad asociada a la gastroenteritis y síntomas residuales de Síndrome de Guillan- Barre (GBS). La carga sanitaria de enfermedades asociadas a *C. jejuni* en la población holandesa se estimó en un rango de 1000 a 2000 DALYs por año. (¹⁵)

Otro ejemplo interesante es el de una epidemia de campylobacteriosis humana doméstica ocurrida en Islandia en 1998-1999, que alcanzó un pico de 158 casos/100.000 habitantes. La causa de la epidemia se debió principalmente a un mayor consumo de pollo fresco. En 1999 y 2000 se adoptaron activamente medidas de prevención lo que dio como resultado en el año 2001 una reducción del 72% en los casos domésticos de *Campylobacter*, lo que demuestra la eficacia de las intervenciones.

En España la incidencia del *Campylobacter sp.*, es alta, sobretodo la del *C. jejuni*, solo superado por las notificaciones de *Salmonella sp.* (Suma de todas las *Salmonellas* entéricas). Por lo que se han realizado estudios de prevalencia llevados cabo por el programa de seguridad microbiológica cuyos resultados fueron que de 567 muestras de carne de pollo, 374 fueron positivas esto equivale al 66% del total de las muestras.

En Suiza la Oficina Federal de Salud Pública (OFSP), se ocupa del censo de las enfermedades infecciosas; informa de la epidemiología del *Campylobacter sp.*, con la declaración de las

enfermedades infecciosas de transmisión fecal-oral. Esta oficina informo que en el año 2000 hubo 7435 casos de Campilobacteriosis y solamente 3015 casos de Salmonelosis dato que sorprende a dicha oficina.

En Inglaterra y el país de Gales los casos de gastroenteritis por *Campylobacter sp.*, han ido aumentando de forma notoria. El Centro de Vigilancia de las Enfermedades Transmisibles (CDSC), reporto que en el año 2000 se detectaron 54987 casos de campylobacteriosis lo que represento un grave problema de salud pública. Estos países tienen la mayor tasa de prevalencia de *Campylobacter* de la Unión Europea.

En Estados Unidos, los resultados obtenidos por el CDC muestran que el *Campylobacter sp.*, es una de las causas más frecuentes de gastroenteritis aguda con tasas de incidencia de 100 casos/100.00 Habitantes. Se calcula que se producen entre 2.1 y 2.4 millones de casos al año, con aproximadamente 125 muertos al año.

En Japón según las Notificaciones de la División Sanitaria Alimentaria del Ministerio de Salud tenemos que el *Campylobacter sp.* es la cuarta causa de intoxicación causada por alimentos, va detrás solo de las infecciones causadas por *Salmonella sp.*, *Vibrio parahemolítico* y *Staphylococcus aureus*.

En Australia tenemos las notificaciones realizadas por las Autoridades de Salud Estatales y Territoriales (NNDSS), que reportan que en el año 2000 tuvieron 13455 casos de Campylobacteriosis. ⁽¹⁶⁾

En América Latina, según los datos de la Organización Panamericana de Salud (OPS), no se han encontrado casos declarados de *Campylobacter sp.*, sino enfermedades diarreicas agudas. Contrariamente, el CDC implica al *Campylobacter sp.*, como uno de los patógenos más frecuentes aislados en diarreas en niños, sobretodo en Centro y Sudamérica, en leche no pasteurizada, carne de pollo y aguas no cloradas como los alimentos más implicados. Esto muestra las deficiencias o la falta de metodología e infraestructura que se tienen en algunos países del sur del continente americano para aislar el *Campylobacter*.

En la mayoría de los países de Sudamérica no se poseen estudios sobre *Campylobacter* en carnes de aves ni productos cárnicos para consumo humano, por lo que no se tiene la tasa de ataque del germen.

En México se han realizado pocos estudios acerca del *Campylobacter sp.*, como causa de gastroenteritis, sin embargo, hay reportes de que es la segunda causa de enteritis en lactantes y preescolares apenas por debajo de las infecciones por rotavirus. (¹⁷)

Una vez teniendo el marco teórico de lo que pasa a nivel mundial con las medidas preventivas que han adoptado los diferentes países en el mundo para combatir al *Campylobacter*, se observa que en México no hay estudios recientes acerca del mismo y que realmente es de importancia conocer la situación actual del *Campylobacter* en Michoacán y por lo tanto en el país.

IV. OBJETIVOS

IV. OBJETIVOS.

GENERAL. Conocer la prevalencia de *Campylobacter sp* aislado de heces de humanos, rastros y carne cruda de pollo, puerco y res en el estado de Michoacán.

ESPECIFICOS.

1. Determinar la frecuencia de aislamientos de *Campylobacter jejuni* en heces de humanos, rastros y carne cruda de pollo, puerco y res en localidades del Estado de Michoacán.
2. Determinar la frecuencia de aislamientos de *Campylobacter sp.* en heces de pacientes sanos en edad preescolar y pacientes sintomáticos de diferentes edades en localidades del Estado de Michoacán.
3. Determinar la prevalencia de aislamientos de *Campylobacter sp* en carnes de pollo, puerco y res, obtenidas de mercados, carnicerías y supermercados de localidades del Estado.
4. Determinar la prevalencia de *Campylobacter sp.*, en intestinos de pollo, puerco y res obtenidos de rastros del Estado de Michoacán.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

V.- MATERIAL Y MÉTODOS

5.1.- SELECCIÓN DEL UNIVERSO DE ESTUDIO.

MUESTREO DE INTESTINOS: De Agosto del 2004 a Diciembre del 2005, se procesaron 565 muestras; 225 de pollo, 170 de puerco y 170 de res. De agosto del 2004 a julio del 2005 se procesaron 30 muestras de intestinos por mes; 10 de pollo, 10 de res y 10 de puerco. De agosto a diciembre del 2005 se procesaron 40 muestras de intestinos por mes; 20 de pollo, 10 de res y 10 de puerco, adquiridas en rastros municipales de diferentes poblaciones del estado.

MUESTREO DE CARNES: De Agosto del 2004 a Junio del 2004, se procesaron 570 muestras; 190 de pollo, 190 de puerco y 190 de res. De agosto del 2004 a diciembre del 2005 se procesaron 42 muestras de carnes por mes; 14 de pollo, 14 de res y 14 de puerco, adquiridas en carnicerías y mercados municipales de diferentes poblaciones del estado.

MUESTREO DE HECES (HUMANOS): De Agosto del 2004 a Diciembre del 2005, se procesaron 546 muestras de materia fecal de niños asintomáticos menores de 6 años, adquiridas en kinders de diversas poblaciones del estado.

De Agosto del 2004 a Diciembre del 2005, se procesaron 183 muestras diarreicas de pacientes enfermos de diferentes edades tanto del Hospital Infantil “Eva Sámano de López Mateos” SSM y como del Hospital General “Dr. Miguel Silva “SSM de Morelia Michoacán.

5.2.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Las muestras de los supermercados deben recibirse en paquetes sellados, no abiertos, las muestras de la carne de mercados y carnicerías deben estar en bolsas de plástico nuevas.
- Las muestras se deben trasportar a una temperatura de 0-4 ° C (para evitar la multiplicación excesiva de bacterias).

5.3.- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- No se procesarán muestras congeladas.

5.4.- MATERIAL BIOLÓGICO:

Trabajaremos con muestras de humanos, rastros y carne cruda de pollo, puerco y res.

Muestras de humanos: Se trabajará con heces de niños sanos y con muestras diarreicas.

Rastros: Se trabajará con intestino de res, puerco y pollo.

Carne cruda: Generalmente se adquieren las siguientes piezas de pollo: pierna, ala, muslo, pechuga, rabadilla y guacal. De la carne de res: bistec, chuleta, bola, trozo, carne molida. De la carne de puerco: bistec, chuleta, trozo, carne molida.

5.5.- PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS:

a) Rastros:

En el mes de Agosto del 2004 se procesaron intestinos del rastro municipal de Zinapécuaro. En septiembre del 2004 las muestras fueron del rastro municipal de Villa Morelos. En octubre del 2004 las muestras fueron del rastro municipal de Tarímbaro. En noviembre del 2004 las muestras fueron del rastro municipal de Huandacareo. En diciembre del 2004 las muestras fueron del rastro municipal de Chucándiro. En el mes de enero del 2005 se procesaron intestinos del rastro municipal de Álvaro Obregón. . En febrero del 2005 las muestras fueron del rastro municipal de Santa Ana Maya. En marzo del 2005 las muestras fueron del rastro municipal de Zacapú. En abril del 2005 las muestras fueron del rastro municipal de Pátzcuaro. En Mayo del 2005 las muestras fueron del rastro municipal de Coeneo. En junio del 2005 las muestras fueron del rastro municipal de Quiroga. En julio del 2005 las muestras fueron del rastro municipal de Ixtlán. De agosto a diciembre del 2005 las muestras fueron del rastro frigorífico de Morelia.

b) Carnes:

En el mes de Agosto del 2004 se procesaron carnes del mercado municipal y varias carnicerías de Zinapécuaro. En septiembre del 2004 las muestras fueron del mercado municipal y varias carnicerías de Villa Morelos. En octubre del 2004 las muestras fueron de varias carnicerías de Tarímbaro. En noviembre del 2004 las muestras fueron de varias carnicerías de Huandacareo. En diciembre del 2004 las muestras fueron del mercado municipal y varias carnicerías de Chucándiro. En el mes de enero del 2005 se procesaron

