

Fig. 112

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS



EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE ADSORBENTES
SOBRE LA FLORA BACTERIANA DEL INTESTINO.

(Diseño Experimental)

T B S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R R S E N T A

JUANA EDITH PEREZ RAMIREZ

MEXICO, D. F.

1980



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	PAG.
1.0 INTRODUCCION	1
1.1 Análisis de la información existente	2
1.2 Propósito del estudio	5
2.0 MATERIAL Y METODOS	7
2.1 Material biológico	7
2.2 Métodos bacteriológicos	9
2.3 Medios de cultivo e identificación bacteriológica.	9
2.4 Identificación bioquímica	21
3.0 RESULTADOS	23
4.0 COMENTARIOS	30
5.0 RESUMEN Y CONCLUSIONES	34
6.0 REFERENCIAS	36

1.0 INTRODUCCION

Las enfermedades que genericamente reciben el nombre -- de Diarreas constituyen un problema de alta prioridad en la sa-- lud pública. Si bien este tipo de entidades se presentan en cual-- quier época de la vida, adquieren particular importancia entre-- la población infantil tanto por su elevada frecuencia como por-- el alto riesgo de muerte a que dan lugar.

Los datos epidemiológicos correspondientes a los infor-- mes estadísticos disponibles, permiten apreciar la trascendencia que tienen en México como causa de muerte estas enfermedades; -- mientras que en los Estados Unidos de Norteamérica viene ocu-- rriendo una defunción por estas entidades en cada 100,000 habi-- tantes (14), en México fallecieron en 1975 más de 85 mexicanos-- (6). Aun cuando estos datos permiten apreciar la magnitud del -- problema, es preciso resaltar su importancia entre los niños, -- de las 51,061 defunciones por Enteritis y otras Enfermedades Dia-- rréicas que ocurrieron en México en ese año, 28,376 acontecieron en menores de un año y 10,499 en niños con edades comprendidas - entre uno y cuatro años; en cierta forma puede decirse que seis-- de cada diez de los fallecimientos ocurrieron en menores de un - año, dos acontecieron en niños de uno a cuatro años y sólo dos - de cada diez suceden en mayores de cinco años.

Es evidente que el número de personas que fallecen en México por Enfermedades Diarréicas, son sólo una pequeña parte del total que se ve afectado por estos padecimientos, desafortunadamente se desconoce el número de mexicanos que padecen este tipo de enfermedades. Si consideramos la información proporcionada por la Dirección de Epidemiología de la Secretaría de Salud y Asistencia (4), en 1975 el número de enfermos ascendió a 404,175 cifra seguramente menor que la que realmente ocurrió en el País.

1.1 Análisis de la información existente.

Tomando en cuenta la magnitud epidemiológica de las -- diarreas, tanto en lo que respecta a su elevada tasa de mortalidad como por su alta morbilidad, cabe suponer que estas enfermedades generan necesariamente una considerable demanda terapéutica que a su vez promueve el desarrollo y la producción de medicamentos diseñados para su tratamiento. En el Diccionario de Especialidades Farmacéuticas editado en 1979 (16) figuran 132 - medicamentos que supuestamente tienen como objetivo tratar estas enfermedades, entre ellos 97 corresponden a medicamentos que contienen adsorbentes intestinales, como el caolín, la pectina o - el carbón vegetal, sustancias que varias generaciones de médicos han venido utilizando para el tratamiento de las diarreas.

Es difícil obtener una estimación acerca de la frecuencia con que se usan las suspensiones con adsorbentes; por otra parte no existe información respecto a la producción de estos medicamentos por la industria farmacéutica, datos con los cuales podría hacerse una estimación aproximada acerca de su uso. Ante estas circunstancias se interrogó a un grupo de 100 madres que asistían al Servicio de Urgencias del Hospital Infantil de México, debido a que sus hijos tenían diarrea; en el cuadro 1 se puede apreciar cómo sólo el 12% de los niños no habían recibido previamente a su llegada al Hospital ningún medicamento. 69% de los restantes eran ya tratados con una suspensión que contenía caolín, pectina o carbón vegetal, solos o asociados. Así pues, 7 de cada 10 niños recibían por indicación médica o por automedicación diversos medicamentos que contienen adsorbentes disponibles en el mercado farmacéutico.

La información anterior haría suponer que los adsorbentes han sido ampliamente investigados en cuanto a su eficacia en el tratamiento de las enfermedades diarreicas, sin embargo es interesante reconocer a este respecto que existen pocos estudios, debiéndose a esto la diversidad de fechas mostradas en las citas bibliográficas. Si bien al finalizar la primera mitad del presente siglo había cierta motivación por conocer las características químicas y farmacológicas de los adsorbentes comúnmente usados en problemas de diarrea, el interés decreció en

las dos últimas décadas.

En 1937 el Consejo de Alimentación de la Academia Americana de Pediatría emitió un informe en favor del uso de la manzana durante los episodios de diarrea en niños (15); en este documento se hacía énfasis en el efecto que la pectina tenía en la remoción de sustancias tóxicas debido a sus propiedades coloidales y a su acción amortiguadora.

Iniciada la década de los cuarenta Werch y Col. (21) -- (22) publicaron sus experiencias en humanos y en animales de laboratorio, acerca del metabolismo de la pectina; la información proporcionada por estos autores permitió conocer que este polisacárido es en gran parte metabolizado por las bacterias del intestino, particularmente en el cólon, para dar lugar a la formación de ácidos galacturónicos. Por otro lado estos investigadores también señalaron un incremento importante en la formación de gas -- como productos del metabolismo de la pectina.

