

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

VENCIMIENTO
BIBLIOTECA

MAR. 19 1998

DDICSA
\$100

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE INGENIERIA Y CIENCIAS
NATURALES Y EXACTAS

040.54
G245a
1989



UNIVERSIDAD
DE MONTERREY

902350

AI SLAMENTO E IDENTIFICACION DE

Campylobacter jejuni

EN UNA POBLACION INFANTIL

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL

QUE PRESENTA

MARTHA PATRICIA GARZA GONZALEZ

EN OPCION AL TITULO DE
LICENCIADA EN QUIMICA

Vo Bo

Mra. Lourdes Inty. M.

CON ESPECIALIDAD EN ANALISIS CLINICOS

MONTERREY, N. L.

MAYO DE 1989

BIBLIOTECA
UNIVERSIDAD DE MONTERREY

GRACIAS SEÑOR, POR LA
OPORTUNIDAD TAN HERMOSA QUE ME
HAS BRINDADO DE REALIZAR ESTE
TRABAJO, CON LA CERTEZA DE QUE
A LO LARGO DE MI CAMINAR HAS
ESTADO A MI LADO,
ILUMINANDOME PARA SEGUIR
SIEMPRE HACIA ADELANTE. AYUDAME
A PONER AL SERVICIO DE LOS
DEMÁS LO QUE HE APRENDIDO.

EL ESFUERZO QUE REPRESENTA ESTE TRABAJO COMO CULMINACION
DE UNA DE MIS MAS ANHELADAS METAS LO DEDICO CON TODO MI
AMOR Y PROFUNDO AGRADECIMIENTO

A MIS PADRES

DR. ARNOLDO GARZA GONZALEZ Y MARTHA G. DE
GARZA, CON ADMIRACION Y RESPETO, A QUIENES
DEBO TODO LO QUE SOY.

A MIS HERMANOS

ARNOLDO JAVIER Y LUIS ENRIQUE, POR SU APOYO
Y CARIÑO.

A MIS ABUELITOS

SR. RAUL GONZALEZ MTZ. Y REBECA V. DE
GONZALEZ, Y A TODOS MIS TIOS, POR LA
CONFIANZA QUE HAN PUESTO EN MI.

A ALBERTO

POR TODA TU AYUDA INCONDICIONAL PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO, POR TU AMOR, PACIENCIA Y COMPRENSION.

A MIS AMIGAS Y COMPAÑERAS

POR SU AMISTAD Y APOYO, POR TODO LO QUE COMPARTIMOS JUNTAS, A VALE, POR ESTAR SIEMPRE CONMIGO.

A MI ASESORA

Q.F.B. MA. DE LOURDES MARTINEZ M. POR ASESORAR MI TRABAJO Y COLABORAR CONMIGO PARA LA REALIZACION DEL MISMO, POR SER MI MAESTRA Y AMIGA, Y POR CAMINAR JUNTAS A LO LARGO DE MI CARRERA.

AGRADEZCO A TODAS LAS PERSONAS QUE ME HAN AYUDADO A LO
LARGO DE MI CARRERA Y MUY ESPECIALMENTE A MIS MAESTROS

Q.F.B. LAURA E. GARCIA TOVAR

Q.F.B. SILVIA TERESA JARAMILLO O.

L.C.Q. JESUS A. GARZA GUTIERREZ

POR SUS ENSEÑANZAS, POR SU AYUDA, APOYO Y CARIÑO.

AGRADEZCO TAMBIEN AL PERSONAL DEL HOSPITAL INFANTIL Y MUY
ESPECIALMENTE AL DIRECTOR, DR. ANTONIO MURAIRA POR LAS
ATENCIONES Y FACILIDADES BRINDADAS PARA LA REALIZACION DE
ESTE TRABAJO, ASI COMO A LA Q.F.B. CECILIA GOMEZ Y
Q.F.B. LETICIA NAVARRO Y JUANITA LIMON H.