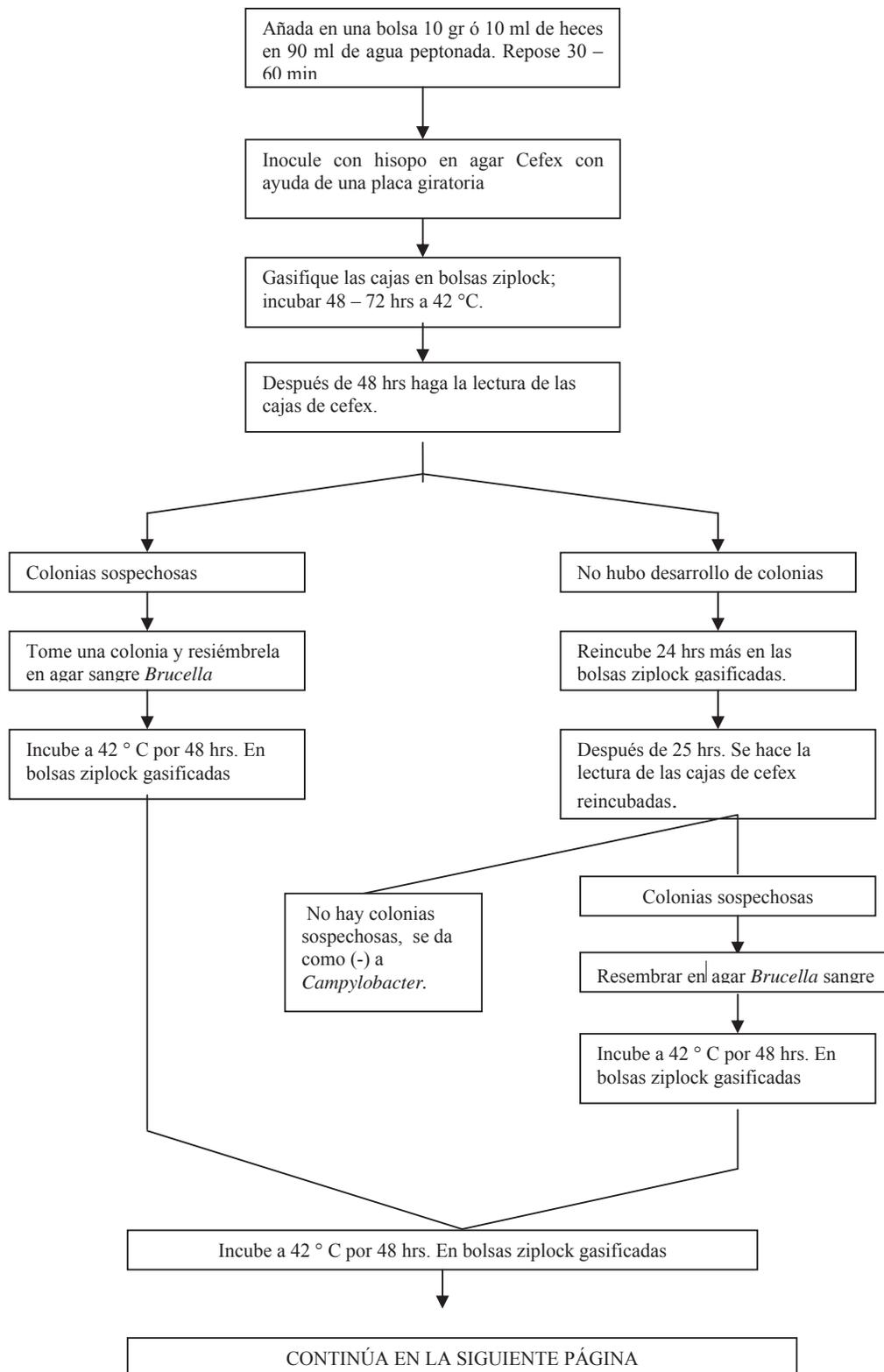
carnes del mercado municipal y varias carnicerías de Álvaro Obregón. En febrero del 2005 las muestras fueron del mercado municipal y varias carnicerías de Santa Ana Maya. En marzo del 2005 las muestras fueron del mercado municipal y varias carnicerías de Zacapú. En abril del 2005 las muestras fueron del mercado municipal y varias carnicerías de Pátzcuaro. En Mayo del 2005 las muestras fueron del mercado municipal y varias carnicerías de Coeneo. En junio del 2005 las muestras fueron del mercado municipal y varias carnicerías de Quiroga. En julio del 2005 las muestras fueron del mercado municipal y varias carnicerías de Ixtlán. En agosto del 2005 las muestras fueron del mercado municipal y varias carnicerías de Morelia. En septiembre y octubre del 2005 las muestras fueron del mercado de San Juan de Morelia. En noviembre del 2005 las muestras fueron del mercado del Santo Niño de Morelia. En diciembre del 2005 las muestras fueron del mercado del Auditorio de Morelia.

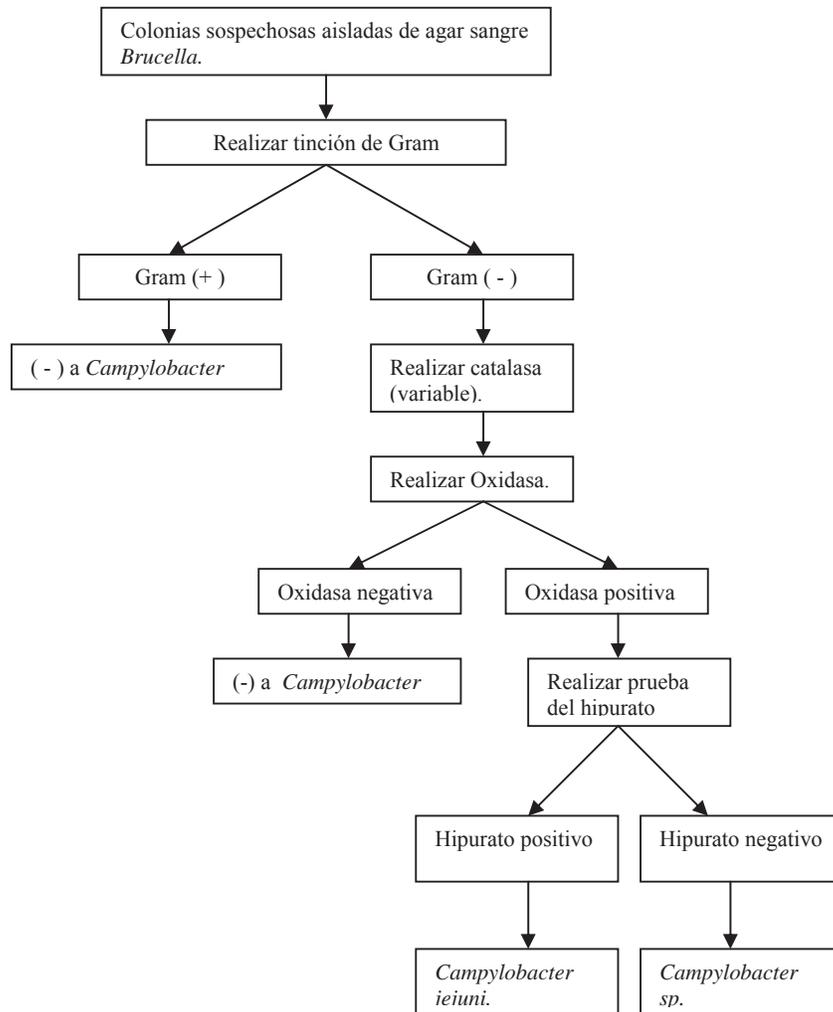
c) Humanos:

En el mes de Agosto del 2004 se procesaron heces fecales de niños asintomáticos de un kinder de Zinapécuaro. En septiembre del 2004 las muestras fueron de un kinder de Villa Morelos. En octubre del 2004 las muestras fueron de un kinder de Tarímbaro. En noviembre del 2004 las muestras fueron de varios kinders de Huandacareo. En diciembre del 2004 las muestras fueron de un kinder Chucándiro. En el mes de enero del 2005 se procesaron heces fecales de niños asintomáticos de un kinder de Álvaro Obregón. . En febrero del 2005 las muestras fueron de un kinder de Santa Ana Maya. En marzo del 2005 las muestras fueron de un kinder de Zacapú. En abril del 2005 las muestras fueron de un kinder de Pátzcuaro. En Mayo del 2005 las muestras fueron de un kinder de Coeneo. En junio del 2005 las muestras fueron de un kinder de Quiroga. En julio del 2005 las muestras fueron de un kinder de Ixtlán. De agosto a diciembre del 2005 las muestras fueron de un kinder de Morelia.