La eficacia de compuestos que contienen la pectina unida al caolín, usados en el tratamiento de la diarrea, han cobrado poco interés para ser investigados, sin embargo hay algunos estudios a este respecto (23) (18) (17) (12) (8) (7). En todos ellos se encuentran serias objeciones en cuanto a su diseño experimental; la carencia de grupos testigo, la ausencia de diseños doble-ciego, la heterogeneidad clínica de los grupos de estudio y las limitaciones en el tamaño de las muestras investigadas, --

hace que los resultados tengan un valor relativo. Recientemente Alestig (1) ha informado acerca de una investigación que realizó con el fin de conocer el papel que juega el carbón vegetal, - la asociación caolín-pectina y el difenoxilato, en el tratamiento de la diarrea; en este estudio mejor controlado, los autores concluyeron que ninguna de las sustancias ensayadas aceleraron la recuperación de los enfermos.

1.2 Propósito del estudio.

Es indudable que el desarrollo de una investigación -- acerca de la bondad de los adsorbentes en el tratamiento de las diarreas, adolece de serios problemas metodológicos; la mayoría de ellos son consecuencia de la dificultad para conjuntar grupos de enfermos que compartan variables semejantes, tanto en lo que respecta a las características de cada una de las personas que integran la muestra, como en lo referente al agente etiológico de la diarrea, tiempo de evolución de ésta y respuesta - agente-huesped.

Es por esta circunstancia que en la presente investigación se decidió por un modelo experimental a través del cual se pretendió estudiar el efecto que tienen el carbón vegetal y la asociación caolín-pectina sobre la flora intestinal de la rata. El informe acerca de los resultados obtenidos constituye el propósito de la presente tesis.

CUADRO 1

MEDICAMENTOS USADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA DIARREA, PRE-
VIANENTE A LA ATENCION HOSPITALARIA RECIBIDA EN EL AREA-
AMBULATORIA POR LOS NIÑOS.

MEDICAMENTOS	No.
Con caolín-pectina*	64
Sin adsorbentes**	16
Otras sustancias	3
Sin tratamiento	12

* Algunas de estas suspensiones asociadas a antibióticos
anticolinérgicos y otras sustancias químicas.

** Suspensiones de antibióticos y otras sustancias.

2.0 MATERIAL Y METODOS

2.1. Material biológico.

El material de estudio se integró con 60 ratas macho de la cepa Wistar, de 28 días de edad y con un peso promedio de 79g. Cada uno de estos animales se colocó en una jaula metabólica, -- permaneciendo durante todo el estudio en el bioterio a una temperatura constante, entre 20 y 22°C.

A un lote de 10 ratas se le dió una mezcla de caolín-pectina al 5%; la relación entre el peso de estos dos compuestos era de 20 de caolín por 1 de pectina, proporcionando esta mezcla diariamente en 15 g de "Purina Chow". Se decidió ofrecer los 15g de alimento, con 0.75 g de caolín-pectina, debido a que esta cantidad es suficiente para cubrir razonablemente las necesidades diarias de estos animales, a la edad en que se llevó a cabo el estudio. El segundo lote de 10 ratas se tomó como testigo, dándoles únicamente los 15 g de alimento por día. Al tercer grupo, -- también de 10 ratas, se le dió una dosis diaria de carbón vegetal al 2.5%, mezclando 0.375 g de este adsorbente en 15 g de purina. Fue así que en los 3 grupos de animales se usó como alimento "Purina Chow" pulverizada a fin de lograr una mezcla adecuada de las sustancias en estudio.

A otros 30 animales se les provocó diarrea ofreciéndoles

como alimento lecho entera rehidratada* a partir de un producto lácteo descremado, al cual se le agrega aceite vegetal durante el proceso de reconstitución. Esta leche fue edulcorada, al 10% con una miel preparada con 50 g de azúcar y 50 ml de agua y unas gotas de limón: el alimento era ofrecido a razón de 100 ml diarios durante cuatro días a cada rata. A uno de los lotes se le dió una dosis de 5 g de Caolín-Pectina (20:1), en los 100 ml de la leche mencionada; a otro lote se le mantuvo sólo con la leche endulzada, fungiendo como testigo. Al tercer lote se le dió una dosis diaria de 2.5 g de carbón vegetal en los 100 ml de leche.

Siguiendo los esquemas de alimentación mencionados los seis grupos de ratas fueron mantenidos en estudio en las jaulas metabólicas durante 72 hs continuas. Al término de este lapso - los animales fueron sacrificados, previa anestesia y se obtuvieron muestras del contenido intestinal para realizar las cuentas bacterianas. Con este propósito, una vez abierto el abdomen de los animales, se pinzaba el intestino a nivel de su unión con el estómago colocando otra pinza a una distancia de 5 cm de la primera. El lavado duodenal se hizo introduciendo con una jeringa 0.5 ml de solución salina isotónica estéril y succionando 0.3 ml de contenido duodenal para llevar a cabo las diluciones que se indican en la figura 1. De esta manera se obtuvieron las dilu

* COMASUPO.

ciones que iban desde 10^{-1} a 10^{-10} , como ha sido sugerido por Gorbach y col. (10) (11); los procedimientos bacteriológicos -- fueron los ordinariamente seguidos en estos casos (3).

Un esquema del calendario seguido en la obtención de las muestras aparece en las figuras 2 y 2'.

