

11237  
Zej  
17



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina

División de Estudios Superiores

Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional I.M.S.S.

**Estudio Bacteriológico, Histológico y Ultramicroscópico  
de Intestino Delgado en 18 Niños con  
Gastroenteritis Prolongada**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



**TESIS DE POST-GRADO**

Que para obtener el título de :

P E D I A T R A  
P r e s e n t a s :

**FEDERICO BRIBIESCA GODOY**

Director de Tesis: Dr. Pedro Coello Ramírez

**México, D. F. 1984**



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

En los últimos 15 años se le ha dado mayor importancia al hallazgo de sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado (S B I D) en los niños con diarrea prolongada. En 1968 Gracey y Cols (1) fueron los primeros en llamar la atención en la asociación de SBID en niños con resección intestinal complicada con diarrea prolongada; posteriormente en 1970, Coello y Cols (2) reportaron contaminación bacteriana del intestino delgado en niños con neumatosis intestinal; dos años más tarde los mismos autores (3) comunicaron la relación de SBID e intolerancia a azúcares como un mecanismo perpetuante de la diarrea; a partir de esa fecha han aparecido diferentes reportes en la literatura sobre el SBID.

Canty y Blake (4) en 1977 reportaron los posibles mecanismos patogénicos de Escherichia coli 015 al demostrar su capacidad adherente sobre la mucosa del intestino delgado de conejos. Takeuchi y Cols (5) un año más tarde -- utilizando el mismo modelo experimental, caracterizaron las lesiones ultraestructurales del enterocito y su estrecha relación con las bacterias enteroadherentes, así como la destrucción de las microvellosidades en los sitios donde se encuentran los microorganismos.

En 1980, Ulsen y Rollo (6) reportaron un niño con SBID por E coli 0125 y diarrea prolongada, demostrando en la biopsia del intestino delgado hallazgos similares a los descritos en los modelos animales. Rothbaum y Cols (7) reconfirmaron la capacidad de adherencia de otro serogrupo de E coli enteropatógena (EPEC) al reportar 15 niños con SBID por E coli 0119 y gastroenteritis. Simultáneamente Clausen y Christie (8) informaron de dos pacientes pediátricos con diarrea prolongada y SBID por E coli 0111 con capacidad adherente.

En el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social, la diarrea prolongada es una de las principales causas de internamiento en el servicio de Gastroenterología, encontrándose SBID

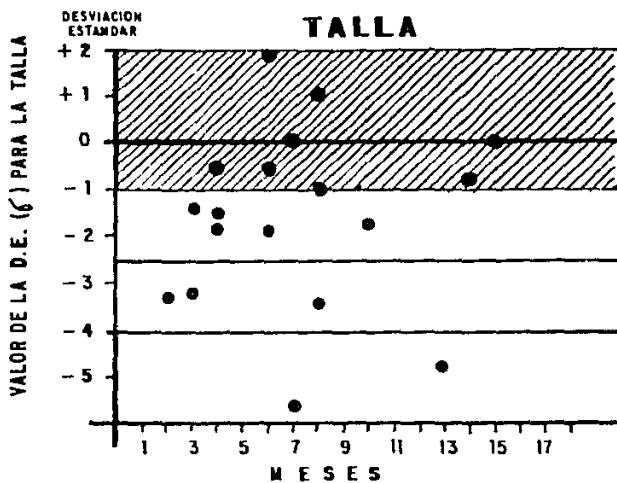
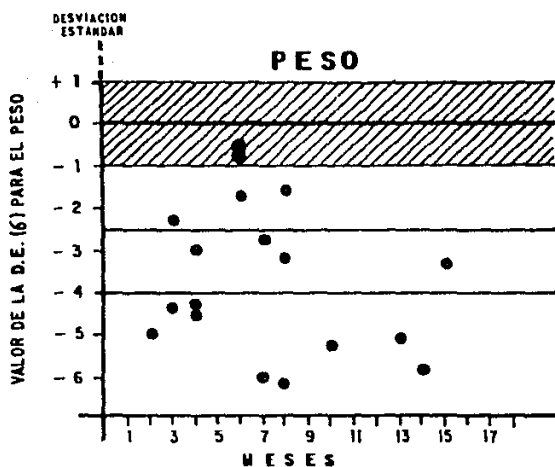
hasta en un 45% de estos pacientes (9). En el presente estudio se propuso investigar las características bacteriológicas, así como las alteraciones microscópicas y ultraestructurales del intestino delgado en niños con SBID y diarrea prolongada.

## II. MATERIAL Y METODOS

Se seleccionaron 18 pacientes con diagnóstico de diarrea prolongada y SBID, considerándose a la primera cuando exceda de 15 días y al segundo cuando el cultivo cuantitativo del líquido duodenal (CLLD) desarrollaba más de  $10^5$  colonias por ml (10). Se descartaron aquellos pacientes en los cuales se identificaron en fresco hongos o parásitos.

El promedio de edad en los niños estudiados fue de 7.1 meses - con variaciones extremas de 2 a 15 meses. El estado nutricional de acuerdo a la clasificación de Gómez (11) fue, 16 con desnutrición de grado variable y solo 2 eutróficos; según la clasificación de Ramos-Galván (12) usando los valores de la desviación estándar para evaluar el peso y la talla, se agrupan en la figura 1 y 2 considerándose desnutridos agudos a 6 niños y crónicos a 10. El tiempo de evolución de la diarrea al momento del estudio fue de 24 días como promedio con variaciones extremas de 15-42 (cuadro No. 1). A 17 de los niños se les había administrado uno o varios antibióticos antes del ingreso al hospital, siendo los más frecuentemente empleados ampicilina, gentamicina y metronidazol (cuadro No. 2).

A cada uno de los pacientes se les aplicó el protocolo de estudio de diarrea prolongada establecido en el servicio de Gastroenterología, tomando en forma rutinaria coprocultivo, coproparasitoscópicos en serie de 3, ameba en fresco en serie de 3 y absorción de d-xilosa; cada uno de ellos fue so-metido a reemplazo de líquidos y electrolitos así como manejo dietológico, indi-vidualizando de acuerdo a la condición de cada paciente.



Figuras No. 1 y 2. Valores de la desviación estandar para peso y talla de los 18 pacientes; es muy evidente el grado de afectación del peso y en menor proporción la talla, destacando 10 niños que pueden considerarse como desnutridos crónicos.