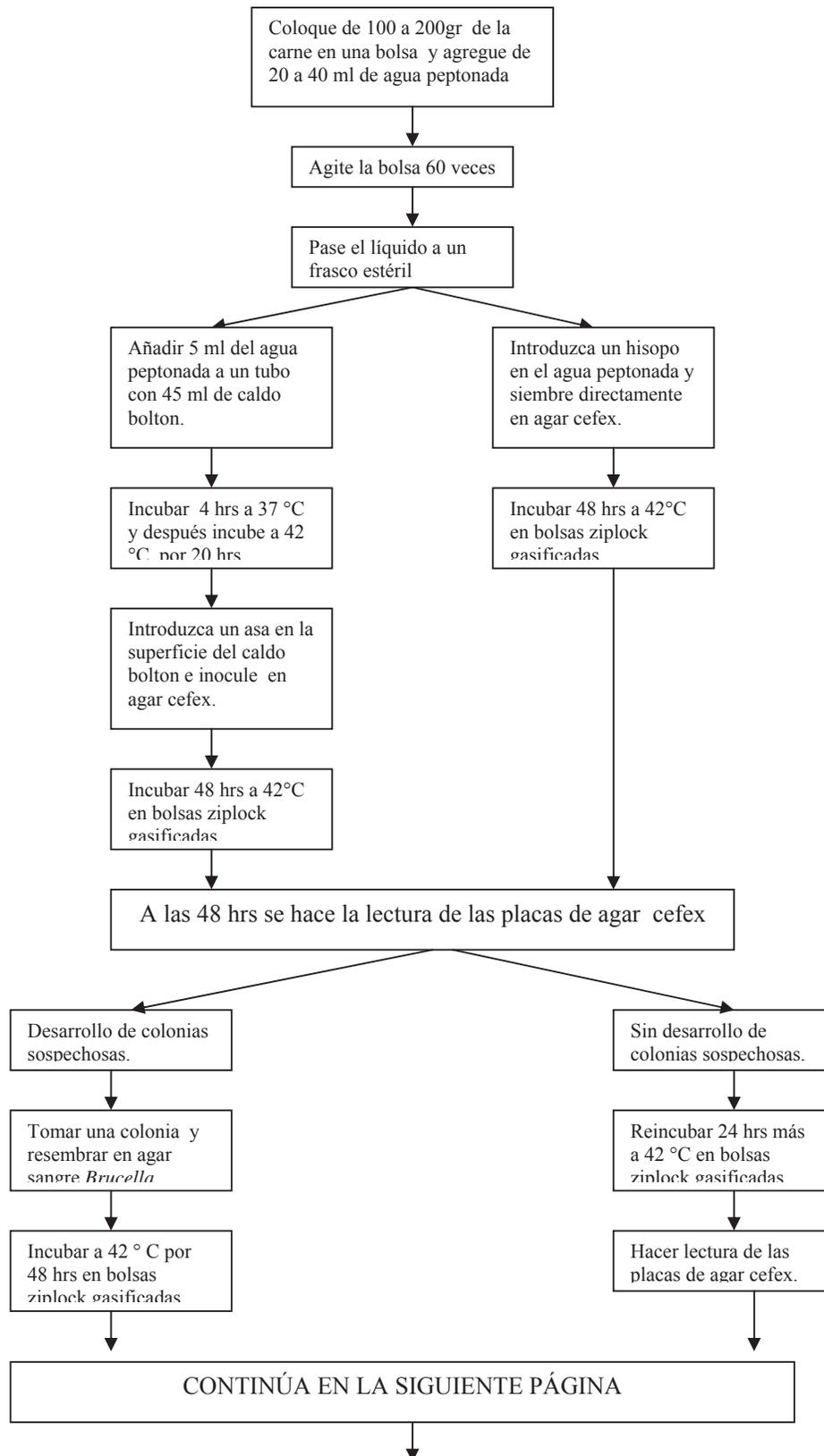
5.6.- ESQUEMAS DE PROCEDIMIENTO

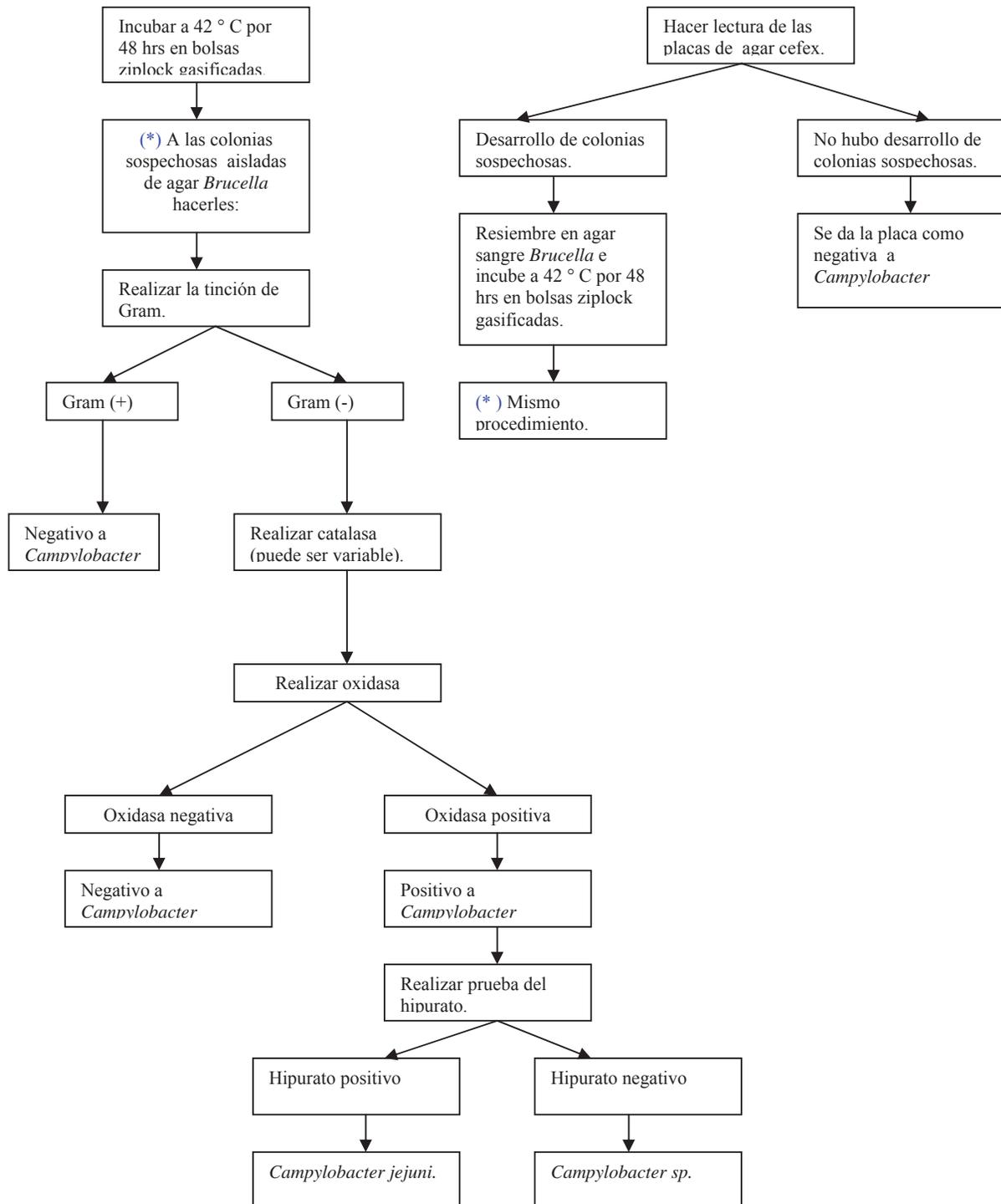
GUÍA PARA SIEMBRA DE HECES DE NIÑOS SANOS Y MUESTRAS DIARRÉICAS



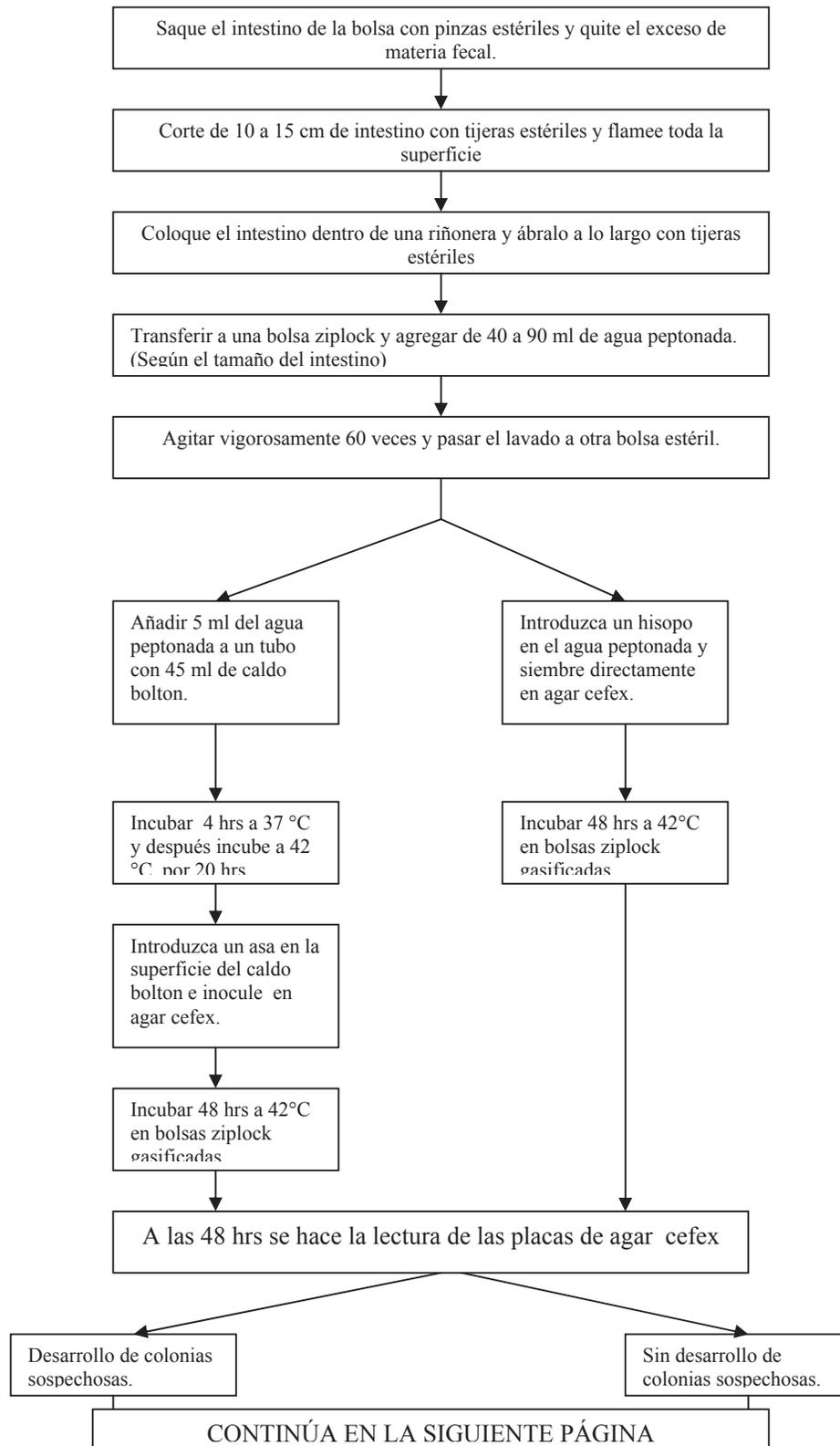


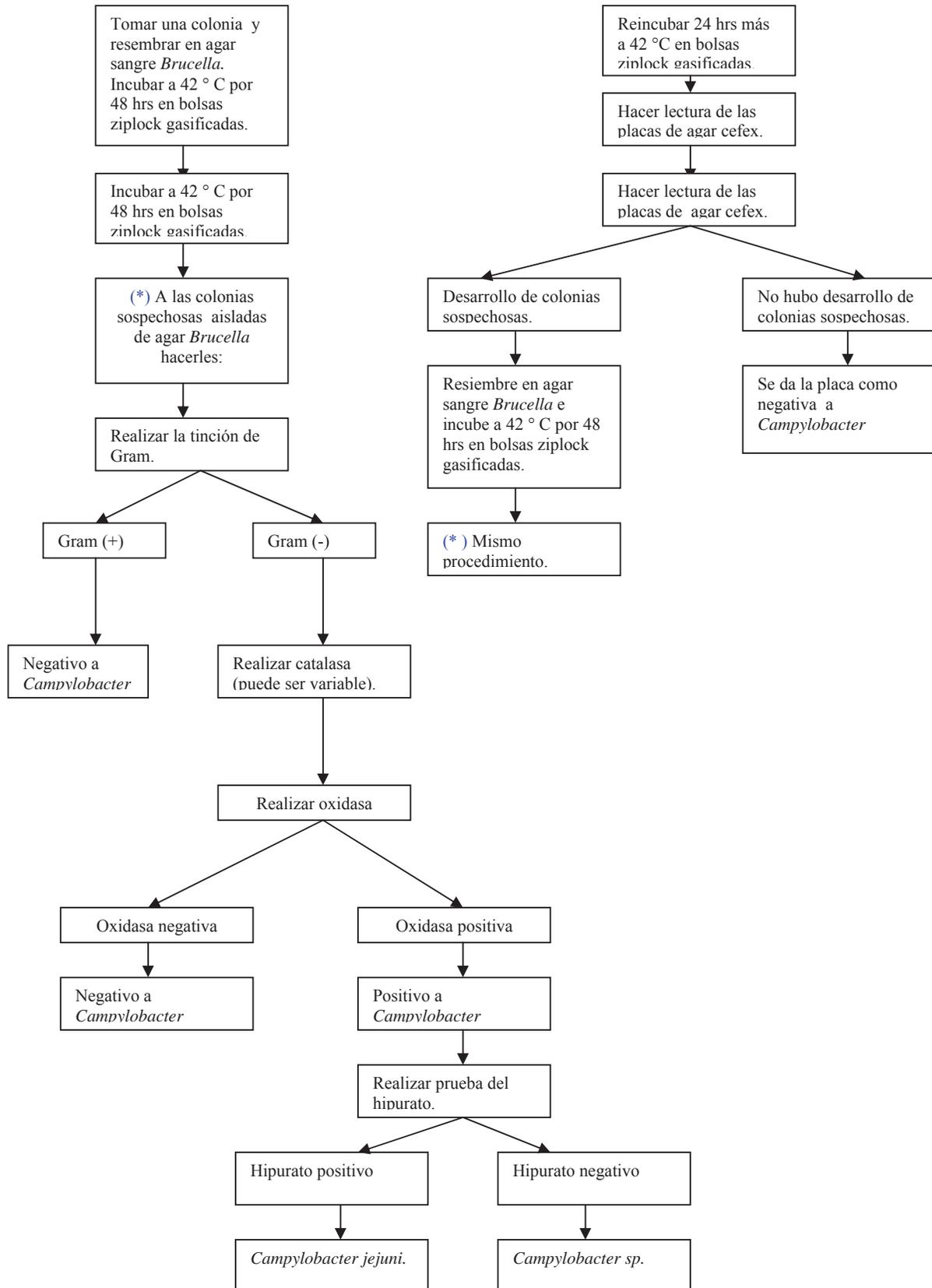
GUÍA PARA SIEMBRA DE CARNE EN TROZO Y CARNE MOLIDA DE POLLO, RES Y PUERCO.





GUÍA PARA LA SIEMBRA DE INTESTINOS DE RES, PUERCO Y POLLO EN RASTROS





VI. RESULTADOS

VI. RESULTADOS

Se aislaron un total 366 cepas de *Campylobacter* de las cuales 269 fueron de rastros, 76 de carnes y 21 de humanos.

a) RASTROS.

El porcentaje de recuperación de cepas de *Campylobacter* en rastros fue de **269 cepas/565 muestras (47.61%)**. (Grafica No.1)

De las 565 muestras de intestinos adquiridas se aislaron e identificaron 269 cepas de *Campylobacter*; **139/269** de pollo con un **porcentaje de aislamiento de 61.77%**, de las cuales 71 cepas se identificaron como *Campylobacter jejuni* y 68 como *Campylobacter sp*; **53/269** de res con un **porcentaje de aislamiento de 31.17%**, de las cuales 39 se identificaron como *Campylobacter jejuni* y 14 como *Campylobacter sp* y **77/269** de puerco con un **porcentaje de aislamiento de 45.29%**, de las cuales 37 cepas se identificaron como *Campylobacter jejuni* y 40 como *Campylobacter sp*. (Tabla No. 1 y 4).

Los rastros muestreados donde se recuperaron cepas de *Campylobacter* de intestinos de pollo, res y puerco fueron: 13/269 cepas (4.83 %) en Zinapécuaro, 18/269 cepas (6.69%) en Villa Morelos, 10/269 cepas (3.717 %) en Tarímbaro, 20/269 cepas (7.435%) en Huandacareo, 3/269 cepas (1.115 %) en Chucándiro, 25/269 cepas (9.293%) en Álvaro Obregón, 10/269 cepas (3.717 %) en Santa Ana Maya, 20/269 cepas (7.435 %) en Zacapú, 11/269 cepas (4.089 %) en Pátzcuaro, 10/269 cepas (3.717%) en Coeneo, 7/269 cepas (2.602 %) en Quiroga, 6/269 cepas (2.23 %) en Ixtlán y 116/269 (43.122 %) en Morelia. (Tabla No. 7).

b) CARNES.

El porcentaje de recuperación de cepas de *Campylobacter* en carnes fue de **76 cepas/570 muestras (13.33%)**. (Gráfica No.2)