2.2 Métodos bacteriológicos.

El cultivo del material biológico así obtenido, se hizo en cajas de Petri colocando 1 ml de cada dilución en el medio de cultivo a base de agar-tripticasa-soya, tal y como se representa en la figura 3; la incubación se hizo tanto en forma aeróbica como anaeróbica a 37°C durante 48 hs, procediendo luego a efectuar la cuantificación. Para la cuenta bacteriana se escogieron únicamente las placas que tuvieran de 30 a 300 colonias, fácilmente identificables. Para cada rata se hicieron 10 diluciones para cultivo de aerobios y 10 diluciones para cultivo de gérmenes anaeróbicos.

2.3 Medios de cultivo e identificación bacteriológica

Para la preparación del caldo-tripticasa-soya usado como medio de cultivo se empleó la siguiente fórmula adoptando los requisitos de esterilidad que exigen la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica.

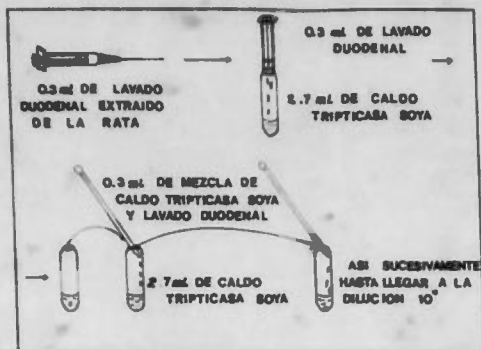


Figura 1. Pasos que se siguieron para la obtención de las diluciones empleadas en los cultivos.

RATAS SIN DIARREA			
INICIO	DIA DE SUMINISTRO DE MEDICAMENTOS	DIA DE OBTENCION DE MUESTRAS DE LAVADO	
de Mayo ratas	11 de Mayo 5 ratas	14 de Mayo 5 ratas	TRATAMIENTO
de Mayo ratas		16 de Mayo 5 ratas	
de Mayo ratas	15 de Mayo 5 ratas	18 de Mayo 5 ratas	TESTIGO.
1 de Mayo 5 ratas	18 de Mayo 5 ratas	21 de Mayo 5 ratas	
0 de Mayo 5 ratas		23 de Mayo 5 ratas	TRATAMIENTO
12 de Mayo 5 ratas	22 de Mayo 5 ratas	25 de Mayo 5 ratas	
			Carbón-Vegetal

Figura 2

Esquema que ilustra el calendario seguido en la investigación.

RATAS CON DIARREA			
DIA DE INDUCCION DE DIARREA	DIA DEL SUMINISTRO DE MEDICAMENTO	DIA DE OBTENCION DE MUESTRAS DE LAVADO	
1° de Junio 5 ratas	5 de Junio 5 ratas	8 de Junio 5 ratas	TRATAMIENT Caolín-Pe
4 de Junio 5 ratas		11 de Junio 5 ratas	
6 de Junio 5 ratas	10 de Junio 5 ratas	13 de Junio 5 ratas	TESTIGO
8 de Junio 5 ratas	12 de Junio 5 ratas	15 de Junio 5 ratas	
11 de Junio 5 ratas		18 de Junio 5 ratas	TRATAMIENT Carbón-1
13 de Junio 5 ratas	17 de Junio 5 ratas	20 de Junio 5 ratas	

Figura 2'.

Esquema que ilustra el calendario seguido en la investigación.

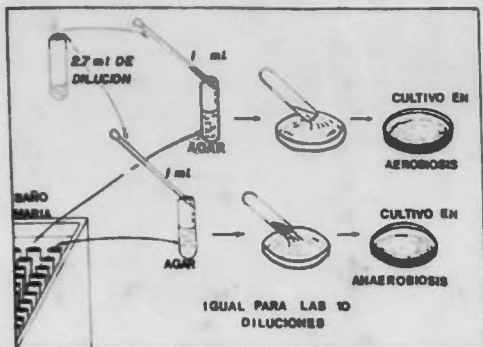


Figura 1. Diagrama que ilustra la manera en que se hicieron los cultivos.

Agua destilada	- - - - -	1 000 ml
*Trypticase Peptona	- - - - -	17.0 g
**Fitona peptona	- - - - -	3.0 g
Cloruro de sodio	- - - - -	5.0 g
Fosfato dipotásico	- - - - -	2.5 g
Dextrosa	- - - - -	2.5 g
pH final 7.3 $\pm$ 0.2		
*Caseína digerida con extracto pancreático USP		
**Proteína de soya digerida con papaína USP.		

Método de preparación: se suspenden 30 g del medio -- de cultivo en 1 lt de agua destilada mezclando el contenido-- vigorosamente; luego se calienta suavemente la mezcla hasta que se disuelva completamente. Este medio de cultivo tiene múltiples utilidades, es bastante adecuado para cultivos de sangre así -- como para llevar a cabo pruebas de acción antimicrobiana.

El agar-tripticase-soya utilizando en nuestro estudio, se hizo con el caldo-tripticase-soya arriba mencionado, agregán dole agar granulado especialmente purificado para propósitos -- bacteriológicos; este último producto se usa como agente solidi ficador. La adición de pequeñas cantidades de agar (0.5 a 1.0%) a los medios de cultivo líquidos (caldo-tripticase-soya) provee un excelente sustrato para el cultivo de microorganismos de di- fícil desarrollo, incluyendo Clostridia.

