

GASTROENTEROLOGÍA

CAMPYLOBACTER JEJUNI Y TREPONEMA HYODYSENTERIAE Y SU POSIBLE RELACIÓN CON PROTOZOARIOS INTESTINALES

*Claudia Hidalgo Quesada **

SUMMARY:

This study considers the important relationship that may occur between the bacteria *Campylobacter jejuni*, *Treponema hyodysenteriae* and intestinal protozoa. The parasitologic analysis made on 165 fecal samples and their respective Gram-stained smears in the search of the pathogenic agents which cause gastroenteritis, opens the possibility that these protozoa could have an endosymbiotic relationship with such bacteria and act as vectors between hosts. It's significant the fact that when the diversity of protozoa increases, the presence of these bacteria also does. The statistical method using the Chi-squared test ($p < 0.05$) showed that homogeneity does not exist between population of protozoa and the bacteria studied.

INTRODUCCION:

Campylobacter jejuni es considerado un importante agente etiológico de gastroenteritis. En varios estudios, esta bacteria se aisló con mayor frecuencia que *Salmonella* sp o *Shigella* sp en pacientes con diarrea (4). La epidemiología de la diarrea causada por *C. jejuni* ha sido estudiada ampliamente estableciéndose que las fuentes de infección mas comunes son la leche no pasteurizada, la carne de pollo mal cocida, y las heces de los perros y gatos infectados (2). También hay una fuerte evidencia de que el agua actúa como vehículo de infección y que el modo de transmisión es la ruta fecal - oral (2, 8). Pearson y colaboradores (1977) y Knill, Suckling y Pearson (1978) aislaron *Campylobacter* de muchas muestras de agua dulce y agua de mar mediante la técnica de filtración por membrana, pero siempre en presencia de *Escherichia coli* tipo 1, lo cual sugiere que *Campylobacter* procedía de heces de animales, aves y humanos (2). Durante la década pasada *C. je-*

* Laboratorio Clínico Hospital Nacional de Niños
Carlos Sáenz Herrera

juni se aisló de individuos con diarrea, pero esto no fue posible lograrlo con las fuentes de agua incriminadas, quizá debido a que la metodología no fue suficientemente sensible para detectar pequeños números de *C. jejuni* en grandes volúmenes de agua (4,7). La infección humana por *Lamblia intestinalis* ocurre con más frecuencia a través de la contaminación fecal del agua, ya que sus quistes resisten concentraciones de cloro de 0,5 ppm que son las usualmente encontradas en el agua de cañería. Otros medios de infección incluyen las rutas mano-boca y mano-alimentos-boca. También se han reportado brotes epidémicos de giardiasis en Estados Unidos por contaminación del agua (1). En estudios previos realizados en zonas costeras de Costa Rica (3) y en Chile (6) se observó cierta frecuencia en la aparición de *Campylobacter jejuni* y *Treponema hyodysenteriae* junto con flagelados intestinales como *ramblia intestinalis*, *Enteromonas hominis*, *Pentarrichomonas hominis* y *Chilomastix mesnili*. En el presente estudio se determinó la frecuencia de aparición de *Campylobacter* y *Treponema* a partir de muestras de heces con protozoarios intestinales (flagelados y amebas) y sin ellos, con el propósito de sugerir una posible relación endosimbiótica entre esas bacterias y los protozoarios, que bien podrían jugar un papel importante en su transmisión de huésped a huésped, ya que de existir tal relación resultaría lógico aceptar la posibilidad de que los protozoarios actúen como portadores de bacterias patógenas. Varios autores, entre ellos Nemanic y colaboradores, encontraron en 1979 bacterias endosimbióticas habitando dentro del citoplasma de *Giardia muris*. Estos microorganismos, que parecían ser coliformes, estaban rodeados por una pared celular y una membrana plasmática. Ellos se dividieron dentro de los trofozoitos de *Giardia* y fueron transmitidos de huésped a huésped dentro del citoplasma de los quistes de *Giardia*. La presencia de estos endosimbiontes con su material genético extranuclear, induce a preguntar si pueden funcionar como plásmidos en las bacterias capaces de alterar la

resistencia a las drogas, la infectividad y la virulencia de *Giardia*. Cabe pensar también que, si este protozoario puede acarrear estos endosimbiontes bacterianos, igualmente podría acarrear virus y jugar así un papel importante como agente directo de enfermedades (5).