1. Edad media	7.1 meses ( 2 - 15 meses )
2. Estado nutricional:	
Eutróficos:	2 ( 11% )
Desnutrición grado I	3 ( 16% )
Desnutrición grado II	4 ( 22% )
Desnutrición grado III	9 ( 50% )
3. Tipo de desnutrición:	
Aguda	6
Crónica	10
4. Tiempo de evolución de la diarrea:	$\bar{X}$ 24 días ( 16 - 42 )
( al momento del estudio )	

Cuadro No 1 : Resume las características clínicas de los 18 pacientes estudiados.

Antimicrobiano empleado +	Número de pacientes.
Ninguno	1
Ampicilina	14
Gentamicina	12
Metronidazol	8
Amikacina	2
Dicloxacilina	2
Nistatina	2
Eritromicina	1
Penicilina	1
Carbenicilina	1

Cuadro No 2: Tipo y número de antimicrobianos utilizados antes del ingreso al hospital.

Se tomó cultivo cuantitativo de líquido duodenal (CCID) usando la técnica previamente descrita (2), la primera muestra obtenida se usó para investigar en fresco parásitos, hongos y bacterias. La siguiente muestra se sembró en gelosa-sangre, MacConkey y BBL en aerobiosis y posteriormente se efectuaron las cuentas de colonias ( cuenta-colonias modelo Quebec ). Cada bacteria fue identificada de acuerdo a la clasificación de Edwards y Ewing (13) y guardadas por triplicado en BHI-glicerol al 50% en papel filtro y bolsas de polietileno estériles selladas en refrigerador de menos 70°C y posteriormente a cada una se les investigó capacidad de invasividad, producción de toxina termolábil y termoestable con los modelos de Sereny, asa ligada de conejo y en ratón lactante respectivamente (14-16).

A los pacientes seleccionados se les efectuó biopsia de intestino delgado dentro de las primeras 24 horas de confirmado el SBID usando una capsula pediátrica de Watson, colocándola fluoroscópicamente en el ángulo de Trietz. La muestra obtenida se dividió en dos fragmentos, fijándose de inmediato una de ellas en formalina buffer al 10% y la otra en glutaraldehído al 3% para microscopía de luz y electrónica respectivamente.

Las muestras para microscopía de luz fueron teñidas con hematoxilina y eosina, PAS, tricrómico de Masson y Brown-Brenn, esta última para identificar bacterias. La evaluación de las muestras se efectuó de acuerdo al protocolo de Schenk (17).

Como un paso previo para el estudio de microscopía electrónica todos los especímenes fueron sometidos a cortes semifinos (1 µm) y teñidos con azul de toluidina con el objeto de seleccionar el material para el estudio ultramicroscópico.

La muestra para microscopía electrónica se postfijó con tetróxido de osmio, se contrastó con acetato de uranilo y citrato de plomo y fue obser

vada en el microscopio modelo Philips 300 e interpretados los resultados con un protocolo diseñado específicamente para este trabajo, describiendo la localización y tipo de microorganismos, grado de lesión y extensión de la misma, evaluándose glicocálix, microvellosidades, membrana apical, membrana intercelular, membrana basal, mitocondrias, lisosomas, retículo endoplásmico, núcleo, así como la presencia de figuras de mielina o vacuolización del citoplasma; también se evaluó si las lesiones guardaban alguna relación con las bacterias.

En tres de las biopsias fijadas con formalina e incluidas en parafina fue posible efectuar tinción con inmunoperoxidasa (método de peroxidasa-antiperoxidasa) (18) con antiseros específicos para identificar el tipo de bacterias presentes en el tejido; dos de las biopsias correspondieron a los pacientes No 1 y 8 con SBTD por E coli 0111 y la tercera al paciente No 15 con SBTD por Salmonella Heidelberg.

A la biopsia del paciente No 4 con SBTD por E coli 0111 también se le efectuó microscopía electrónica de barrido (MEB).

### III. RESULTADOS

El material clínico integrado por 18 pacientes correspondió a niños clínicamente muy graves, con afectación severa del estado nutricional, todos ellos con múltiples complicaciones (cuadro No 5) predominado la deshidratación e intolerancia a azúcares, correspondiendo 4 a monosacáridos, 10 a intolerancia generalizada a los disacáridos y 4 a la lactosa. La absorción de d-xilosa fue deficiente en todos ellos como se muestra en el cuadro número 4; presentaron datos de sepsis 9, de los cuales 7 tenían cuadro clínico antes de recibir alimentación parenteral y en 3 de ellos se confirmó el diagnóstico por aislamiento de Klebsiella sp en sangre. Otros dos pacientes desarrollaron sepsis cuando recibían alimentación parenteral y los homocultivos mostraron Staphylococcus aureus; 14 de los pacientes fueron sometidos a alimentación parenteral por un número variable de días que fluctuó de 5 a 35 con un promedio de 11.3; a los



Deshidratación y desequilibrio electrolítico	18 ( 100% )
Intolerancia a azúcares	18 ( 100% )
* Septicemia	9 ( 50% )
Choque hipovolémico	3 ( 16.6% )
Sangrado de tubo digestivo	2 ( 11.1% )
Coagulación intravascular diseminada	1 ( 5.5% )
Neumatosis intestinal	1 ( 5.5% )
Invaginación ileocecal	1 ( 5.5% )
Artritis piógena	1 ( 5.5% )
Trombosis de vena renal	1 ( 5.5% )

\* Confirmada bacteriológicamente en 5 pacientes.

Cuadro No: 3: Los pacientes mostraron múltiples complicaciones, destacando la deshidratación, el desequilibrio hidroelectrolítico, la intolerancia a los azúcares y las infecciones sistémicas.

1. INTOLERANCIA A AZUCARES:	
a) Intolerancia a lactosa	4 ( 22.2% )
b) Intolerancia generalizada a disacáridos	10 ( 55.6% )
c) Intolerancia a monosacáridos	4 ( 22.2% )
TOTAL:	18 ( 100% )
2. ABSORCIÓN DE D-XILOSA A LOS 60 Min.: *	
a) de 1 a 5 mg/dl	8 ( 44.4% )
b) de 6 a 10 mg/dl	5 ( 27.8% )
c) de 11 a 18 mg/dl	5 ( 27.8% )
TOTAL:	18 ( 100% )

\* Normal de d-xilosa:  $28 \pm 7.5$  mg/dl.