Método de preparación: el polvo de tripticasa-soya -- (marca BBL) y el agar granulado disueltos en agua destilada, se calientan hasta que hierve la mezcla, después se distribuye ésta en los tubos con tapón que son llevados luego al autoclave -- a no más de 121°C durante 15 minutos (15 lbs de presión). Posteriormente estos tubos son conservados en baño maría a una temperatura de 45°C para evitar que se solidifiquen hasta el momento en que se utilizan.

Las condiciones anaeróbicas se obtuvieron colocando -- las cajas inoculadas en jarras de anaerobiosis con sobres de -- GasPak, previamente activados siguiendo las instrucciones de este sistema. Cada sobre contiene un trozo de papel filtro, una -- tableta de borhidrato de sodio, una tableta de bicarbonato de -- sodio y ácido cítrico.

Cuando se usa apropiadamente esta unidad producen volúmenes adecuados de hidrógeno y dióxido de carbono, para generar las condiciones anaeróbicas que son alcanzadas rápidamente.



Jarra de Anaerobiosis con el sobre activado de GasPak.

En las cajas donde crecieron cultivos aeróbicos se -- hizo la identificación de *Escherichia coli* por medio de las si-

guientes pruebas bioquímicas: glucosa y gas, lactosa, indol, --
movilidad, ácido sulfhídrico, citrato y licuación de gelatina.

El medio de agar de hierro de Kligler se utilizó para
llevar a cabo la prueba de la glucosa y gas, así como para la -
prueba de la lactosa; al mismo tiempo se identificó el ácido --
sulfhídrico por ennegrecimiento del medio debido a la liberación
de sulfuros.

La fórmula del agar de hierro de kligler en gramos por
litro de agua es la siguiente:

Agua destilada - - - - -	1 000 ml
Mezcla de peptonas - - - - -	20.000 g
Lactosa - - - - -	10.000 g
Dextrosa - - - - -	1.000 g
Cloruro de sodio - - - - -	5.000 g
Citrato de amonio férrico - - - -	0.50 g
Tiosulfato de sodio - - - - -	0.50 g
Agar - - - - -	15.00 g
R rojo de fenol - - - - -	0.025 g
pH final 7.4 ±	

Método de preparación: se suspenden en un litro de --
agua destilada 52 g del medio deshidratado (marca BBL), se agi-
ta la mezcla y se calienta. Ya disuelto se hierve durante un mi
nuto para luego distribuir el medio así preparado en tubos que-
se esterilizan a 121°C (15 lbs. de presión) durante 15 minutos.

Luego se deja enfriar en posición inclinada de manera que el -- medio de cultivo logre tener en el tubo una superficie amplia.



El agar de hierro de Kligler se usa el mismo día de su preparación o bien se funde y solidifica antes de usarlo. -- Con este medio se logra la identificación de los bacilos gram - negativos.

Las colonias que crecieron en el medio de cultivo de agar-tripticase-soya correspondiente a la dilución utilizada -- son inoculadas en el medio de Kligler por el método de picadura y estriación. La fermentación de la glucosa se reconoció por un cambio del medio a un color amarillo (reacción ácida del rojo - fenol), los bacilos coliformes generalmente atacan la lactosa-- y producen una reacción ácida tanto en la superficie inclinada-- como en el extremo del tubo.

El medio de Sin se empleó para reconocer la produc- - ción de sulfuros, la formación de indol y la movilidad de los - bacilos entéricos; este medio se prepara con la siguiente fórmu- la:

Agua destilada - - - - -	1 000 ml
Peptona de caseína - - - - -	20.0 g
Peptona de carne - - - - -	6.1 g
Sulfato de hierro y amonio - -	0.2 g

Tiosulfato de sodio - - - - - 0.2 g
 Agar - - - - - 3.5 g
 pH final 7.3 ±

Método de preparación: se suspenden 30 g del material seco (marca BBL) en un litro de agua destilada y se mezcla bien hasta obtener una suspensión uniforme; luego se calienta agitando constantemente y después se hierve durante un minuto. La preparación se distribuye en tubos y se esteriliza en autoclave a 121°C (15 lbs. depresión) durante 15 minutos. Se usa para la identificación y diferenciación de las enterobacterias.

Este medio de cultivo se inoculó por picadura procurando que ésta fuera en el centro de la masa sólida profundizando la picadura hasta la parte media. La reacción de los sulfuros se identifica por el ennegrecimiento del medio a lo largo de la línea de la inoculación. El alto contenido de triptofano en la mezcla peptona-tripticasa, lo hace ideal para la producción de indol; con este propósito se agregan unas gotas del reactivo de Erlich, a los tubos que han sido inoculados ya, si no cambia de color la reacción del indol es negativa, pero si cambia a un tono rosa es que sí existe producción de indol y la reacción es positiva. La movilidad se evidencia por el crecimiento bacteriano lejos de la línea de inoculación.

Agar de citrato de Simmons (inclinado); Este medio fue utilizado para diferenciar las bacterias entéricas gram negati-

vas, basándose en la utilización del citrato.

El agar de citrato de Simmons tiene la siguiente fórmula:

Agua destilada - - - - -	1 000 ml
Fosfato dihidrogenado de amonio --	1.00 g
Fosfato dipotásico - - - - -	1.00 g
Cloruro de sodio - - - - -	5.00 g
Citrato de sodio - - - - -	2.00 g
Sulfato de magnesio - - - - -	0.20 g
Agar - - - - -	15.00 g
Azul de bromotímol - - - - -	0.08 g
pH final 6.9 ±	

Método de preparación: Se suspenden 24.2 g del polvo- (marca BBL) en un litro de agua destilada dejándose reposar durante 5 ó 10 minutos. Luego se mezcla bien y se calienta suavemente agitando el recipiente hasta que el medio hierva durante un minuto. Ya preparado se distribuye en tubos y se esteriliza en autoclave a 121 °C (15 lbs. de presión) durante 15 minutos.- Se saca del autoclave y se dejan enfriar en posición inclinada - (aunque también se puede emplear en placa). El agar de citrato de Simmons es recomendado para diferenciación de bacilos coliformes.