INDICE

	PAG
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	10
RESULTADOS	14
DISCUSION Y CONCLUSIONES	17
RESUMEN	21
BIBLIOGRAFIA	23

INTRODUCCION

Las enfermedades diarreicas bacterianas constituyen una causa importante de morbilidad y mortalidad mundial que afectan primordialmente a los niños y su impacto es crítico en países con pocos medios para afrontarlas (1,2,3,4). Actualmente el número de muertes ha disminuído como resultado del mejoramiento de los métodos de diagnóstico, del conocimiento de la fisiopatología y de tratamientos más efectivos (1). Sin embargo la diarrea ocasiona complicaciones principalmente en los niños que agravan la desnutrición y dificultan la recuperación.

La palabra diarrea se deriva de los términos griegos dia (continuo) y rhein (fluír, manar). Se define mejor como un aumento anormal en el contenido líquido de las heces y el peso diario de éstas. Habitualmente está asociada con el incremento en el número de evacuaciones y con frecuencia se acompaña de urgencia, malestar perianal, incontinencia, o una combinación de las tres (5).

Aproximadamente 9 litros de líquido pasan normalmente a través del intestino cada día. De éstos, 2 litros se derivan de los alimentos y líquidos ingeridos y 7 litros corresponden a secreciones digestivas. Cerca del 80% del líquido es reabsorbido en el yeyuno e íleon, 19% en el colon y de 200 a 300 ml de líquido se pierden en las heces. Una infección intestinal puede reducir la absorción lo que da por resultado la eliminación de agua y electrolitos en las heces (1).

La diarrea es un reflejo de variaciones en las capacidades de absorción y secreción de los intestinos, así como de alteraciones en la motilidad y permeabilidad (1).

La diarrea puede ser originada por factores externos al

tubo digestivo o por alteraciones gastrointestinales. Dentro de los primeros se encuentran hipertiroidismo, insuficiencia suprarrenal, entre otros. Las segundas pueden ser anatómicas, como una resección quirúrgica del intestino delgado; funcionales por la ingestión de medicamentos que eliminan la flora normal; dietéticas o infecciosas, debidas a virus, parásitos o bacterias (6).

Los agentes etiológicos de las enfermedades gastrointestinales pueden causar daño por varios mecanismos: 1) Producción de toxinas 2) Crecimiento del microorganismo dentro de las células de la mucosa intestinal y destrucción de las mismas 3) Invasión del epitelio de la mucosa causando destrucción celular y ocasionalmente invadiendo el torrente sanguíneo y 4) Por adherencia a la mucosa intestinal. (6).

El desarrollo y perfeccionamiento de la tecnología utilizada en microbiología ha permitido la identificación de nuevos agentes causantes de diarrea, como Campylobacter jejuni.

Actualmente Campylobacter jejuni está considerado como uno de los principales agentes bacterianos causantes de

diarrea infantil, por lo tanto ha despertado un particular interés en muchos países del mundo y los datos bibliográficos son numerosos (1,3,6,7,8,9,10,11,12).

Las especies del género Campylobacter se conocieron como causa de aborto en ovejas, desde el primer aislamiento de Vibrio (actualmente Campylobacter) fetus en 1909. En 1947 Vibrio fetus fue aislado por primera vez de una persona y en los siguientes 10 años este microorganismo fue recuperado ocasionalmente de sangre, líquido cefalorraquídeo y otros líquidos corporales (13). En 1957, Elizabeth King, observó que había dos grupos de Vibrio fetus, cada uno con diferentes características bioquímicas. Llamó a los microorganismos que crecían a 42° C " vibrios relacionados " y notó que aunque los microorganismos fueron obtenidos de sangre en cada caso el paciente había sufrido diarrea aguda. Ella postuló que estos vibrios causaban diarreas severas, pero no se aislaron de materia fecal, por lo que se consideraron microorganismos fastidiosos y de crecimiento lento. En 1969 Dekeyner y sus colaboradores, utilizando un medio selectivo, aislaron estos vibrios de pacientes con diarrea.