Cuadro No. 4: Todos los pacientes cursaron con intolerancia a los azúcares y con franca disminución en la absorción de la d-xilosa.

4 restantes se les mantuvo en ayuno de 3 a 5 días con soluciones endovenosas de glucosa y electrolitos. El tratamiento en todos los casos fue ayuno que varió de 3 a 20 días; se utilizaron antimicrobianos para gram negativos y positivos en los pacientes con sospecha de sepsis.

La duración total de la diarrea varió de 23 a 105 días con un promedio de 49 días y su intensidad se evaluó en la fase aguda, con los pacientes en ayuno, variando las pérdidas de 75 a 150 ml por kg de peso por día; hubo dos fallecimientos (11%) que correspondieron a niños con cuadro de sepsis, uno de ellos por *Staphylococcus aureus* y en el otro no se logró aislar germen en sangre.

Los resultados de los coprocultivos y de los CCLD se muestran en el cuadro número 5, observándose que hubo coincidencia del mismo germen aislado en ambos sitios en 14 de los casos; hubo predominio de *E coli* enteropatógena (EPEC). Solo en 3 de los CCLD crecieron en forma simultánea dos gérmenes con cuentas significativas. Ninguna de las bacterias fue invasora en la prueba de Sereny y solo la *E coli* O18ac aislada del paciente número 11 fue productora de toxina termolábil y termoestable; el resto fueron negativas para dichas toxinas.

Los hallazgos histopatológicos de la biopsia yeyunal en relación al tipo de germen aislado, grado de atrofia y localización de las bacterias evaluados con microscopio de luz, se muestran en el cuadro número 6, llamando la atención que 9 de ellos mostraron atrofia grado IV, estando en ese grupo los dos pacientes con peso y talla normales. La localización del germen fue sobre la superficie del epitelio en 17 casos y en 4 también se identificaron en la lámina propia; solo en una biopsia hubo localización de las bacterias exclusivamente en la lámina propia. El infiltrado inflamatorio observado en lámina propia e intraepitelial fue linfoplasmocitario y en forma característica en los pacientes con SBID por *Salmonella* hubo aumento marcado en el número de macrófagos.

Paciente No.	CCID	Colonias/ml	COPROCULTIVO.
1	E coli 0111 :B4:H(-)	$2.3 \times 10^7$	E coli 0111
2	E coli 0111 :B4:H(-)	$1.3 \times 10^6$	E coli 0111
3	E coli 0111 :B4:H(-)	$1.1 \times 10^6$	E coli 0111
4	E coli 0111 :B4:H(-)	$2.6 \times 10^7$	E coli 0111
5	E coli 0111 :B4:H(-)	$6.4 \times 10^6$	E coli no patógena
6	E coli 0111 :B4:H(-)	$1 \times 10^7$	E coli 0111
7	E coli 0111 :B4:H(-)	$1 \times 10^7$	E coli 0111
8	E coli 0111 :B4:H(?)	$1.4 \times 10^8$	E coli 0111
9	E coli no patógena	$3.2 \times 10^7$	E coli no patógena
10	E coli 0125:B15	$4.5 \times 10^7$	E coli no patógena
11	E coli 018ac	$1.4 \times 10^7$	E coli 018
12	Klebsiella ozaenae	$5.8 \times 10^5$	E coli no patógena
13	Klebsiella ozaenae	$1.5 \times 10^6$	Klebsiella ozaenae
14	Klebsiella ozaenae	$1.2 \times 10^6$	E coli 0119
15	Salmonella Heidelberg	$2.8 \times 10^6$	Salmonella Heidelberg
16	Salmonella typhimurium y Klebsiella ozaenae	$8.2 \times 10^5$ $5.4 \times 10^5$	Klebsiella ozaenae y E coli no patógena
17	E coli no patógena y Klebsiella sp	$3.2 \times 10^6$ $2.6 \times 10^6$	E coli no patógena Klebsiella sp
18	E coli 0126:B16 y Klebsiella ozaenae	$5.3 \times 10^6$ $8.4 \times 10^6$	E coli no patógena Klebsiella ozaenae

Cuadro No 5: Se muestran los resultados de los cultivos cuantitativos de - los líquidos duodenales y sus correlaciones con los coprocultivos, coincidiendo el mismo germen aislado en ambos sitios en 14 de los pacientes.

GERMEN AISLADO	GRADO DE ATROFIA				LOCALIZACION DEL GERMEN	
	I	II	III	IV	SUPERFICIAL	LAMINA PROPIA
E COLI 0111:B4:H(-) (7)	2	4	1		7	---
E COLI 0111:B4:H(?) (1)				1	1	---
E COLI 0125:B15 (1)				1		1*
E COLI 018 ac (1)				1	1	---
E COLI NO PATOGENA (1)				1	1	---
KLEBSIELLA OZANAE (3)	1		2		2	1
SALMONELLA HEILDERBERG (1)	1				-	1*
E COLI 0126:B12 y KLEBSIELLA OZANAE (1)				1	1	---
E COLI NO PATOGENA y KLEBSIELLA SP (1)				1	1	---
SALMONELLA TYPHIMURIUM y KLEBSIELLA OZANAE (1)						1*

\* TAMBIEN SE ENCONTRARON EN LA SUPERFICIE DEL EPITELIO INTESTINAL.

Quadro No: 6 Ilustra los hallazgos bacteriológicos en relación con el grado de atrofia de la mucosa intestinal, así como la localización del germen evaluado mediante la microscopía de luz (ML).

La tinción para bacterias de Brown-Brenn permitió la observación de las bacterias en la biopsia (Fig. 3) aunque los cortes semifinos (1µm) teñidos con azul de toluidina permitieron una mejor identificación de los microorganismos en la superficie epitelial (Fig. 4).

Las tres biopsias teñidas con inmunoperoxidasa y antisueros específicos fueron positivas para la identificación de las bacterias coincidiendo con las aisladas en el líquido duodenal (Fig. 5).

Los resultados de la microscopía electrónica de transmisión se muestran en el cuadro número 7. Solo en 2 especímenes no fue posible identificar las bacterias que previamente habían sido demostradas sobre la superficie del epitelio en la microscopía de luz. Hubo 8 biopsias en las cuales las bacterias solo fueron localizadas sobre la luz intestinal y en forma característica el daño ultraestructural fue leve, llamando la atención que 5 de estas biopsias correspondieron a pacientes con SBID por Klebsiella (Fig. 6 y 7) a diferencia con las 7 biopsias que mostraron daño ultraestructural severo que correspondieron a niños con SBID por E coli enteroadherentes, 6 del tipo E coli 0111, (Fig. 8, 9 y 10) y una no serotificada que no aglutinó con los antisueros convencionales para los serotipos denominados patógenos, sin embargo como se observa en las figuras 11 y 12 fueron capaces de adherirse y lesionar el epitelio. Los dos casos con Salmonella mostraron daño ultraestructural moderado y en las figuras 13 y 14 se ilustra la capacidad de penetración del germen.