Este medio se inoculó por picadura y estriación de la superficie inclinada, dejando luego los tubos en incubación du-

rante 4 días a 37°C, sólo los microorganismos que utilizan el citrato como única fuente de carbono crecen en el agar de citrato de Simmons. La aparición de un crecimiento visible va acompañada de un cambio alcalino (azul) en el indicador.

Gelatina Bacteriológica: Es una proteína libre de carbohidratos que se emplea para la identificación de microorganismos proteolíticos. su análisis aproximado es el siguiente:

Humedad	- - - - -	10%
Cenizas	- - - - -	0.3%
Viscosidad	- - - - -	-37.0
Grados Bloom	- - - - -	-175 $\pm$ 5.0
pH (al 2% de solución)		5.75 $\pm$

Método de preparación: se suspenden 30 g del polvo -- (marca BBL) en un litro de agua destilada, se mezcla bien y se calienta suavemente agitando de manera continua hasta que el medio hierva durante un minuto; se distribuye en tubos que se esterilizan en autoclave a 121°C (15 lbs depresión) durante 15 -- minutos.

Los tubos se inocularon por el método de picadura y se mantuvieron en incubación durante 4 días a 37°C, para después -- refrigerarlos antes de hacer la lectura. Es positiva si la gelatina se licúa, y negativa si permanece sólida.

2.4 Identificación bioquímica.

Todas las lecturas de las pruebas bioquímicas se hicieron después de por lo menos 48 hs de haber sido incubadas a una temperatura de 37°C, excepto las del citrato y de la gelatina que permanecieron por mayor tiempo en incubación.

Las pruebas bioquímicas se complementaron con la identificación de las bacterias mediante pruebas morfológicas utilizando la tinción de Gram.

Los siguientes pasos fueron seguidos para realizar la técnica de Gram:

1. Se prepara un frotis y se fija a la flama
2. Una vez fijado se cubre con cristal violeta durante un minuto.
3. Se lava con agua destilado ó corriente
4. Luego se cubre con solución de lugol durante un -- minuto.
5. Se lava con agua destilada ó corriente.
6. Se decolora por 30 segundos con alcohol-acetona -- (acetona 30% alcohol 70%).
7. Nuevamente se lava con agua destilada ó corriente--
8. Se cubre durante 10 a 20 segundos con safranina.
9. Finalmente se lava otra vez con agua destilada ó-- corriente y se deja secar al aire.

Al observar al microscopio las bacterias serán Gram - positivas si tienen de color violeta, mientras que las bacterias Gram negativas tienen de rojo.

Para la identificación bioquímica de Escherichia coli se siguieron los siguientes criterios:

<u>Prueba</u>	<u>Resultado</u>
1. Protis	bacilos Gram-negativos
2. Glucosa y gas	+ (producción variable de gas)
3. Lactosa	+ (dilatada)
4. Indol	+
5. Movilidad	V + (variable)
6. H ₂ S	-
7. Citrato	-
8. Gelatina	-

3.0 RESULTADOS

Durante el lapso de estudio se observaron algunos cambios en la materia fecal de las ratas; en los dos lotes de animales sin diarrea, se apreciaron diferencias en el color de las evacuaciones con respecto al observado en las que integraron el grupo testigo. Las que recibieron el carbón vegetal presentaron evacuaciones de color más oscuro, mientras que las que estuvieron sometidas a la mezcla de caolín-pectina, el color de la materia fecal tendió a ser más clara y en algunas con un franco color blanquecino.

Entre las ratas con diarrea hubo también cambios en la coloración de la materia fecal, con relación al excremento del grupo tomado como testigo; sin embargo no se apreciaron cambios de consistencia que fueran notados a simple vista. Por otra parte, los 2 grupos de ratas con diarrea que recibieron los adsorbentes, mostraron cambios en el comportamiento; todas ellas presentaban el pelo erizado y respondían agresivamente al pretender cogerlas. Por otra parte al abrir el abdomen de los animales sometidos a tratamiento con adsorbentes, mostraban una distensión importante en el intestino grueso.

En el cuadro 2 se presentan las cuentas de colonias bacterianas encontradas en el grupo de 30 ratas sin diarrea. Como se puede apreciar, en el grupo con caolín-pectina los prome-

dios geométricos fueron significativamente más altos en las bacterias aeróbicas y anaeróbicas, que las registradas en el grupo testigo; la diferencia entre los promedios de colonias aeróbicas dió lugar a un valor de t de 3.2, siendo éste de 2.8 al comparar los promedios encontrados en las anaeróbicas; el nivel de significación para estos dos valores es menor de 0.05. En el mismo grupo que recibió la mezcla de caolín-pectina, hubo 4 ratas en las que fue posible identificar E. coli a razón de - - - $29.2 \times 10^{3.75}$.

El grupo que recibió el carbón vegetal no tuvo promedios que fuesen estadísticamente diferentes de los encontrados en el grupo testigo; no obstante, en 2 de estas ratas se identificaron colonias de E. Coli lo cual contrasta con la ausencia de este germen entre las ratas testigo.