Ya que Vibrio fetus y los " vibrios relacionados " no

fermentaban la glucosa y diferían en otras características. Veron y Chatelain propusieron el nuevo género Campylobacter ("Campylo" : curvado, "Bacter" : bacilo). Los "vibrios relacionados" son los que actualmente se conocen como Campylobacter coli y Campylobacter jejuni (13).

Campylobacter jejuni es un bacilo gram-negativo, curvado en forma de C, S o alas de gaviota, móvil, mide 1.5 a 3.5 micrometros de largo y 0.2 a 0.4 micrometros de ancho en cultivos jóvenes (14). Utiliza aminoácidos e intermediarios del ciclo del ácido tricarboxílico como fuente de energía para su crecimiento, es microaerofílico, requiere de 5-10% de oxígeno y de 3-10% de dióxido de carbono (13).

La transmisión de este microorganismo puede ocurrir por vía fecal-oral, a través de la ingestión de alimentos o agua contaminados, o por contacto directo con materia fecal de personas o animales infectados (13).

Campylobacter jejuni se multiplica en el intestino y puede causar alteraciones debido a dos mecanismos: invasión y producción de una enterotoxina. En el primero, el microorganismo invade el epitelio intestinal del huésped. El blanco es particularmente el íleon distal y el colon.

Los hallazgos histológicos incluyen ulceración de la mucosa y se demuestra por la presencia de moco y sangre en las heces. Sólo del 20 al 30% de los pacientes con enteritis por esta bacteria presentan una invasión intestinal, en la mayoría de los casos se asocia con una diarrea secretora, esto sugiere la presencia del segundo mecanismo, en el cual la enterotoxina altera la capacidad de secreción y de absorción de la mucosa intestinal. El microorganismo coloniza el intestino delgado superior y se adhiere a las células epiteliales con producción de la enterotoxina. La arquitectura de la mucosa permanece intacta y no hay indicios de destrucción celular.

El período de incubación es de 24 a 72 horas después de la ingestión del microorganismo (13). Los síntomas predominantes son diarrea y fiebre que se presentan en el 90% de los casos, el dolor abdominal se manifiesta en el 70% de los pacientes y en el 50% de ellos se observan evacuaciones sanguinolentas. Puede acompañarse de otros síntomas como cefalea, malestar general, anorexia y vómito (13). Usualmente la enfermedad dura menos de una semana, aunque los síntomas en algunas ocasiones persisten varios días (5).

Bajo ciertas circunstancias el microorganismo puede

invadir el torrente sanguíneo y se desarrolla un cuadro clínico de fiebre entérica, en algunos pacientes puede presentarse colitis ulcerativa (13).

El método de diagnóstico para la infección por Campylobacter consiste en el aislamiento e identificación de este microorganismo a partir de materia fecal.

Las heces deben inocularse en placas de agar selectivo para Campylobacter (1,2,3,4). Campylobacter jejuni crece a 42° C en una atmósfera microaerofílica con 5 - 10% de oxígeno y 3 - 10% de dióxido de carbono. Después de un período de incubación de 48 horas se observa la morfología característica de las colonias, que tienden a ser grisáceas, mucoides, brillantes, transparentes y algunas se diseminan a lo largo de la línea de inoculación. Se realiza la tinción al Gram para observar los bacilos curvados, gram-negativos y se efectúan pruebas bioquímicas para su identificación como la oxidasa, la catalasa, la hidrólisis del hipurato y la sensibilidad al ácido nalidíxico (6,7,8,9,10,11,12).

En los casos de gastroenteritis complicada el antimicrobiano de elección es la eritromicina debido a que el microorganismo es susceptible, a la facilidad de

administración y a la baja toxicidad para el paciente (13).

Entre los reservorios de Campylobacter jejuni se encuentran las aves, como los pollos, pavos y aves silvestres; los mamíferos como ovejas, caballos, monos, perros y gatos. También ha sido aislado de agua dulce y de agua salada. Las heces de animales o personas infectadas pueden contener vivo al microorganismo cerca de cuatro semanas y son una fuente de infección para las comunidades (13,15,16).