Los resultados de la microscopía de barrido se ilustran en las figuras 15, 16 y 17.

Otros hallazgos interesantes fueron la presencia en 3 de los especímenes de cuerpos de inclusión citomegálica ( Fig. 18 ) lográndose en uno de ellos identificar partículas virales sugestivas de citomegalovirus (Fig. 19).

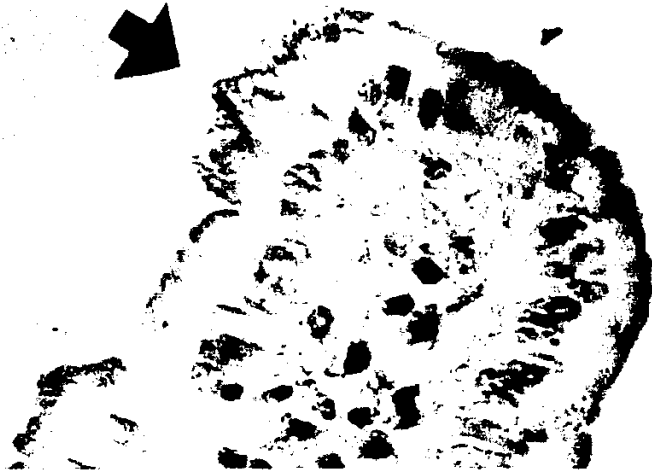


Figura No. 3 La flecha marca con claridad la presencia de bacterias (E coli - 0 III) sobre la superficie del epitelio intestinal en un corte para microscopía de luz teñido con la técnica de Brown-Brenm -- (X 1000)

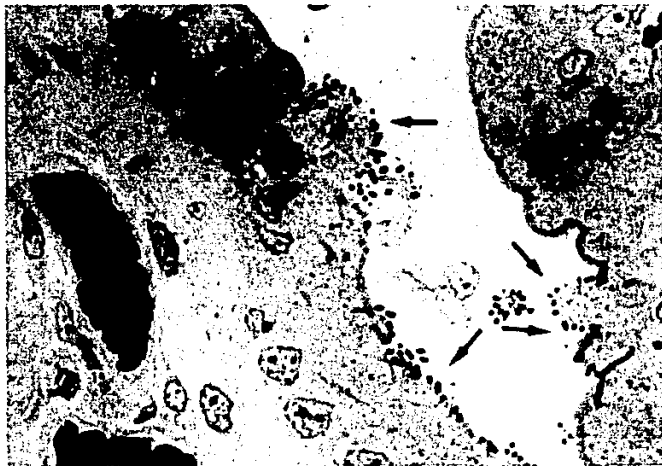


Figura No. 4 Muestra un corte semifino (1 µm) con tinción de azul de toluidina que permite una mejor visualización de las bacterias (E coli 0 - III) sobre la superficie del epitelio intestinal (X 1000).

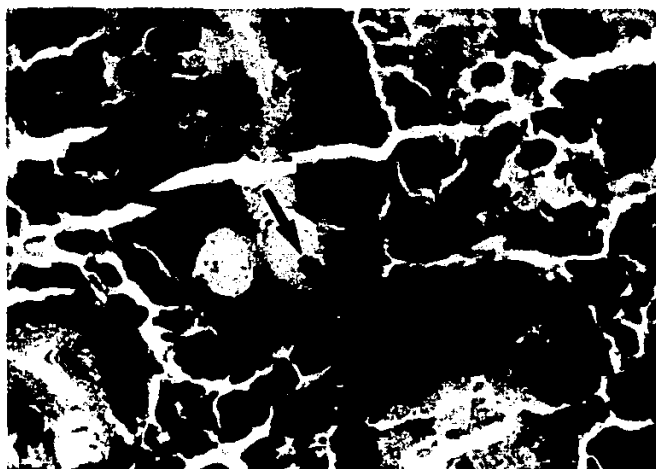


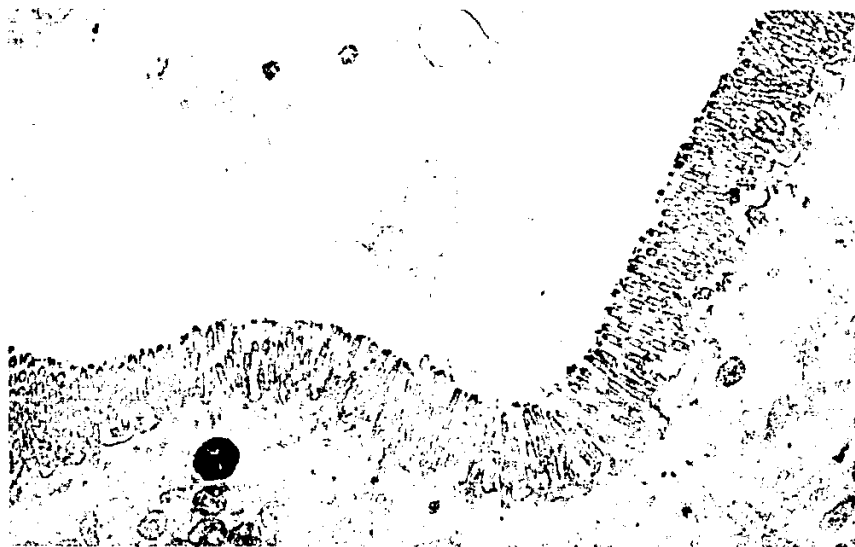
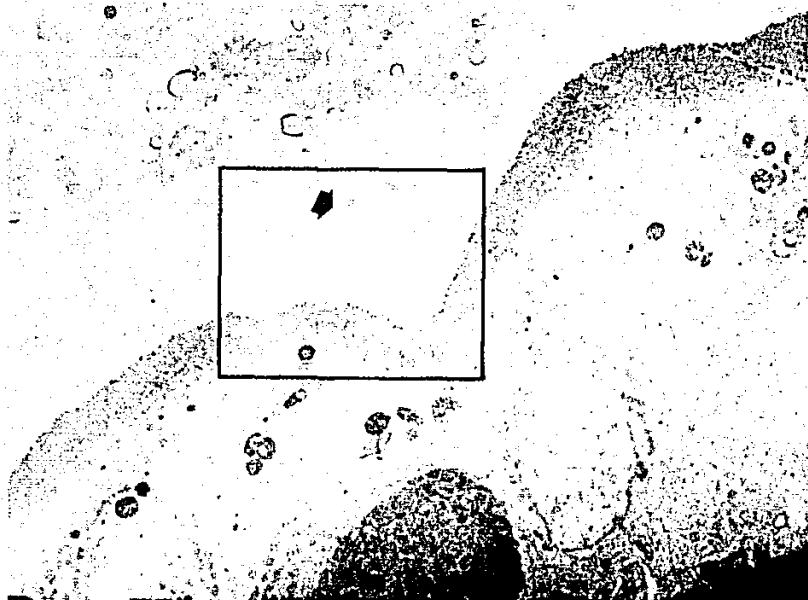
Figura No. 5: Muestra el acercamiento de una cripta (flecha gruesa) con una célula caliciforme conteniendo un acúmulo de bacterias (flecha delgada) teñidas con inmunoperoxidasa (ML X 1000) y correspondió al paciente número 15 con SBID por Salmonella Heidelberg.