Se aislaron e identificaron 76 cepas de *Campylobacter*; **73/76** de pollo con un **porcentaje de aislamiento 38.42%**, de las cuales 24 cepas se identificaron como *Campylobacter jejuni* y 49 como *Campylobacter sp*; **3/76** de res con un **porcentaje de aislamiento de 1.57 %**, de las cuales 2 cepas se identificaron como *Campylobacter jejuni* y una como *Campylobacter sp* y finalmente de puerco no hubo ningún aislamiento (Tabla No.2 y 5)

Las localidades de donde se recuperaron cepas de *Campylobacter* de carnes crudas de pollo, res y puerco fueron: 10/76 cepas (13.157 %) en el mercado municipal de Zinapécuaro, 5/76 cepas (6.578%) en el mercado municipal de Villa Morelos, 10/76 cepas (13.157 %) en varias carnicerías de Huandacareo, 6/76 cepas (7.895 %) en las carnicerías del mercado municipal de Chucándiro, 2/76 cepas (2.631 %) en el mercado municipal de Álvaro Obregón, 10/76 cepas (13.157 %) en el mercado municipal de Santa Ana Maya, 1/76 cepas (1.316 %) en el mercado municipal de Zacapú, 10/76 cepas (13.157%) en el mercado municipal de Ixtlán, 22/76 (28.947 %) en los siguientes lugares: Mercado de Independencia, Mercado Revolución, Mercado del Santo Niño y el Mercado del Auditorio Municipal, todos éstos de la ciudad de Morelia. (Tabla No. 8)

c) HUMANOS.

El porcentaje de recuperación de cepas de *Campylobacter* en heces fecales de niños asintomáticos en kinders fue de **21 cepas/ 546** muestras con un **porcentaje de aislamiento de 3.846%**. (Gráfica No.3) y (Tabla No. 3).

De las 21 cepas positivas en humanos, 16 cepas fueron identificadas como *Campylobacter jejuni* y 5 como *Campylobacter sp.* (Tabla No. 6).

Los kinders donde se recuperaron cepas de *Campylobacter* fueron: 1/21 cepas (4.762 %) de un kinder de la localidad de Álvaro Obregón, 2/21 cepas (9.523 %) de un kinder de la localidad de Santa Ana Maya, 1/21 cepas (4.762 %) de un kinder de la localidad de Zacapú, 9/21 cepas (42.857%) de un kinder de la localidad de Zinapécuaro, 1/21 cepas (4.762 %) de un kinder de la localidad de Villa Morelos, 3/21 cepas (14.285 %) de un kinder de la localidad de Tarímbaro, 2/21 cepas (9.523 %) de un kinder de la localidad de Huandacareo, 2/21 cepas (9.523 %) de un kinder de la localidad de Chucándiro. (Tabla No. 9)

De las 183 muestras diarreicas de pacientes enfermos no se obtuvo ninguna cepa de *Campylobacter*, por lo que el porcentaje de recuperación es de cero.