Aún cuando la cuenta de bacterias también mostró ser discretamente mayor entre las 10 ratas con diarrea que recibieron caolín-pectina, la diferencia no fue estadísticamente significativa de la registrada en los animales testigo. Lo mismo aconteció en lo que respecta al número de bacterias aeróbicas y anaeróbicas identificadas entre las que recibieron el carbón vegetal; las diferencias tampoco alcanzaron un nivel de significación importante. Sin embargo es preciso hacer notar que en estos 3 lotes de ratas se identificaron colonias de E. coli, lo cual contrasta con lo observado en los grupos sin diarrea. (ver cua--

dro 3).

Las figuras 4 y 5 ilustran acerca de la dispersión -- en las cuentas de colonias bacterianas en los grupos de ratas -- con diarrea y sin diarrea; en ellas es posible apreciar la notoria divergencia en las cuentas de bacterias identificadas en -- las ratas que recibieron el caolín y la pectina con respecto a las encontradas en los grupos testigo.

CUADRO 2

COLONIAS BACTERIANAS DE AEROBIOS Y ANAEROBIOS IDENTIFICADOS EN EL INTESTINO DELGADO DE DOS GRUPOS DE RATAS SIN DIARREA QUE RECIBIERON CARBÓN VEGETAL Y CAOLIN-PECTINA, CON RESPECTO A LAS CONTABILIZADAS EN UN GRUPO TESTIGO.

GRUPO	PROMEDIO GEOMETRICO	DESVIACION ESTÁNDAR	VALOR DE t
<u>Testigo (n=10)</u>			
Aerobios	$102.3 \times 10^{2.50}$	$80.8 \times 10^{0.71}$	-
Anaerobios	$96.6 \times 10^{2.80}$	$69.9 \times 10^{0.92}$	-
<u>E. coli (n=0)</u>	-	-	-
<u>Caolín-pectina (n=10)</u>			
Aerobios	$139.2 \times 10^{3.40}$	$85.4 \times 10^{0.52}$	3.2**
Anaerobios	$103.8 \times 10^{3.80}$	$52.1 \times 10^{0.63}$	2.8**
<u>E. coli (n=4)</u>	$29.2 \times 10^{3.75}$	$24.9 \times 10^{0.50}$	-
<u>Carbón Vegetal (n=10)</u>			
Aerobios	$147.1 \times 10^{2.50}$	$56.9 \times 10^{0.53}$	0.0
Anaerobios	$127.3 \times 10^{3.10}$	$45.4 \times 10^{0.74}$	0.8
<u>E. Coli (n=2)*</u>	-	-	-

* Una con 2×10^3 y otra con 19×10^3

** $p < 0.05$

CUADRO 3

COLONIAS BACTERIANAS DE AEROBIOS Y ANAEROBIOS IDENTIFICADAS EN EL INTESTINO DELGADO DE DOS GRUPOS DE RATAS CON DIARREA QUE RECIBIERON CARBÓN VEGETAL Y CAOLÍN-PECTINA, CON RESPECTO A LAS - CONTABILIZADAS EN UN GRUPO TESTIGO CON DIARREA.

GRUPO	PROMEDIO GEOMETRICO	DESVIACION ESTANDAR	VALOR DE t
<u>Testigo (n=10)</u>			
Aerobios	$112.9 \times 10^{2.80}$	$73.4 \times 10^{0.63}$	-
Anaerobios	$113.5 \times 10^{3.10}$	$57.5 \times 10^{0.74}$	-
<u>E. coli</u> (n=3)	$33.7 \times 10^{2.67}$	$24.2 \times 10^{0.58}$	-
<u>Caolín-pectina (n=10)</u>			
Aerobios	$141.4 \times 10^{3.40}$	$59.7 \times 10^{0.84}$	1.8
Anaerobios	$123.9 \times 10^{3.60}$	$37.7 \times 10^{0.84}$	1.4
<u>E. coli</u> (n=2)*	-	-	-
<u>Carbón vegetal (n=10)</u>			
Aerobios	$123.0 \times 10^{2.40}$	$72.6 \times 10^{0.84}$	1.2
Anaerobios	$103.9 \times 10^{3.10}$	$73.2 \times 10^{0.74}$	0.0
<u>E. coli</u> (n=3)	$15.0 \times 10^{3.00}$	$17.4 \times 10^{1.00}$	-

* Una con 24×10^4 y otra con 41×10^3

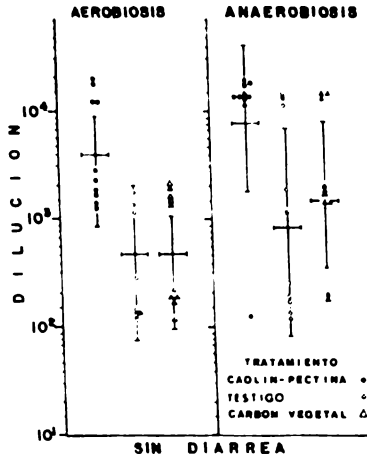


Figura 4. Cuentas de colonias de aerobios y anaerobios encontrados en el intestino de ratas sujetas a tratamiento con carbón vegetal y caolín-pectina. El grupo de caolín-pectina mostró una diferencia significativa de aerobios -- ($t=3.2$ $p < 0.05$) y anaerobios ($t=2.8$, $p < 0.05$).