GERMEN AISLADO		LOCALIZACIÓN BACTERIANA EN RELACION AL EPITELIO DE LA MUCOSA INTESTINAL Y GRADO DE LESION (GL).			
No.	GENERO Y ESPECIE	NEGATIVO/GL*	LIBRE/GL*	ADHERIDO/GL*	PENETRANDO/GL*
7	<i>E. coli</i> 0111:B4:H(-)		2/L (1)	5/S	
1	<i>E. coli</i> 0111:B4:H(?)		M (1)	1/S	
1	<i>E. coli</i> no enteropatógena			1/S	
1	<i>E. coli</i> 018:B21		1/L		
1	<i>E. coli</i> 0125:ac		1/L		
3	<i>Klebsiella ozaenae</i>		3/L		
1	<i>Salmonella enteritidis</i> ser. Weidelberg				1/M
1	<i>E. coli</i> 0126:B16	1/L			
	<i>Klebsiella ozaenae</i>				
1	<i>E. coli</i> no enteropatógena y <i>Klebsiella</i> sp.	1/L			
1	<i>Salmonella enteritidis</i> ser. Typhimurium y <i>Klebsiella ozaenae</i>		1/M		

\* Grado de lesión: L:leve, M: moderado, S: severo

Cuadro No. 7: muestra los hallazgos bacteriológicos, localización de los gérmenes y grado de daño ultraestructural evaluado mediante microscopía electrónica de transmisión (MET)





Figuras 6 y 7: Muestran la panorámica y el detalle de la biopsia del paciente - No 13 con SBID por Klebsiella ozaenae, que permite observar la morfología de dicho germen así como el mayor tamaño y electrodensidad diferente comparadas con E coli. Destaca la ausencia de lesión sobre las microvellosidades, aunque se logra apreciar un daño ultraestructural leve en el citoplasma del enterocito manifestado por la vacuolización. (MET fig. 6: X8,900, fig. 7:23,700).

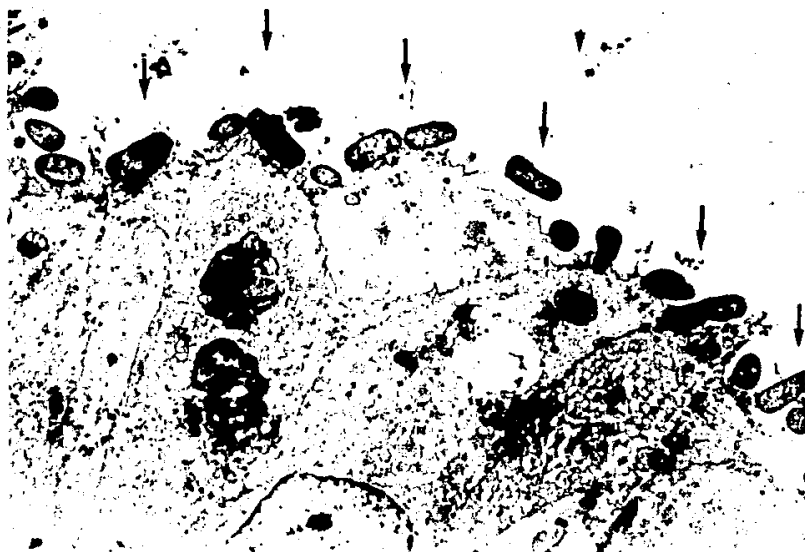


Figura No. 8: Ilustra la presencia de numerosas bacterias (E coli 0111) adheridas a la superficie del epitelio intestinal, el cual ha perdido todas sus microvellosidades y los enterocitos muestran francos -- datos de degeneración traducidos por una severa vacuolización del citoplasma y un marcado edema mitocondrial. ( NETX 9900 ).



Figura No. 9: Muestra a E coli 0111 en un mayor acercamiento sobre la superficie del epitelio en el cual contrasta la destrucción de las microvellosidades en el sitio de implantación de las bacterias con la zona donde están conservadas dichas estructuras (MET X 23,700).