VII. DISCUSIÓN

VII. DISCUSION.

A lo largo de los 16 meses en que se realizó este estudio con respecto a la prevalencia de *Campylobacter sp.*, aislado de carne e intestinos de pollo, puerco y res, en diferentes poblaciones del estado de Michoacán se observó que el porcentaje de recuperación para carnes fue de 13.33 % y para intestinos fue de 47.61 % estos resultados son significativos ya que están acordes con diferentes estudios realizados a nivel mundial en los cuales se reportan aumentos en el aislamiento de este microorganismo.

El porcentaje de recuperación de cepas de intestinos de pollo, res y puerco, fue mayor en intestinos de pollo (61.77%), esto se debe a que *Campylobacter sp.*, es flora normal de los intestinos de pollo y rara vez causa infección a los mismos.

En intestinos de puerco y res el porcentaje de recuperación de cepas fue de 45.29 % y 31.17 % respectivamente, es menor que en intestinos de pollo esto puede deberse a que a que estos animales no son reservorio del *Campylobacter*.

El porcentaje de recuperación de cepas de carne de pollo, res y puerco, fue mayor en carne de pollo (38.42%) esto pudo deberse a que *Campylobacter sp.*, puede diseminarse desde el contenido intestinal a las canales, observándose que el fenómeno de proliferación es notable en mataderos y salas de despiece, cuando el saneamiento de las mismas no es correcto y diario, además la carne puede contaminarse durante el proceso de desplumado y evisceración con el agua del escaldado. También el no conservar la carne en refrigeración favorece la proliferación del microorganismo.

En carne de puerco y res el porcentaje de recuperación de cepas fue de 0% y 1.57% respectivamente, es mucho menor que en carne de pollo, aunque los riesgos de contaminación durante los procedimientos de arreglo de los canales son muchos (por ejemplo el quedar contaminados con sus propios microorganismos procedentes de sus intestinos). Sin embargo no se obtuvo un número elevado de cepas esto puede deberse a el proceso de refrigeración posterior al sacrificio que evita la multiplicación de *Campylobacter* en los canales, y su eliminación por las bajas temperaturas.

El porcentaje de recuperación de cepas en humanos fue bajo, ya que solo hubo recuperación en las muestras de los preescolares sanos correspondiente al 3.846%, en las 183 muestras de pacientes enfermos sintomáticos no se logro recuperar ninguna cepa de *Campylobacter sp.*, esto puede deberse a que en los países en vías de desarrollo incluido México y por lo tanto Michoacán, puede decirse que la presencia de este microorganismo en la población infantil es baja, probablemente algunos de estos infantes pueden ser portadores asintomáticos del *Campylobacter*.

Por lo anterior se puede decir que en Michoacán no se tiene el problema de salud que si presentan otros países de primer mundo como los Países de la Unión Europea, Estados Unidos o Japón, en donde se tienen redes de vigilancia epidemiológica para la detección de gastroenteritis producidas por *Campylobacter* y otros microorganismos.

En este estudio se observó que no hubo recuperación de *Campylobacter* en muestras de pacientes enfermos sintomáticos lo cual no se encuentra acorde a los resultados obtenidos en la Unión Europea y en Estados Unidos, los cuales si han aislado al *Campylobacter* de muestras diarreicas y han demostrado que este microorganismo es el causante principal de esta enfermedad por arriba de la *Salmonella*.

En las muestras de intestinos de pollo, res y puerco se pudieron identificar 147 cepas de *Campylobacter jejuni* que corresponden al 54.65% del total de cepas aisladas lo cual coincide aproximadamente con los reportes encontrados en la literatura.

En las muestras de carne de pollo, res y puerco se pudieron identificar 24 cepas de *Campylobacter jejuni* que corresponden al 31.6% del total de cepas aisladas, este porcentaje es aceptable y se encuentra acorde a lo reportado en la literatura.

En las muestras de preescolares no sintomáticos se pudieron identificar 16 cepas de *Campylobacter jejuni* que corresponden al 76.2% del total de cepas aisladas, al parecer esta es la especie que mas afecta a los humanos a nivel mundial, ya que es la especie que más reporta la literatura como causante de diarreas agudas (gastroenteritis).

VIII. CONCLUSIONES

VIII. CONCLUSIONES.

En el estado de Michoacán existe una alta prevalencia de *Campylobacter sp.*, en intestinos de pollo, res y puerco, sobretodo en los intestinos de pollo ya que el porcentaje de recuperación fue del 61.77%.

La especie que más se presenta en los intestinos de pollo en Michoacán es el *Campylobacter jejuni* ya que se encontró en el 54.65% del total de las cepas aisladas lo cual esta acorde con lo descrito en la literatura.

La tasa de recuperación en intestinos de pollo, res y puerco esta acorde con los resultados de las investigaciones reportadas a nivel mundial.

La carne de pollo en Michoacán tiene la mayor incidencia de *Campylobacter sp.*, por arriba de la carne de res y puerco con un porcentaje de recuperación del 38.42%.

En Michoacán la carne de res tiene una tasa baja de aislamiento de cepas de *Campylobacter sp.*, con un porcentaje de recuperación del 1.57%.

En la carne de puerco analizada en esta investigación no se pudo aislar ni una sola cepa de *Campylobacter sp.*, lo que puede sugerir que en Michoacán este tipo de carne esta libre de este microorganismo.

El porcentaje de recuperación de cepas de *Campylobacter sp.*, en muestras de preescolares que no presentaban el cuadro clínico característico de la enfermedad fue bajo apenas del 3.846% lo que indica que este grupo en Michoacán no es tan susceptible de enfermarse a causa de este microorganismo debido posiblemente a que son portadores asintomáticos.

La especie más frecuente aislada de muestras de preescolares sanos asintomáticos en Michoacán fue el *Campylobacter jejuni* ya que se encontró en el 76.2% del total de las cepas aisladas lo cual corresponde a los reportes hechos a nivel mundial.

En las 183 muestras de pacientes sintomáticos no se logró aislar ni una sola cepa de *Campylobacter sp.*, lo que nos dice que en la ciudad de Morelia este agente infeccioso no figura dentro de las principales causas de gastroenteritis. Lo anterior puede deberse a la buena aplicación de las medidas de control del microorganismo.

Debido a las dificultades técnicas para aislar este microorganismo, ya que exige medios selectivos, necesidad de microaerofilia y determinadas temperaturas para su crecimiento se puede decir que los métodos utilizados en este trabajo obtuvieron buenos resultados en el aislamiento de cepas de *Campylobacter sp.*

RECOMENDACIONES.

Las medidas de control que podríamos tomar para hacer disminuir la incidencia del *Campylobacter sp.*, podrían ser las siguientes: canales de pollo a 4°C, no romper la cadena del frío, establecimiento de un método oficial o de referencia para el aislamiento del *Campylobacter sp.*, vigilancia y control de los establecimientos alimentarios que elaboran, manipulan y distribuyen alimentos, es decir, fomentar e impulsar los Sistemas de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos, APPCC; la educación sanitaria de los manipuladores de los alimentos y de las amas de casa (muchos de los casos se producen en el domicilio particular, sobretodo al cocer alimentos en el microondas, donde no quedan cocidos en su totalidad), consumo de pollos libres de *Campylobacter sp.*

IX. ANEXOS

IX. ANEXOS.

ANEXOS I. ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL PRESENTE TRABAJO.

AMP: Monofosfato de Adenosin

cm: Centímetros.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

FBP: Suplemento formado por sulfato ferroso
heptahidratado, metabisulfito de sodio y
piruvato de sodio.

FDA: Food and Drug Administration.

°C: Grados centígrados.

gr: Gramos.

INN: Instituto Nacional de Nutrición.

INP: Instituto Nacional de Pediatría.

LPS: Lipopolisacárido.

M: Molar.

min.: Minuto.

ml: Mililitro.

mm: Milímetro.

oz: Onzas

PBS: Amortiguador de Fosfatos.

pH: Potencial de Hidrógeno.

RNA: Ácido ribonucleico.

SNC: Sistema Nervioso Central.

Subsp: Subespecie

TSI: Agar hierro triple azúcar.

USDA: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

µg: MicroGramos.

µl: Microlitros.

µm: Micrómetros.

ANEXOS II. MATERIAL

- Tubos de ensaye de 16 x 150 mm.
- Tubos de ensaye de 13 x 100 mm.
- Placas de petri de 90ml.
- Bolsas de plástico (8 x 14”) marca Ziplock de caja azul.
- Bolsas estériles Nasco de 4 oz.
- Frascos estériles de 125 o 250 ml.
- Pipetas graduadas de 5 y 10 ml.
- Hisopos estériles de algodón.
- Asas bacteriológicas.
- Mechero.
- Campana de flujo laminar.
- Gradillas de 50 y 60 tubos de 10 y 20 ml.
- Tijeras estériles.
- Pinzas estériles.
- Campos estériles.
- Riñoneras estériles.
- Bisturís.
- Paquetes de gasa estéril (10x 10 cm.).
- Vortex.
- Placa magnética de agitación.
- Matraz Erlenmeyer de 1 litro.
- Frasco ámbar de 100 ml.
- Agua destilada.
- Tanque de Bióxido de Carbono.
- Aplicadores de Madera.
- Portaobjetos.
- Microscopio.
- Piseta.
- Tubos de 22 x 200 mm.

ANEXOS III. MEDIOS DE CULTIVO, SUPLEMENTOS Y REACTIVOS

MEDIOS DE CULTIVO

- Agua Peptonada.
- Agar Cefex.
- Agar Brucella.
- Caldo Bolton.