MATERIALES Y MÉTODOS:

En este estudio se analizaron muestras de heces de pacientes que acudían rutinariamente a los servicios de Consulta Externa de la Clínica San Rafael (Cantón Central, Puntarenas). Este trabajo se llevó a cabo durante los meses de febrero, marzo y abril de 1990. Una vez realizado el examen coproparasitológico a todas las muestras que llegaban para este análisis de rutina, se seleccionaron diariamente varias de ellas que presentaban uno o más protozoarios, y algunas que resultaron negativas por dichos parásitos. El número total de muestras fue de 165, de las cuales 129 tenían protozoarios (flagelados, amebas o ambos) y 36 estaban libres de protozoarios (cuadro 1). La consistencia de estas muestras era variada). Posterior al examen coproparasitológico, se hizo un extendido fino de estas muestras seleccionadas, que se tiñó mediante la técnica de Gram modificado, para la búsqueda de las formas características de *Campylobacter sp* (bacilos gramnegativos pleomórficos en formas de coma, de "S", alas de gaviota o pequeños espirilos) y de *Trepomema sp* (bacilos gramnegativos, con formas espirilares de mayor grosor y aproximadamente diez veces más largos que *Campylobacter*) En todas las muestras escogidas se anotó el nombre del paciente, su número de expediente clínico, la fecha de recolección de la muestra, la edad del paciente y las características de la muestra de heces: consistencia, parásitos intestinales encontrados y el resultado del frotis.

Con respecto al método estadístico con el cual se analizaron los datos, este consistió en determinar si existía o no homogeneidad entre las poblaciones con y sin protozoarios con respecto a la presencia de las bacterias estudiadas, mediante una prueba de "chi" cuadrado ($p < 0.05$).

Se probó la hipótesis nula de que la frecuencia de las bacterias en estudio era homogénea en muestras con y sin protozoarios, mientras que la hipótesis alternativa coincidiría con la de este trabajo de que existía diferencia entre las dos poblaciones en cuanto a la frecuencia de *Campylobacter* y *Treponema*. El rechazo de la hipótesis nula llevaría a la conclusión de que la probabilidad de hallar *Campylobacter* o *Treponema* no es igual en pacientes parasitados y en los no parasitados por los protozoarios, de manera que se aceptaría la hipótesis alternativa de diferencia entre las poblaciones, la cual corresponde al objetivo planteado en este trabajo.

RESULTADOS:

La frecuencia de *Campylobacter* y *Treponema* sp en muestras de heces parasitadas o no por protozoarios se representa en el cuadro 1.

El análisis de los datos consistió en encontrar si existía homogeneidad o diferencia en la frecuencia de estas bacterias en muestras de heces con y sin protozoarios, para lo cual se aplicó una prueba estadística de hipótesis (prueba-“chi” cuadrado de homogeneidad, con un nivel de significancia de 0.05). La presencia de *Campylobacter* y *Treponema* resultó ser significativamente más alta en muestras de heces que contenían parásitos protozoarios ($p < 0.05$), sin diferenciación de estos. Sin embargo es necesario destacar que el protozoario hallado con mayor frecuencia fue también intestinal en un total de 89 casos, de las cuales en 25 estaba acompañada por amebas (*Endolimax nana*, *Iodamoeba butschlii* y *Entamoeba Goli*) y en 8 por éstas y por *Pentatrichomonas hominis*.

Asímismo se observa como la frecuencia de hallazgo tanto de *Campylobacter* o de *Treponema* aumenta proporcionalmente con una mayor diversidad de protozoarios en la muestra de heces. Nótese en el cuadro 1 que conforme aumenta esta diversidad, el porcentaje de positividad por *Campylobacter* varía de 8.9% a 50% y el de *Treponema* muestra un incremento de 3.6% a 20%.

CUADRO # 1					
Frecuencia de <i>Campylobacter jejuni</i> y <i>Treponema Hyodysenteriae</i> en muestras de heces parasitadas con protozoarios					
Protozoarios hallados (a)	Resultado de Frotis				
	<i>Campylobacter</i> sp (%)	<i>Campylobacter</i> y <i>Treponema</i> sp (%)	<i>Treponema</i> sp (%)	Negativo sp (%)	TOTAL
<i>Lambli</i> a intestinalis	5 (8.9)	2 (3.6)	2 (3.6)	47(83.9)	56
<i>Lambli</i> a + Amebas	8 (32.0)	-	1 (4.0)	16(64.0)	25
<i>Pentatrichomonas</i> +Amebas	2 (20.0)	-	1 (10.0)	7(70.0)	10
<i>Entero</i> monas hominis +Amebas	1 (33.3)	-	-	2(66.7)	3
<i>Lambli</i> a + <i>Pentatrichomonas</i> +Amebas	4 (50.0)	-	-	4 (50.0)	8
<i>Pentatrichomonas</i> + <i>Chilomastix</i> + Amebas	1 (20.0)	1 (20.0)	1 (20.0)	2 (40.0)	5
<i>Pentatrichomonas</i> + <i>Chilomastix</i> + <i>Eteromonas</i> + <i>Lambli</i> a	-	-	-	2 (100.0)	2
Amebas	5 (25.0)	-	-	15 (75.0)	20
Sin protozoarios	2 (5.6)	-	2 (5.6)	32(88.8) (b)	36
TOTAL	28 (17.0)	3 (1.8)	7 (4.2)	127 (77.0)	165

(a) Especies de amebas: *Endolimax Nana*, *Entamoeba Coli*, *Iodamoeba Butschii*.