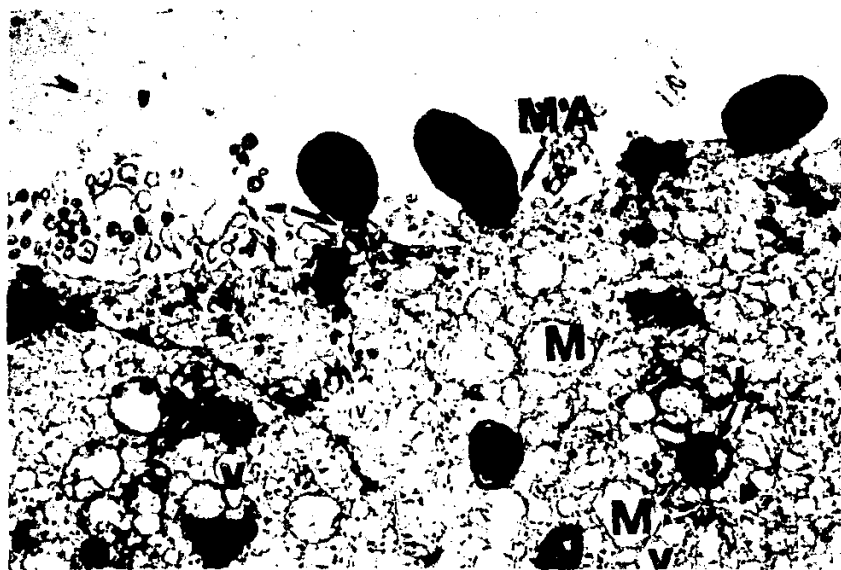


Figura No. 10: Otro sitio de la biopsia anterior muestra que las bacterias -- (E coli 0111) están firmemente adheridas sobre la superficie del epitelio y es muy evidente la alteración que sufre la membrana apical del enterocito (MA), la intensa vacuolización (V) del citoplasma con degeneración mitocondrial (M) traducida por balonización y pérdida de crestas. Los lisosomas (L) están aumentados en número y tamaño mostrando material electrodensito semejante al de las bacterias. (ME X 23,700).

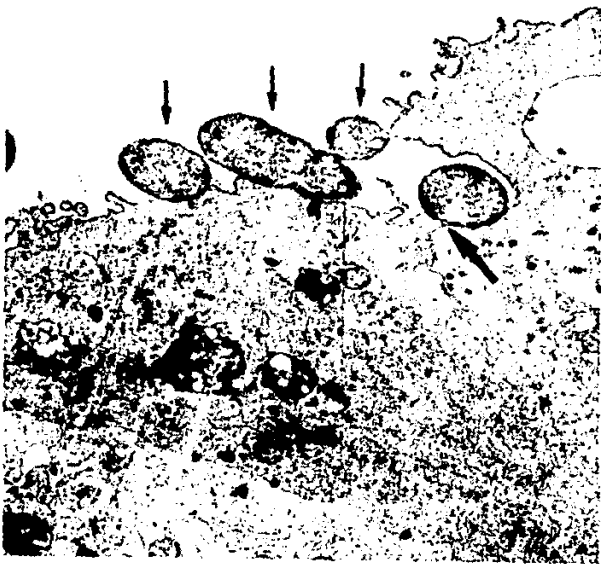
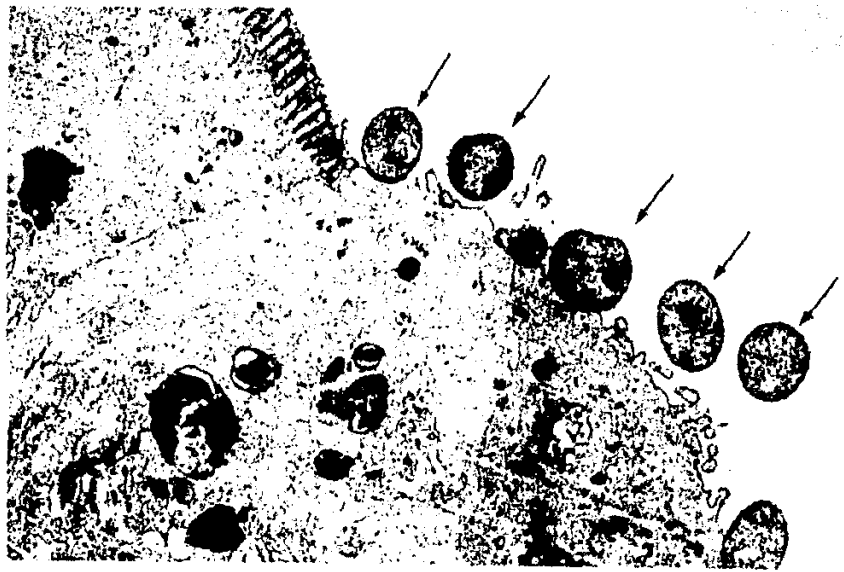
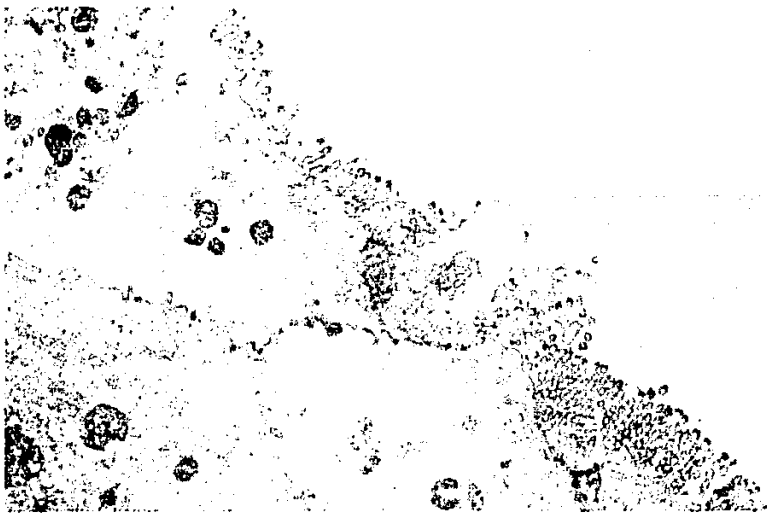
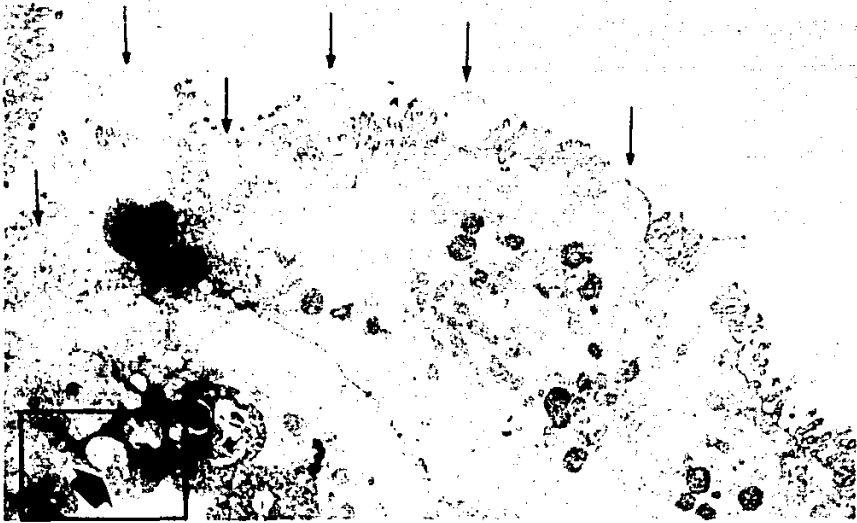


Figura 11 y 12: Muestran la biopsia del paciente No. 9 con SBID por E coli no serotipificada y -- que es capaz de adherirse al epitelio y condicionar daño similar al descrito para E coli 0111. En la figura 12 llama la atención -- la relación que guarda una de las bacterias con el espacio intercelular por donde parece insinuarse condicionando su apertura. (M.E.T.X. 23,700).