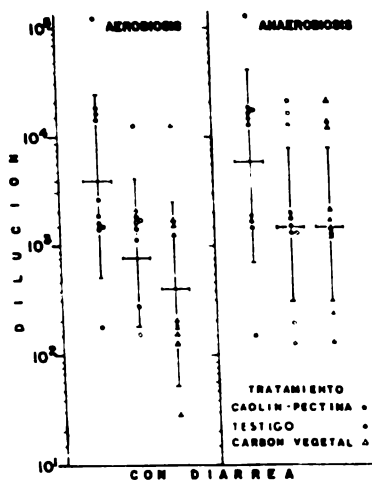


Figura 5. Cuentas de colonias de aerobios y anaerobios encontrados en el intestino de ratas con diarrea sujetas a tratamiento con carbón vegetal y caolín-pectina. No hubo diferencias significativas al establecer las comparaciones.

4.0 COMENTARIOS

El empleo de los llamados adsorbentes en el tratamiento sintomático de las diarreas, se ha justificado en base a varios supuestos efectos farmacológicos (9); se atribuye a estas sustancias una acción demulcente que mitiga la irritación de la mucosa intestinal, ejerciendo un efecto protector. También se presume que estos compuestos químicos tienen una acción astringente, por lo cual disminuyen las secreciones a través de las mucosas; por otro lado se les señala un efecto inhibitor en el crecimiento de las bacterias, actuando también como adsorbentes de las toxinas bacterianas.

A pesar de la diversidad de efectos que se asignan a estas sustancias, la ausencia de investigaciones clínicas bien controladas, impide afirmar categóricamente que tengan un efecto favorable en el tratamiento de las diarreas; su uso casi rutinario en estos problemas, obedece al juicio que de estas sustancias se ha hecho a lo largo de varias décadas y no a la investigación científica a que debe de someterse todo producto que va a ser usado por el hombre.

La presente investigación pretendería sólo conocer la influencia que estas sustancias pudieran tener sobre la flora bacteriana del intestino; sobre todo por el hecho de que se ha mencionado la posibilidad de que ejerzan un papel inhibitor en

el crecimiento de los gérmenes que habitan en el tubo digestivo. Los resultados no permiten dar apoyo a tal suposición, por el contrario indican un incremento significativo en el número de bacterias, bajo la acción de la mezcla de caolín con la pectina. Los estudios de Werch e Ivy (21) (22) habían mostrado ya, que de tener la pectina un efecto favorable en el tratamiento de las diarreas, éste debería atribuirse a la producción de ácido galacturónico en el intestino, como consecuencia del metabolismo de este azúcar bajo la acción de las bacterias; las observaciones hechas por estos autores en humanos y perros, permite suponer que al descomponerse la pectina favorece el crecimiento de colonias bacterianas en el intestino. Estos mismos autores (20) demostraron in vitro que en el metabolismo de este polisacárido por acción de bacterias presentes en la materia fecal del hombre, aumenta la acidez del medio disminuyendo consecuentemente su pH; es por esta razón que se puede suponer que el incremento de colonias bacterianas se hace a expensas de los gérmenes que requieren de un medio relativamente ácido para su supervivencia. Así pues, de tener la pectina un efecto favorable en el tratamiento de las diarreas de origen bacteriano, éste sería como consecuencia de los cambios cualitativos y cuantitativos en la flora intestinal; la suplantación de enterobacterias por gérmenes acidófilos, sería concretamente el efecto favorable que pudiera atribuirse a la pectina, lo cual habría que demostrar.

Es importante reconocer que los hallazgos son explicables por el efecto de la pectina, ya que el caolín, que es un silicato hidratado de aluminio, es una sustancia relativamente inerte que tiene sólo un efecto adsorbente (2) Es preciso sin embargo reconocer que experimentalmente el caolín ha sido estudiado en ratas desde el punto de vista de su efecto tóxico (5); en estos animales se ha observado que el caolín produce distensión del intestino, acompañándose entre otros sistemas de anorexia, oligodipsia e indiferencia, sin que estas manifestaciones sean dependientes de la dosis administrada. Se señala también que al segundo o tercer día de haber eliminado el caolín, cuando éste ha sido administrado a dosis tóxicas, la tercera parte de las ratas muestran hipercinética agresiva. Esta información permite explicar la dilatación observada en el intestino de las ratas sujetas a investigación y probablemente también el cambio habido en su comportamiento caracterizado por agresividad.

Desde el punto de vista bacteriológico es importante hacer notar que in vitro se ha demostrado una disminución en el número de C. lividum, cuando esta bacteria se cultiva en un medio al que se le adiciona caolín (13); sin embargo la población de Pseudomonas sp no se modifica significativamente.

En lo que respecta a la presencia de E. coli en el intestino de las ratas, cabe hacer notar que normalmente, cuando se encuentra, es en pequeño número (19). Es por esta razón que-

la presencia de E. coli en el intestino de las ratas fue una observación relativamente casual; sin embargo este germen no se encontró en el grupo de ratas testigo sin diarrea. Tal parece que en algunos animales que recibieron los adsorbentes, hubo cambios cualitativos en la flora bacteriana; algo semejante se observó cuando se produjo la diarrea en ellas. En el estudio al que se ha hecho (19) mención, se consideró que al disminuir la motilidad pueden aparecer colonias de E. coli; esta circunstancia hace pensar en la posibilidad de que la relativa inactivación del caolín en el intestino de los animales haya alterado su función motil.