(b) Cuatro muestras estaban parasitadas por el helmintos

DISCUSIÓN:

La frecuencia de diarreas causadas por *Campylobacter jejuni* y *Treponema Hyodysenteriae* ha convertido en una práctica común en los laboratorios la búsqueda de estos agentes, ya sea por medio de cultivo o bien por frotis directo, consistiendo el primero en el método de diagnóstico definitivo y el último en el de diagnóstico presuntivo. En trabajos previos (3,6) se observó cierta frecuencia en la aparición de estos microorganismos productores de diarrea junto con protozoarios flagelados intestinales como *Lambli*a intestinalis, *Pentatrichomas hominis*, y *Chilomastix mesnili*. En algunos estudios la frecuencia de aislamiento en humanos de *C jejuni* ha sido superior a la de *Salmonella* y similar a

la de *Shigella*. (6) Los datos obtenidos muestran que frecuentemente *C jejuni* se presenta asociado a otros enteropatógenos que pueden ser bacterianos o parasitarios. La asociación encontrada entre *C jejuni* y *Treponema*, y los protozoarios señala el papel que bien podrían ejercer estos últimos en la transmisión de dichas bacterias productoras de diarrea. También es importante destacar el hecho que las parasitosis múltiples son comunes en poblaciones de estratos socio-económicos bajos, característica encontrada en la población objeto de este estudio. Esto demuestra una vez más, que las condiciones de higiene deficientes favorecen la transmisión mecánica de los protozoarios que actuarían como vectores y la contaminación por vía fecal-oral de la bacteria por sí sola. Por otra parte, las infecciones asintomáticas (sin diarrea) producidas por bacterias que son patógenos reconocidos, ocurren con frecuencia en personas de estos estratos socioeconómicos, debido a la alta contaminación ambiental de origen fecal y a la exposición repetida a infecciones entéricas, con la consiguiente adquisición de inmunidad (6,8). Cabe destacar que las muestras analizadas tenían consistencia variada independientemente de si tenían o no protozoarios o alguna de estas especies de bacterias.

Campylobacter jejuni y *Treponema hyodysenteriae* son productores de cuadros agudos y crónicos de diarreas y su hallazgo en personas aparentemente sanas sugiere que éstas actúan como portadoras. Debido a que no se realizan rutinariamente frotis a todas las muestras de heces, la observación repetida de protozoarios en un paciente, que presenta o no, algún cuadro diarréico, abre la posibilidad de estudiar cada uno de estos casos en busca de una potencial infección por agentes bacterianos como *Campylobacter jejuni* y *Treponema hyodysenteriae*

RESUMEN:

Se considera la relación importante que podría existir entre las bacterias *Campylobacter jejuni* y *Treponema hyodysenteriae* y los protozoarios intestinales. El análisis coproparasitológico de 165 muestras de heces con sus respectivos frotis en busca de estos patógenos causantes de gastroenteritis, abre la posibilidad de que estos protozoarios tengan una relación endosimbiótica con dichas bacterias y actúen como portadores entre un huésped y otro. Se destaca el hallazgo de que al aumentar la diversidad de protozoarios se incrementa la aparición de estas bacterias. El método estadístico utiliza una prueba de "chi" cuadrado ($p < 0.05$) con la cual se determinó que no existe homogeneidad entre las poblaciones con protozoarios respecto a la presencia de las bacterias estudiadas.

BIBLIOGRAFIA:

1. Amin N. Giardiasis. A common cause of diarrheal disease. Postgrad. Med. 1979; 66(5):151-6.
2. Bolton F J, Hinchiffe P M, Coates D, Robertson L. A most probable number method for estimating small numbers of *Campylobacters* in water. J. Hyg Camb. 1982; 59: 185-90.
3. Hidalgo C. Infección intestinal por *Campylobacter*, *Cryptosporidium* y *Treponema* sp. (Comparación de las tres etiologías). Rev. Med. C. R. 1987; 501: 139-43.
4. Mathewson J J, Keswick B. H. Dupont H. L. Evaluation of filters for recovery of *Campylobacter jejuni* from water. Appl. Environ. Microbiol. 1983; 46(5): 985-7.
5. Owen R. L. The ultrastructural basis of Giardia function. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 1980; 74(4): 429-33.
6. Prado V, Braun S, Siri M T, Marambio E, Reyes L. *Escherichia coli* enterotoxigénica y *Campylobacter jejuni* en el síndrome diarréico agudo en lactantes chilenos. Bol. Of Sanit. Panam. 1988; 104(1): 51-62.
7. Sherbeeny M R, Bopp Ch, Wills J G, Morris G K. Comparison of gauze swabs and membrane filters for isolation of *Campylobacter* sp from surface water. Appl. Environ. Microbiol. 1985; 50(3): 611-4.
8. Walker R L, Caldwell B C, Lee E C, Guerry P, Trust T J, Ruiz-Palacios G. Pathophysiology of *Campylobacter enteritis*. Microbiol. Rev. 1986; 50(1): 81-94.