SUPLEMENTOS

- Sangre de caballo.
- Sangre lisada de caballo.

REACTIVOS

- Amortiguador de Fosfatos.
- Sulfato ferroso.
- Bisulfito de sodio.
- Acido pirúvico.
- Cefoperazona.
- Nistatina
- Rifampicina.
- Peróxido de hidrogeno 3%.
- Reactivo de oxidasa.
- Hipurato de sodio.
- Ninhidrina.
- Acetona.
- Butanol.
- Etanol.
- Safranina.
- Cristal violeta.
- Lugol.
- Alcohol-cetona.

ANEXO IV. PROCEDIMIENTOS:

Aislamiento de *Campylobacter* ssp. de heces de niños sanos y muestras diarreicas .

Se colocan en una bolsa aproximadamente 10 gr ó 10 ml de heces en 90 ml de agua peptonada. Dejar reposar 30 – 60 min. De ésta bolsa, inocular en agar Cefex previamente atemperado a 37°C con un hisopo usando una placa giratoria. Se gasifican las cajas en bolsas ziplock y se incuban 48 – 72 horas a 42 ° C.

A las 48 horas se hace la lectura de la placa de cefex: si hay colonias sospechosas de *Campylobacter*, tome una colonia y resiémbrela en una placa de agar brucella con sangre; se incuban a 42 ° C por 48 horas en bolsas ziplock gasificadas. En caso de que en la placa de cefex no se observe desarrollo, reincubar en bolsas ziplock gasificadas 24 horas más.

A las 72 horas se hace la lectura de las cajas de cefex reincubadas, si hay colonias sospechosas hacer resiembra en agar sangre brucella e incubarlas 48 horas a 42 ° C, si en la placa no hay colonias sospechosas darla por negativa.

Las colonias sospechosas de *Campylobacter* aisladas en agar sangre brucella se confirman mediante tinción de Gram , catalasa, oxidasa e hidrólisis de hipurato.

Aislamiento de *Campylobacter* de carne en trozo y carne molida (pollo, puerco y res).

Colocar los trozos de carne o el pollo entero en una bolsa y agregar 20 – 100 ml de agua peptonada. Si la carne es de mercado o carnicería agregar el agua peptonada directamente a la bolsa. Cerrar herméticamente la bolsa girando la parte superior de la misma y agitar vigorosamente de lado a lado 60 veces. Pasar el líquido a un frasco estéril y proceder al aislamiento de *Campylobacter*.

Introducir un hisopo en el agua peptonada y sembrar directamente en agar cefex usando una placa giratoria, incuban 48 horas a 42 ° C en bolsas ziplock gasificadas.

Por otra parte añadir 5 ml del agua peptonada a un tubo con 45 ml de caldo Bolton. Incubar los tubos 4 horas a 37 ° C y después pasarlos a la incubadora de 42 ° C por 20 horas más. No es necesario gasificar los tubos.

Después de 24 horas de incubación introducir un hisopo o asa en la superficie del Caldo Bolton e inocular una segunda placa de agar cefex. Estriar para aislamiento e incubar 48 – 72 horas a 42 ° C en bolsas ziplock gasificadas.

A las 48 horas se hace la lectura de la placa de cefex: si hay colonias sospechosas de *Campylobacter*, tomar una colonia y resembrarla en una placa de agar brucella con sangre, preferentemente en campana de flujo laminar para evitar contaminación. Incubar a 42 ° C por 48 horas en bolsas ziplock gasificadas (5% de oxígeno, 10 % de Bióxido de carbono y 85 % de nitrógeno).

En caso de que en la placa de cefex no se observe desarrollo, reincubar en bolsas ziplock gasificadas 24 horas más.

A las 72 horas se hace la lectura de las cajas de cefex reincubadas, si hay colonias sospechosas hacer resiembra en agar brucella sangre, si en la placa no hay colonias sospechosas darla por negativa.

Las colonias sospechosas de *Campylobacter* aisladas en agar brucella sangre se confirman mediante una tinción de Gram, catalasa, oxidasa e hidrólisis de hipurato.

Aislamiento de *Campylobacter* de intestino de res, puerco y pollo en rastros.

Se utilizan 10 – 15 cm. de intestino del animal (íleon distal). Se toma el intestino de la bolsa con pinzas estériles y se quita el exceso de materia fecal. Pinzarlo de ambos extremos y flamear toda su superficie para quitar cualquier contaminación externa.

Posteriormente, se coloca dentro de una riñonera estéril; con ayuda de una pinza tomar un extremo del intestino y abrirlo a lo largo con tijeras estériles. Transferir el intestino abierto a una bolsa ziplock y agregarle de 40 - 90 ml de agua peptonada dependiendo del tamaño y peso del intestino. Cerrar herméticamente la bolsa y agitarla vigorosamente de lado a lado 60 veces. Pasar el lavado a otra bolsa estéril y proceder al aislamiento de *Campylobacter*. Introducir un hisopo al agua peptonada y resembrar directamente el agar cefex. Gasificar e incubar a 42 ° C.

Agregar 5 ml del agua peptonada a un tubo con 50 ml de caldo Bolton. Incubar 4 horas a 37 ° C y pasar a la incubadora de 42 ° C por 20 horas más.

Después de 24 horas de incubación introducir un hisopo en la superficie del Caldo Bolton e inocular una segunda placa de agar cefex. Estriar para aislamiento e incubar 48 - 72 horas a 42 ° C en bolsa ziplock gasificadas.

A las 48 horas se hace la lectura de la placa de cefex: si hay colonias sospechosas de *Campylobacter*, tomar una colonia y resembrarla en una placa de agar brucella con sangre, preferentemente en campana de flujo laminar para evitar contaminación. Incubar a 42 ° C por 48 horas en bolsas ziplock gasificadas (5% de oxígeno, 10 % de Bióxido de carbono y 85 % de nitrógeno).

En caso de que en la placa de cefex no se observe desarrollo, reincubar en bolsas ziplock gasificadas 24 horas más.

A las 72 horas se hace la lectura de las cajas de cefex reincubadas, si hay colonias sospechosas hacer resiembra en agar sangre brucella, si en la placa no hay colonias sospechosas darla por negativa.

Las colonias sospechosas de *Campylobacter* aisladas en agar sangre brucella se confirman mediante una tinción de Gram, catalasa, oxidasa e hidrólisis de hipurato.

ANEXO V. PROCEDIMIENTO DE PRUEBAS REALIZADAS

CATALASA:

Se debe colocar sobre un portaobjetos limpio una colonia de un cultivo fresco, agregar una gota de peróxido de hidrógeno al 3 %. Una reacción positiva se evidencia por la formación de burbujas producto de la liberación de oxígeno a partir de la reducción del peróxido de hidrógeno.

OXIDASA:

Se debe utilizar un buen inóculo que se coloca en un tubo de hemólisis conteniendo 0,2 ml de agua destilada a la que se le introduce un disco impregnado en la solución de oxalato de para-aminodimetilamina. La prueba se realiza también con un papel filtro impregnado en la solución reactiva, la que se pone en contacto con una asada del cultivo. La aparición de un color violeta al cabo de aproximadamente 2 minutos indica reacción positiva.

HIDRÓLISIS DE HIPURATO:

Suspender una asada de la cepa en 400µl de una solución hipurato de sodio al 1%. Luego de incubar a 37°C durante 2 horas, se le agrega 200 µl de solución de ninhidrina al 3,5% en acetona-butanol 1:1 por la pared del tubo y se deja en reposo a 37°C observándolo a los 10 minutos. La aparición de una coloración azul-violeta indica una reacción positiva que revela la presencia de glicina, producto final de la hidrólisis del hipurato.

ANEXOS VI. TABLAS DE RESULTADOS.

TABLA No. 1

**DATOS DE CEPAS DE *CAMPYLOBACTER* AISLADAS DE
INTESTINOS DE POLLO, RES Y PUERCO.**

TIPO DE INTESTINOS	No. DE MUESTRAS PROCESADAS	No. DE MUESTRAS POSITIVAS A <i>CAMPYLOBACTER</i>	PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE <i>CAMPYLOBACTER</i>
POLLO	225	139	61.777
RES	170	53	31.176
PUERCO	170	77	45.294

TABLA No. 2

**DATOS DE CEPAS DE *CAMPYLOBACTER* AISLADAS DE CARNES
DE POLLO, RES Y PUERCO.**

TIPO DE CARNE	No. DE MUESTRAS PROCESADAS	No. DE MUESTRAS POSITIVAS A <i>CAMPYLOBACTER</i>	PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE <i>CAMPYLOBACTER</i>
POLLO	190	73	38.421
RES	190	3	1.578
PUERCO	190	0	0

TABLA No. 3

DATOS DE CEPAS DE *CAMPYLOBACTER* AISLADAS DE HUMANOS.