Fíguas 13 y 14: Corresponden a la biopsia del paciente No. 15 con SBID por *Salmonella* Heidelberg que muestran diferentes fases de aproximación y penetración de esta bacteria (flecha delgada). Se señala (flecha gruesa) una bacteria dentro del enterocito (fig. superior). En la figura inferior se aprecia con mayor detalle la Membrana Bacteriana que se funde practicamente con la membrana del enterocito a través de la emisión de estructura que recuerdan a los pseudópodos. Hay pérdida parcial de las microvellosidades y el daño ultraestructural es moderado. (M.E.: Fig. 13 X 15,800, - fig. 14 X 23,100 ).

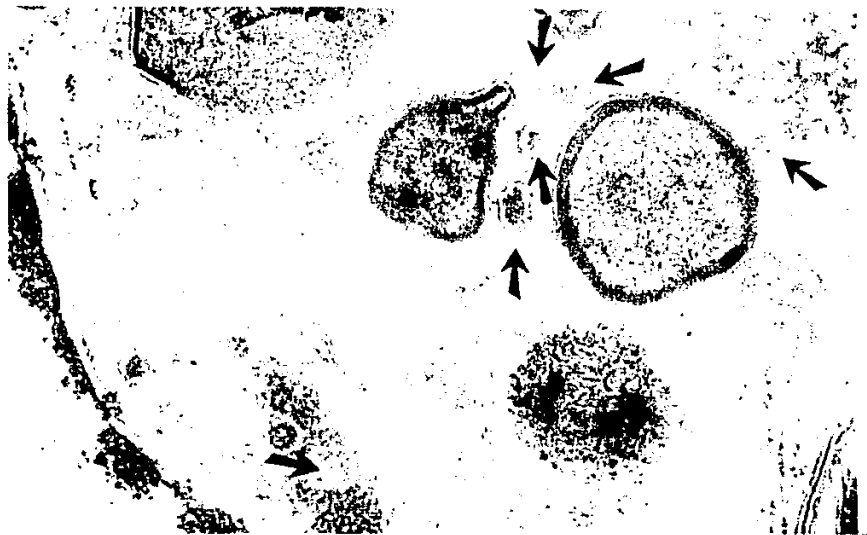
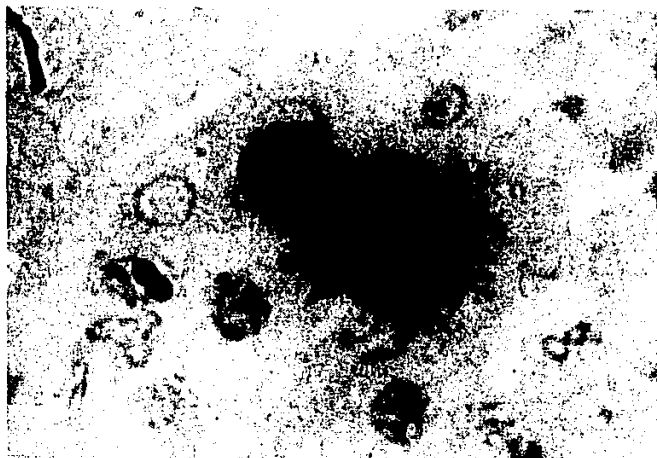


Figura No. 15: Muestra la superficie del epitelio intestinal de una paciente con SBID por E coli 0111, donde se puede identificar zonas con microvellosidades (MV) respetadas alternado con zonas donde están barridas dichas estructuras ( se marcan con la flecha ), también hay colonias bacterianas (B), así como la presencia de varias vesículas de herniación del citoplasma (V), un leucocito (L) y un eritrocito (E). ( microscopia electrónica de barrido - M E B x 2,500 ).



Figuras No. 16 y 17: Muestran una imagen panorámica (fig. superior) y un acercamiento (fig. inferior) de la superficie intestinal del paciente No 4 con SBID por E coli 0111, y se identifica claramente el gran acumulo bacteriano, el enclavamiento de los microorganismos entre las microvellosidades y la lesión con secuencia (Microscopía electrónica de barrido MEB X2,500, -- X 8,000).





Figuras 18 y 19: La figura superior nos muestra un corte semifino (EnM) teñido con azul de toluidina donde se señala la presencia de un cuerpo de inclusión citomegálica (microscopía de luz X1000). La figura inferior nos muestra la misma biopsia pero observada al microscopio electrónico donde se identifican partículas virales (MET X 47,500 ).

#### IV. D I S C U S I O N

El presente estudio confirma aspectos clínicos, bacteriológicos e histopatológicos de la diarrea prolongada con SBID en niños lactantes, la mayor parte de ellos desnutridos y con absorción intestinal deficiente evaluada mediante la prueba de d-xilosa, estando en la mayoría de ellos severamente afectados, con valores semejantes a los reportados en la enfermedad celiaca (19). La evolución de estos pacientes se caracterizó por múltiples complicaciones: to dos presentaron deshidratación y desequilibrio iónico e intolerancia a azúcares y en el 50% hubo evidencia clínica de sépsis, el resto de complicaciones se -- muestran en el cuadro No 5; lo anterior aunado al grado severo de desnutrición establece la gravedad de estos pacientes, siendo necesario el empleo de alimentación parenteral en 14 de ellos; es interesante mencionar el problema de recal das que hubo en la tercera parte de los niños y una mortalidad de 11% está última es baja teniendo en cuenta los agravantes y por otra parte permite compa rar la disminución de la mortalidad en este tipo de pacientes observada en estu dios previos (20 y 21); es conveniente enfatizar que 17 de los 18 pacientes hab blan recibido antes del ingreso a este hospital un promedio de 2.5 antimicrobia nos sin lograr modificar favorablemente el curso de la diarrea; los pacientes hospitalizados que se manejaron con antibióticos por el cuadro clínico de sep sis (50%) no mostraron mejoría en la evolución de la diarrea. Probablemente -- el ayuno y la mejoría del estado nutricional a través de la alimentación paren teral fueron los principales factores para el control del SBID y de la diarrea.