5.0 RESUMEN Y CONCLUSIONES

La bondad de los adsorbentes en el tratamiento de las diarreas, obedece supuestamente a la acción protectora y astringente que ejercen estas sustancias químicas sobre la irritación y secreción de la mucosa del intestino, inhibiendo al mismo tiempo la flora bacteriana y adsorbiendo sus toxinas. Tales efectos derivan de hipótesis aún no comprobadas; es por esta razón que se consideró pertinente investigar el efecto del carbón vegetal y de una mezcla de caolín-pectina, sobre la flora intestinal de la rata.

La investigación se llevó a cabo en 60 ratas blancas, de 28 días de edad, a 30 de las cuales se les indujo diarrea -- alimentándolas con leche. Fue así que se integraron 2 grupos de 30 animales, 30 con diarrea y 30 sin diarrea; cada uno de ellos se dividió en lotes de 10 ratas. De esta manera, en cada grupo, 10 animales recibieron por 72 horas carbón vegetal mezclado al alimento, 10 ingirieron caolín-pectina y 10 quedaron como testigo. Al término del experimento las ratas fueron sacrificadas, -- obteniéndose para cultivo bacteriológico una muestra del contenido intestinal.

El análisis de los resultados permitió conocer que el número de colonias bacterianas, aeróbicas y anaeróbicas, aumentó significativamente en el intestino de las ratas sin diarrea, --

cuando reciben una mezcla de caolín pectina. Estos hallazgos se explican en base a la degradación de la pectina por las bacterias que habitan en el intestino; se presume que el consumo de este compuesto químico por los microorganismos presentes en el tubo digestivo favorece su proliferación.

6.0 REFERENCIAS

1. Alestig, K., Stenquist, K. y Trollfors, B.: Skall akut diarré behandlas med. Kol, Kaolin-pektin, difenoxylat-eller -- ingenting alls?. *Läkartidningen*, 74:1498, 1977.
2. Armstrong, N.A. y Clarke, C.D.: Influence of solution electrolyte content and dielectric constant on drug adsorption-by kaolin. *J. Pharm. Sci.* 62: 379, 1973.
3. Becton pickinson de México: Manual de procedimientos de laboratorio de los productos BBL. Editores Asociados, México, 1974.
4. Boletín Epidemiológico. Rev. Salud Pública. Mex 18 : 793,- 951, 1087; 1976.
5. Boyd, E.M., Covert, E.L. y Shanas, M.N.: Death from bowel - obstruction due to intragastrically administered kaolin, *Industrial Med. Surg.* 34:874, 1965.
6. Dirección General de Bioestadística: Compendio de estadísticas vitales de México. Serie Bioestadística 1. Subsecretaría de Planeación, S.S.A., México, 1978.
7. Diriaert, R., Poujol, J. y Zamet, P.: Expérimentation clinique du pectigels dans les diarrhées aiguës du nourrisson. *Progr Med. (Paris)*, 93:539, 1975.
8. Dubow, E.: "Nonspecific" diarrhea in infants and young children. *Clin. Pediat. (Phila.)* 3:3:168, 1964.
9. Editorial Medical Letter on Drugs and Therapeutics, 5:61, -- 1963.

10. Gorbach, L.S., Mahas, L., Lerner, I.P. y Weinstein, L.: Studies of intestinal microflora I. Effects of diet, age, and periodic sampling on numbers of fecal microorganisms in -- man. *Gastroenterology*, 53: 6: 845, 1976.
11. Gorbach, L.S., Plaut, G.A., Mahas, L. Weinstein, L.: Studies of intestinal microflora II. Microorganisms of the small - intestine and their relations to oral and fecal flora. *Gastroenterology*, 53: 6: 856, 1967.
12. Kinnear, G.D., F.R.C.P.: Drugs Used in the symptomatic - - treatment of diarrhea. *Canad. Med. Ass. J.* 91: 971, 1964.
13. Maigettr, R.Z. y Pfister, R.M.: A mixed bacterial popu-- lation in a continous culture with and without Kaolinite. -- *Can. J. Microbiol.* 21:173, 1975.
14. Naciones Unidas: Demographic Year-book. New York. 1978.
15. Report of the Council on Foods A.A.P.: The apple in the ma nagement of diarrhea in children. *J.A.M.A.* 109: 1636, 1937.
16. Rosenstein, E.: Diccionario de Especialidades Farmacéuticas 25 a Edición. Ediciones P.L.M., México, 1979.
17. Saldaño, S.F.: Comprobación terapéutica de la fórmula anti diarréica Diapec, en pacientes pediátricos con diarrea in fecciosa. *Medicina (Méx.)* 39: 819: 193, 1959.
18. Sanz, M.R. y Trujillo, D.H.: El empleo de la fórmula anti-diarréica Diapec para el Tratamiento de los síndromes diarréicos infantiles. *Medicina (Méx.)* 39: 820: 221, 1959.
19. Vincent, J.G., Veomett, R.C. y Riley, R.F.: Relation of -- the indigenous flora of the small intestine of the rat to post-irradiation bacteremia. *J. Bact.* 69:38, 1955

20. Warch, S.C., Day, A.A., Jung, R.W. & Ivy, A.C.: Role of -- the intestinal bacteria in the decomposition of pectin. - Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 46:569, 1941.
21. Warch, S.C. & Ivy, A.C.: On the Fate of Ingested Pectin - - Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 44:366, 1940.
22. Warch, S.C. & Ivy, A.C.: A study of the metabolism of in--gested pectin. Am. J. Dis. Child. 62:499, 1941.
23. Winfield, W.I.: Treatment of nonspecific afebrile diarrhea with Donnagel. Am. J. Gastroenter. 31:4, 438, 1959.