TIPO DE PACIENTE	No. DE MUESTRAS PROCESADAS	No. DE MUESTRAS POSITIVAS A <i>CAMPYLOBACTER</i>	PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE <i>CAMPYLOBACTER</i>
ASINTOMATICOS (ALUMNOS DE KINDERS)	546	21	3.846
SINTOMATICOS (CON DIARREA)	183	0	0

TABLA No. 4

**DATOS DE CEPAS DE *CAMPYLOBACTER* AISLADAS DE
INTESTINOS DE POLLO, RES Y PUERCO.**

TIPO DE INTESTINOS	No. DE CAMPYLOBACTERIAS	ESPECIE	
		CAMPYLOBACTER JEJUNI	CAMPYLOBACTER SP
INTESTINOS DE POLLO	139	71	68
INTESTINOS DE PUERCO	77	37	40
INTESTINOS DE RES	53	39	14
TOTAL	269	147	122

TABLA No. 5

**DATOS DE CEPAS DE *CAMPYLOBACTER* AISLADAS DE CARNE DE
POLLO, RES Y PUERCO.**

TIPO DE CARNE	No. DE CAMPYLOBACTERIAS AISLADAS	ESPECIE	
		CAMPYLOBACTER JEJUNI	CAMPYLOBACTER SP
CARNE DE POLLO	73	24	49
CARNE DE PUERCO	0	0	0
CARNE DE RES	3	1	2
TOTAL	76	25	51

TABLA No. 6

**DATOS DE CEPAS DE *CAMPYLOBACTER* AISLADAS DE PACIENTES
ASINTOMÁTICOS Y SINTOMÁTICOS.**

TIPO DE PACIENTE	No. DE CAMPYLOBACTERIAS AISLADAS	ESPECIE	
		CAMPYLOBACTER JEJUNI	CAMPYLOBACTER SP
ASINTOMATICOS	21	16	5
SINTOMATICOS	0	0	0
TOTAL	21	16	5

TABLA No. 7

**LOCALIDADES DEL ESTADO DE MICHOACÁN DONDE SE
RECUPERARON CEPAS DE *CAMPYLOBACTER* DE INTESTINOS DE
POLLO, RES Y PUERCO.**

MES Y AÑO	LOCALIDAD	LUGAR	No. DE CEPAS RECUPERADAS			PORCETAJE TOTAL
			POLLO	RES	PUERCO	
AGOSTO 2004	ZINAPÉCUARO	RASTRO MUNICIPAL	7	0	6	4.832
SEPTIEMBRE 2004	VILLA MORELOS	RASTRO MUNICIPAL	7	1	10	6.691
OCTUBRE 2004	TARIMBARO	RASTRO MUNICIPAL	9	0	1	3.717
NOVIEMBRE 2004	HUANDACAREO	RASTRO MUNICIPAL	9	6	5	7.435
DICIEMBRE 2004	CHUCÁNDIRO	RASTRO MUNICIPAL	3	0	0	1.115
ENERO 2005	ALVARO OBREGON	RASTRO MUNICIPAL	9	8	8	9.293
FEBRERO 2005	SANTA ANA MAYA	RASTRO MUNICIPAL	10	0	0	3.717
MARZO 2005	ZACAPÚ	RASTRO MUNICIPAL	10	10	0	7.435
ABRIL 2005	PATZCUARO	RASTRO MUNICIPAL	7	0	4	4.089
MAYO 2005	COENEO	RASTRO MUNICIPAL	6	1	3	3.717
JUNIO 2005	QUIROGA	RASTRO MUNICIPAL	7	0	0	2.602
JULIO 2005	IXTLAN	RASTRO MUNICIPAL	6	0	0	2.23
AGOSTO 2005	MORELIA	RASTRO FRIGORIFICO	13	5	5	8.55
SEPTIEMBRE 2005	MORELIA	RASTRO FRIGORIFICO	12	6	5	8.55
OCTUBRE 2005	MORELIA	RASTRO FRIGORIFICO	0	8	6	5.2
NOVIEMBRE 2005	MORELIA	RASTRO FRIGORIFICO	13	9	5	10.03
DICIEMBRE 2005	MORELIA	RASTRO FRIGORIFICO	11	9	9	10.78

TABLA No. 8

**LOCALIDADES DEL ESTADO DE MICHOACÁN DONDE SE
RECUPERARON CEPAS DE *CAMPYLOBACTER* DE CARNE CRUDA
DE POLLO, RES Y PUERCO.**

MES Y AÑO	LOCALIDAD	LUGAR	No. DE CEPAS RECUPERADAS			PORCETAJE TOTAL
			POLLO	RES	PUERCO	
AGOSTO 2004	ZINAPÉCUARO	MERCADO MUNICIPAL	10	0	0	13.157
SEPTIEMBRE 2004	VILLA MORELOS	MERCADO MUNICIPAL	5	0	0	6.578
OCTUBRE 2004	TARIMBARO	VARIAS CARNICERIAS	0	0	0	0
NOVIEMBRE 2004	HUANDACAREO	VARIAS CARNICERIAS	10	0	0	13.157
DICIEMBRE 2004	CHUCÁNDIRO	MERCADO MUNICIPAL	6	0	0	7.894
ENERO 2005	ALVARO OBREGON	MERCADO MUNICIPAL	2	0	0	2.631
FEBRERO 2005	SANTA ANA MAYA	MERCADO MUNICIPAL	9	1	0	13.157
MARZO 2005	ZACAPÚ	MERCADO MUNICIPAL	1	0	0	1.316
ABRIL 2005	PATZCUARO	MERCADO MUNICIPAL	0	0	0	0
MAYO 2005	COENEO	MERCADO MUNICIPAL	0	0	0	0
JUNIO 2005	QUIROGA	MERCADO MUNICIPAL	0	0	0	0
JULIO 2005	IXTLAN	MERCADO MUNICIPAL	9	1	0	13.157
AGOSTO 2005	MORELIA	MERCADO DE ABASTOS	6	0	0	7.894
SEPTIEMBRE 2005	MORELIA	MERCADO DE SAN JUAN	0	0	0	0
OCTUBRE 2005	MORELIA	MERCADO DE SAN JUAN	3	0	0	3.947
NOVIEMBRE 2005	MORELIA	MERCADO DE SANTO NIÑO	3	0	0	3.947
DICIEMBRE 2005	MORELIA	MERCADO DEL AUDITORIO MUNICIPAL	9	1	0	13.157

TABLA No. 9

**LOCALIDADES DEL ESTADO DE MICHOACÁN DONDE SE
RECUPERARON CEPAS DE *CAMPYLOBACTER* DE PACIENTES
ASINTOMÁTICOS MENORES DE 6 AÑOS (ALUMNOS DE
DIFERENTES KINDERS).**

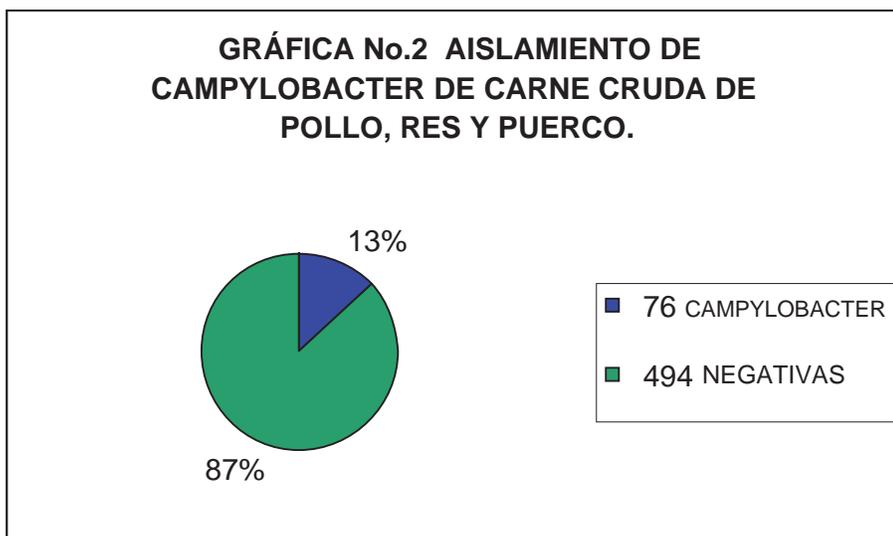
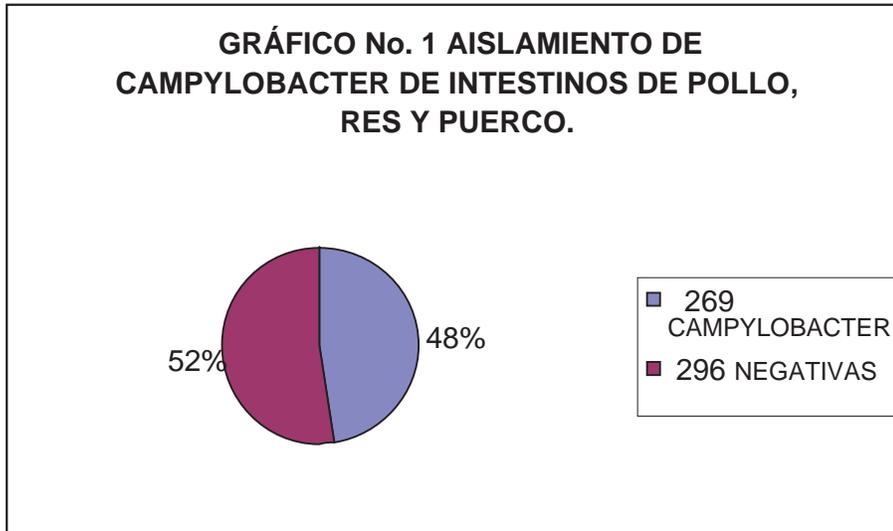
MES Y AÑO	LOCALIDAD	LUGAR	No. DE CEPAS RECUPERADAS	PORCETAJE
AGOSTO 2004	ALVARO OBREGON	KINDER	9	42.857
SEPTIEMBRE 2004	SANTA ANA MAYA	KINDER	1	4.762
OCTUBRE 2004	ZACAPÚ	KINDER	3	14.285
NOVIEMBRE 2004	IXTLAN	KINDER	2	9.523
DICIEMBRE 2004	MORELIA	KINDER	2	9.523
ENERO 2005	MORELIA	KINDER	1	4.762
FEBRERO 2005	MORELIA	KINDER	2	9.523
MARZO 2005	MORELIA	KINDER	1	4.762

TABLA No. 10

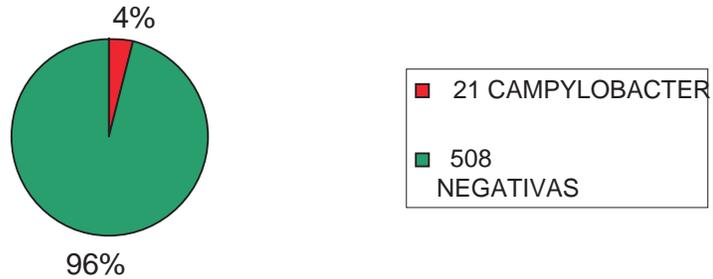
PORCENTAJE DE ESPECIES DE *CAMPYLOBACTER* AISLADAS.