Actualmente, Campylobacter jejuni se considera una importante causa de diarrea en todos los continentes tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Los resultados de diversas investigaciones realizadas demuestran que este microorganismo es un agente enteropatógeno significativo. En Ecuador ha sido aislado con una frecuencia del 23% en niños menores de dos años; en Africa del Sur y Bangladesh el 40% de los niños entre 9 y 24 meses excretan este microorganismo y en Suiza se encontró una frecuencia del 10.9%.

Debido al alto porcentaje de aislamientos que lo sitúan entre los principales patógenos bacterianos intestinales y a su significación clínica y además porque se

desconocen los datos epidemiológicos en nuestra ciudad, el objetivo de esta investigación es el aislamiento e identificación de Campylobacter jejuni en niños que presentan procesos de enteritis aguda.

MATERIALES Y METODOS

En esta investigación se analizaron 140 muestras de heces obtenidas de niños internados en el Hospital Infantil de Monterrey de la Secretaría de Salud del Estado, del día 7 de Febrero al 19 de Abril de 1989. Todas las muestras clínicas se colocaron en el medio de transporte de Amies y se procesaron en el Laboratorio de Microbiología de la División de Ingeniería y Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey.

El grupo de pacientes estaba constituido de niños recién nacidos a 12 años de edad.

Las muestras se inocularon en placas de agar selectivo para Campylobacter, que consiste en base de agar brucella, con 5% de sangre de carnero y la adición de los siguientes antimicrobianos: vancomicina 10 mg/L, trimetoprim 5 mg/L, polimixina B 2,500 UI/L, anfotericina B 2 mg/L, cefalotina 15 mg/L.

Las placas se incubaron en jarras para anaerobiosis sin catalizador a 42° C, durante 48 horas, en atmósfera microaerofílica y en presencia de dióxido de carbono. La atmósfera microaerofílica se generó colocando en un vaso 1.5 g de fibra de acero, previamente sumergida en una solución de sulfato de cobre al 2.5% y secada en una gasa. En otro vaso se colocaron 10 ml de agua y se agregó una tableta de Alka-Seltzer (17).

La identificación presuntiva se realizó en base a la morfología característica de las colonias, el aspecto microscópico por la tinción al Gram, y la producción de oxidasa y catalasa.

La confirmación bioquímica se basó en la prueba de la hidrólisis del hipurato, la cual se efectuó, preparando una suspensión del microorganismo en 0.4 ml de hipurato de sodio al 1% (R-1), e incubando 2 horas a 35°C, la

hidrólisis se detectó agregando 0.2 ml del reactivo de ninhidrina (R-2), reincubando por 15 min y observando la aparición de color púrpura. (7, 17).

El control de calidad de los métodos utilizados para el aislamiento e identificación, se realizó empleando un cultivo de referencia de Campylobacter jejuni.

REACTIVOS

R _ 1 : Hipurato de sodio al 1% :

Hipurato de sodio	1 g
Agua destilada	100 ml

Mezclar y colocar 0.4 ml en tubos pequeños. Se guarda en el congelador y es estable por seis meses.

R - 2 : Reactivo de ninhidrina :

Ninhidrina	3.5 g
Acetona	50 ml
Butanol	50 ml

Mezclar la acetona y el butanol y agregar la ninhidrina. Colocarla en un recipiente ámbar y almacenar a temperatura ambiente. Es estable por seis meses.

RESULTADOS

Durante los 3 meses de investigación se analizaron 140 muestras de heces obtenidas de niños internados en el Hospital Infantil de Monterrey de las cuales se aislaron e identificaron 3 cepas de Campylobacter jejuni, lo que representa el 2.1%.

La identificación de este microorganismo se basó en las siguientes características: crecimiento de las colonias típicas en el agar selectivo para Campylobacter, observación microscópica de bacilos curvos gram-negativos, oxidasa, catalasa e hidrólisis del hipurato positivos y sensibilidad al ácido nalidíxico.

En la tabla No. 1 se presenta la distribución de los niños estudiados en relación al sexo y al rango de edades, así como el número de aislamientos.

Como se puede observar Campylobacter jejuni se aisló en dos niñas de 1 año y de 1 año 5 meses y en un niño de 3 meses de edad.