ESPECIE	No. DE CEPAS	PORCENTAJE
<i>Campylobacter jejuni</i>	188/366	51.366
<i>Campylobacter sp.</i>	178/366	48.633

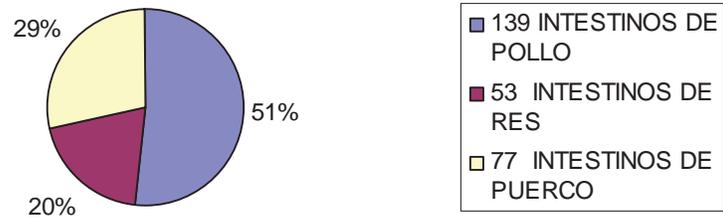
ANEXOS VII. GRÁFICAS DE RESULTADOS.



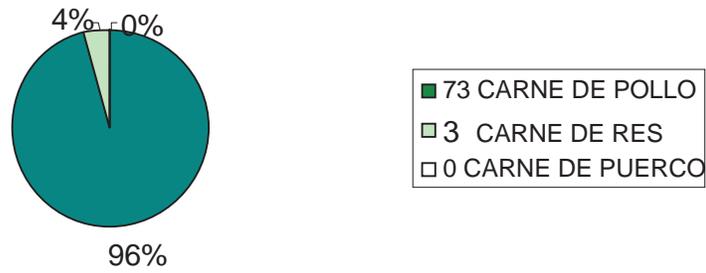
**GRÁFICA No.3 AISLAMIENTO DE
CAMPYLOBACTER DE PACIENTES
ASINTOMÁTICOS Y SINTOMÁTICOS.**



**GRÁFICA No.4 NÚMERO DE CEPAS DE
CAMPYLOBACTER AISLADAS DE INTESTINOS
DE POLLO, RES Y PUERCO.**



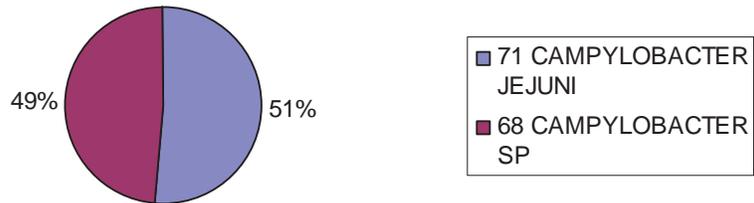
**GRÁFICA No.5 NÚMERO DE CEPAS DE
CAMPYLOBACTER AISLADAS DE CARNE
CRUDA DE POLLO, RES Y PUERCO.**



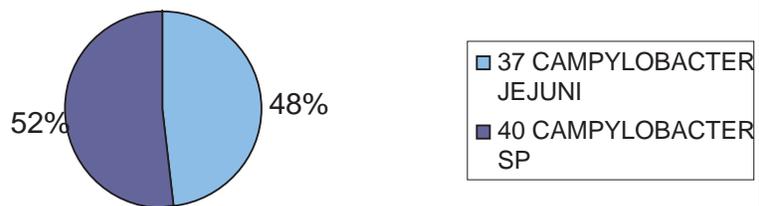
**GRÁFICA No. 6 NÚMERO DE CEPAS DE
CAMPYLOBACTER AISLADAS DE PACIENTES
ASINTOMÁTICOS Y SINTOMÁTICOS.**



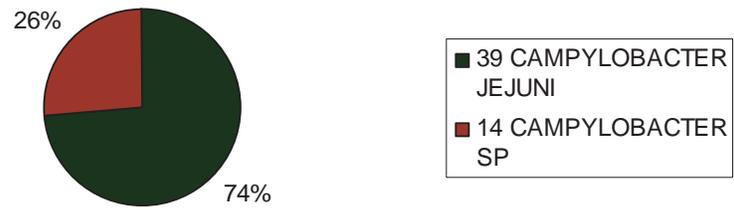
GRÁFICA No. 7 PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER DE INTESTINOS DE POLLO.



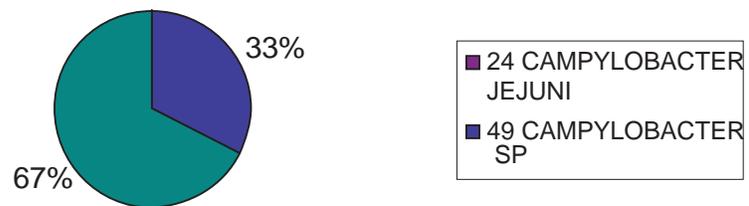
GRÁFICA No. 8 PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER DE INTESTINOS DE PUERCO.



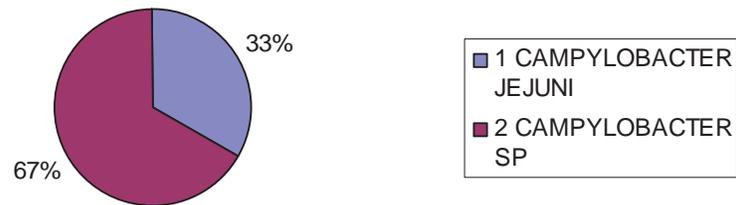
GRÁFICA No. 9 PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER DE INTESTINOS DE RES.



GRÁFICA No.10 PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER DE CARNE CRUDA DE POLLO.



GRÁFICA No.11 PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER DE CARNE CRUDA DE RES.



GRÁFICA No.12 PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE ESPECIES DE CAMPYLOBACTER DE PACIENTES ASINTOMÁTICOS MENORES DE 6 AÑOS.



X. REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. **Bailey Scott**, (1991) Diagnóstico Microbiológico. Edit. Panamericana. 7a. edición. Pp.428 – 432.
2. **Bailey and Scott's**, (2002). Diagnostic Microbiology. Edit. Mosby .Eleven edition. Pp. 474 – 479
3. **Bergey's manual of Systematic Bacteriology**.(2001). Volume one. The Archaea and The Deeply Branching and Phototropic Bacteria. Edit. Springer. USA. Pp.161
4. **Fernández y Farace**. (2003). Manual de Procedimientos y Diagnóstico de Campylobacter en muestras clínicas y de alimentos. Universidad Austral de Chile.
5. **Fernández, H.; Fagundes Neto, U.; Ogatha, S.**(1997). Acute diarrhea associated to Campylobacter jejuni subsp. doylei in São Paulo, Brazil. Ped. Infect. Dis. J. 16:1098-1099
6. **Jawetz, Melnick y Adelberg**. (2002) Microbiología Médica. Edit. Manual Moderno.17ª edición. Pp.297-299
7. **Koneman Elmer W.** (2001). Diagnóstico Microbiológico texto y atlas a color. Edit. Panamericana. 5ta edición. Pp. 317 – 332.
8. **Murray Patrick R.** (1997). Microbiología Médica. Edit. Harcourt Brace. 2da edición. Pp.247 – 249.
9. **Pumarola A.** (1984). Microbiología y parasitología médica. edit Salvat. Pp. 444 y 445.
10. **Romero C. R.** (1999). Microbiología y parasitología humana. Edit. Panamericana. Pp.316 -318.
11. **Sanders G.** (1998).Isolation of Campylobacter from food. Microbiology Research Division Bureau of Microbial Hazards, Food Directorate. Ottawa, Canada.
12. **Zinsser Hans, Wolfgang K. Joklik [et al.]**. (2002) Microbiología. Edit. Panamericana. Argentina. Pp. 833 – 834.

13. **Michael E. Konkel,1* Marshall R. Monteville,1 Vanessa Rivera-Amill,1 and Lynn A. Joens2.**The Pathogenesis of Campylobacter jejuni-Mediated Enteritis. Sección de Microbiología.[Fecha de consulta: 20 de Mayo del 2006.] [En línea < www.open-access-biology.com/.../konkel.html>].
14. **Patrick Barnes MA MT (ASCP).** CLIA Microbiology / Serology Competency Assessment. Sección de Microbiología.[Fecha de consulta: 20 de Mayo del 2006] [En línea < <http://www.medialabinc.net>]
15. **J. Takkinen1, A. Ammon.**11th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms. CHRO (2001).Int J Med Micr 2001; 291, suppl 31, 1-168. [Fecha de consulta el 27 de Marzo del 2006]. [En línea < <http://www.eurosurveillance.org> >]
16. **A. Canals i Rosell.** Campylobacteriosis en aves de corral. Departament de Sanitat i Seguretat Social. Generalitat de Catalunya. Veterinario Oficial Matadero de Aves Moré, S.A. (Argentona).[Fecha de consulta el 28 de Marzo del 2006] [En línea < http://www.colvet.es/infovet/ene02/ciencias_v/articulo.htm>]
17. **Larrosa-Haro, Alfredo; Ruíz-Pérez, Marcia and Aguilar-Benavides, Sergio.** Stool work-up protocol in infants and preschool children with acute diarrhea: is it useful for diagnosis and treatment. Salud pública Méx. [online]. 2002, vol. 44, no. 4 [cited 2006-08-28], pp. 328-334. Available from:
<http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000400006&lng=en&nrm=iso>. ISSN 0036-3634.