Los síntomas que presentaron las niñas fueron dolor abdominal, vómito, náusea, evacuaciones con moco y sangre, hipertermia e hiporexia. El niño manifestó bronconeumonía y posteriormente gastroenteritis.

TABLA No. 1

Distribución de los niños estudiados en relación al sexo
y al rango de edades.

RANGO DE EIDADES (AÑOS)	No. DE NIÑAS (n=67)	NIÑAS *INF (%)	No. DE NIÑOS (n=73)	NIÑOS INF
< 1	30	-	30	1 (1.37%)
1 - 3	15	2 (2.98%)	14	-
4 - 12	18	-	22	-
ND	4	-	7	-

ND : DATOS NO DISPONIBLES

*INF : NIÑOS INFECTADOS POR Campylobacter jejuni.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El hallazgo de Campylobacter como microorganismo productor de cuadros diarreicos ha representado el reconocimiento de un patógeno intestinal de indudable importancia.

De las 140 muestras analizadas, 3 resultaron positivas para Campylobacter jejuni lo que corresponde al 2.1% de la población estudiada. Estas cepas se aislaron de niños menores de dos años de edad, que fueron dados de alta a los pocos días de su ingreso al hospital por lo que se carece de datos para establecer una relación epidemiológica.

En relación con los resultados obtenidos, se puede observar que el porcentaje de aislamientos fue inferior al encontrado en otros países ya que se ha reportado una frecuencia del 23% en Ecuador, 7.8% en España y 40% en Africa. Esto probablemente se debe a que el número de muestras analizadas fue reducido, por otra parte a la época en que se realizó el estudio, ya que en nuestro medio los procesos de gastroenteritis son más frecuentes durante el verano. Lo anterior concuerda con algunas publicaciones, por ejemplo en España el número de aislamientos es mayor en el período estacional primavera-verano, principalmente en los meses de mayo y junio (7).

Debido a que Campylobacter jejuni ha despertado un gran interés como causa de gastroenteritis aguda en lactantes y niños pequeños, la mayoría de las investigaciones realizadas se enfocan a esta población, sin embargo la población adulta no está exenta de sufrir infección por este microorganismo. Por otra parte, las personas asintomáticas constituyen una importante fuente de infección, por lo que es necesario conocer la frecuencia de portadores de Campylobacter.

Para el aislamiento de este microorganismo es necesario utilizar métodos selectivos que reducen o inhiben el

crecimiento de la flora intestinal. Esto se logra por la adición de los antimicrobianos al medio de cultivo y por la temperatura de incubación de 42°C. Además es importante señalar el empleo de sangre de carnero para enriquecer el medio. En esta investigación, se comprobó la selectividad del medio de cultivo descrito anteriormente, ya que en la mayoría de las placas inoculadas no se observó desarrollo bacteriano.

Respecto a la generación de la atmósfera microaerofílica, cabe mencionar que el sistema utilizado es muy eficaz y económico, ya que el material requerido es fácil de conseguir y a bajo costo.

Es necesario el uso de una cepa de referencia de Campylobacter jejuni para obtener resultados confiables.

La alta frecuencia de enteritis por Campylobacter, la coloca en un lugar importante como problema de salud pública. Por lo tanto es necesario que haya un mejor conocimiento de la epidemiología así como de los reservorios de este microorganismo. El ganado y las aves de corral constituyen el principal reservorio y es necesario el lavado de las manos después del contacto con ellos o sus productos, así como la cocción adecuada de los

alimentos, la pasteurización de la leche y la cloración del agua, para prevenir la transmisión de este microorganismo. En los hospitales se recomienda el aislamiento de los pacientes y el transporte, manejo y eliminación adecuados de sus excretas (13).

Campylobacter jejuni tiene una distribución mundial, por lo que los laboratorios clínicos que no utilizan métodos específicos para su aislamiento omiten una fuente importante de información al clínico. Por constituir un importante patógeno intestinal capaz de producir diarrea, con una frecuencia igual o mayor a la de Salmonella, es necesaria su búsqueda continua en muestras fecales de pacientes con enteritis aguda.

RESUMEN

Durante un período de 3 meses, comprendido entre febrero y abril de 1989, se analizaron las heces de 140 niños menores de 12 años de edad, internados en el Hospital Infantil de Monterrey, con el fin de determinar la presencia de Campylobacter jejuni.

Para el aislamiento de este microorganismo se utilizó un medio selectivo para Campylobacter que consiste en base de agar brucella con sangre de carnero y la adición de cinco antimicrobianos. La identificación se realizó por la morfología típica de las colonias, tinción al Gram, la prueba de la oxidasa, catalasa, hidrólisis del hipurato y sensibilidad al ácido nalidíxico.

Campylobacter jejuni se aisló en 3 muestras de heces, lo que representa el 2.1%.

BIBLIOGRAFIA

1. Mitchell, J.E. and M.M. Skelton. 1988. Diarrheal Infections. AFP. 37: 195 - 205.
2. Guderian, R.H., C. Ordoñez y R. Rossano. 1987. Diarrea aguda asociada a Campylobacter y otros agentes patógenos en Quito, Ecuador. Bol. Of. Sanit. Panam. 102: 333 - 337.
3. Bartlett, A.V. and M. Moore. 1985. Diarrheal illness among infants and toddlers in day care centers. I. Epidemiology and pathogens. J Pediatr. 107: 495 - 501.

4. Prado, V., S. Braun y M.T. Siri. 1988. Escherichia coli enterotoxígena y Campylobacter jejuni en el síndrome diarreico agudo en lactantes chilenos. Bol. Of. Sanit. Panam. 104: 51 - 59.
5. Sleisenger, M.H. y J.S. Fordtran. 1985. Enfermedades gastrointestinales. 3a. ed. Ed. Panamericana Buenos Aires. pp: 306 - 310.
6. Sleisenger, M.H. y J.S. Fordtran. 1978. Tratado de gastroenterología. Ed. Interamericana, México. pp: 267 - 290.
7. Seoane, A., A. Romero y M.A. Martínez. 1984. Enteritis por Campylobacter jejuni en la población infantil de Cantabria. Laboratorio. 17: 363 - 370.
8. Mata, L., A. Simhon and R. Padilla. 1983. Diarrhea associated with rotaviruses, enterotoxigenic Escherichia coli, Campylobacter and other agents in Costa Rican children. Am. J. Trop. Med. Hyg. 32: 146 - 153.
9. Karmali, M.A. and P.C. Fleming. 1979. Campylobacter enteritis in children. J. Pediatr. 94: 527 - 533.

10. Georges, M.C. and C. Baya. 1986. Distribution and serotypes of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in enteric Campylobacter enteritis strains isolated from children in The Central African Republic. J. Clin. Microbiol. 23: 592 - 594.
11. Blaser, M.J. and B. Reller. 1981. Campylobacter isolation from Bangladesh children. J. Clin. Microbiol. 12: 744 - 747.
12. Alabi, S.A. and A.O. Coker. 1986. Biotype and serogroup distribution of Campylobacter isolates from children in Nigeria. J. Clin. Microbiol. 24: 856 - 858.
13. Blaser, M.J. and B. Reller. 1981. Campylobacter enteritis. N. Engl. J. Med. 305: 1444 - 1450.
14. Hernández, F. y P. Cipagauta. 1985. Estudio ultraestructural de Campylobacter fetus subespecie jejuni. Rev. Lat-amer. Microbiol. 27: 11 - 20
15. Blaser, M.J. and I.D. Berkowitz. 1979. Campylobacter enteritis: Clinical and epidemiologic features. Ann Intern Med. 91: 179 - 185.

16. Hopkins, R.S. and R. Olmsted. 1984. Endemic Campylobacter jejuni infection in Colorado: Identified risk factors. Am. J. Public. Health 74: 249 - 250.

17. Finegold, S., and E. Baron. 1986. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 7th. ed. The C.V. Mosby Company, Saint Louis, Mo. pp: 378, 461 - 465.

902350