Los hallazgos bacteriológicos confirman una gran variedad de -- gérmenes en el tubo digestivo alto de estos pacientes y puede traducir las con diciones epidemiológicas de la localidad, por lo que es importante tenerlo en -- cuenta en pacientes severamente desnutridos con diarrea prolongada, sobre todo si se estudian en países con mal saneamiento.

Destaca el franco predominio de E coli como causa de SBID " en especial E coli 0111 con capacidad adherente y que en forma muy característica co incidió con el mayor grado de daño ultraestructural.

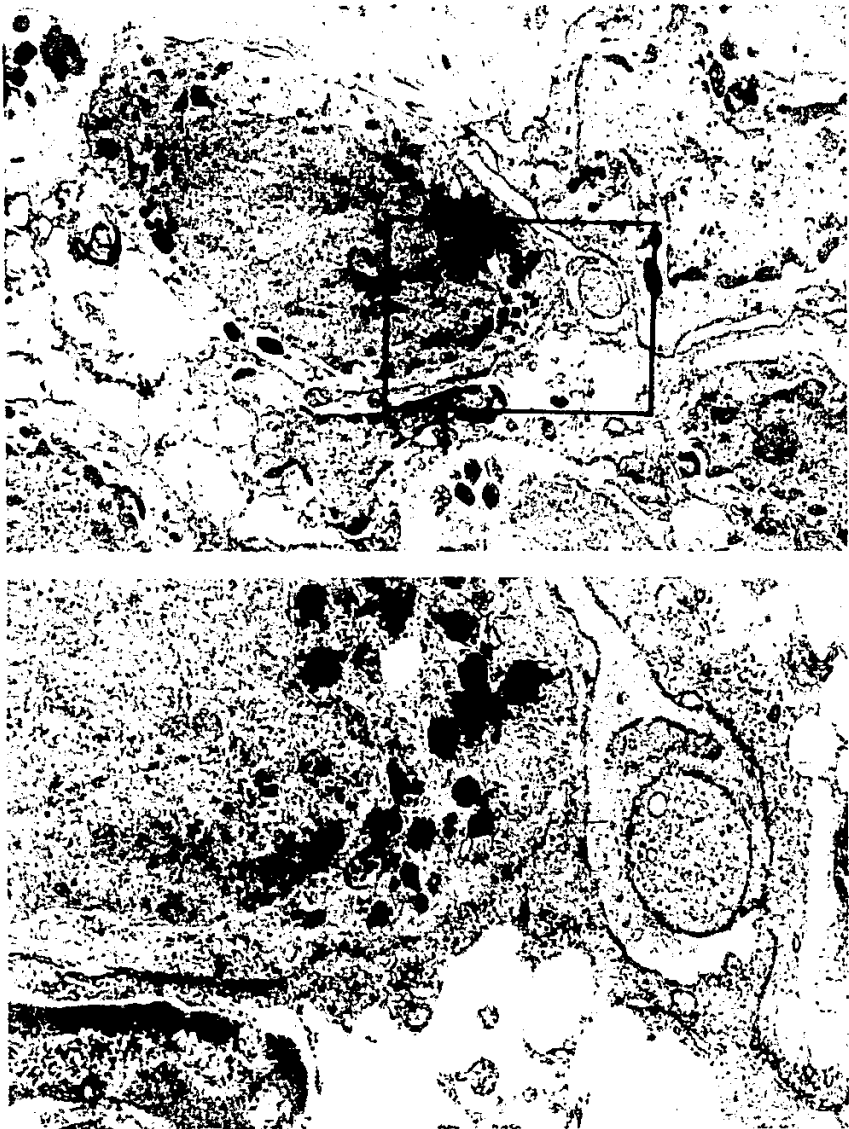
El hallazgo de *Klebsiella* entre los espacios intercelulares -- (Fig. 20 y 21) nos pudieran explicar la vía de entrada y la mayor incidencia de septicemias por dicho germen en los pacientes estudiados, ya que de 7 con SBID por *Klebsiella*, 4 tuvieron datos de sepsis y en 3 se aisló dicha bacteria en los hemocultivos.

De mucho interés fue el hallazgo de *Salmonella enteritidis* en el líquido duodenal de dos pacientes, permitiéndonos en uno de ellos la microscopía electrónica demostrar el momento de la penetración tanto por los espacios intercelulares como a través de la membrana apical del enterocito; sin embargo ninguno de ellos tuvo aislamiento de la bacteria en sangre.

No se ha logrado establecer en forma precisa el ó los mecanismos de acción de las bacterias en la parte alta del intestino delgado de los niños con diarrea prolongada y probablemente pueda ser por acción directa a través de citotoxinas (22) o bien mediante mecanismos indirectos; en la figura número 22 modificada de Phillips (23), se propone la probable fisiopatología de la diarrea prolongada por SBID.

La presencia de cuerpos de inclusión citomegálica en tres de las biopsias y en una de ellas la demostración de partículas virales sugieren una participación agregada de estos agentes, que en estos pacientes puede haber correspondido a citomegalovirus, lo que está de acuerdo con los hallazgos reportados por Villegas-González y Cols. en necropsias de niños con diarrea prolongada (24).

En resumen se confirma la etiología multifactorial de la diarrea prolongada en el niño lactante, enfatizando el SBID por *E coli* enteroadherente, *Salmonella enteritidis* y *Klebsiella*, así como la probable participación de agentes virales; también plantea la interrogante sobre la utilidad del empleo de antimicrobianos de acción sistémica o local para el tratamiento del SBID y de acuerdo a las presentes observaciones es probable que lo más adecuado sea la



Figuras 20 y 21: Muestran una panorámica (fig. superior) y un acercamiento (fig. inferior) de la lámina propia del paciente con SBID por *Klebsiella ozaenae* donde se identifica la bacteria entre los espacios intercelulares. (M.E.T. fig. 20 X 9,000, fig. 21 X 23,700).

desfuncionalización del intestino delgado mediante el ayuno y el empleo simultáneo de alimentación parenteral. También será necesario investigar los mecanismos de invasión al torrente sanguíneo de estas bacterias que en el modelo experimental utilizado no mostraron capacidad invasora.

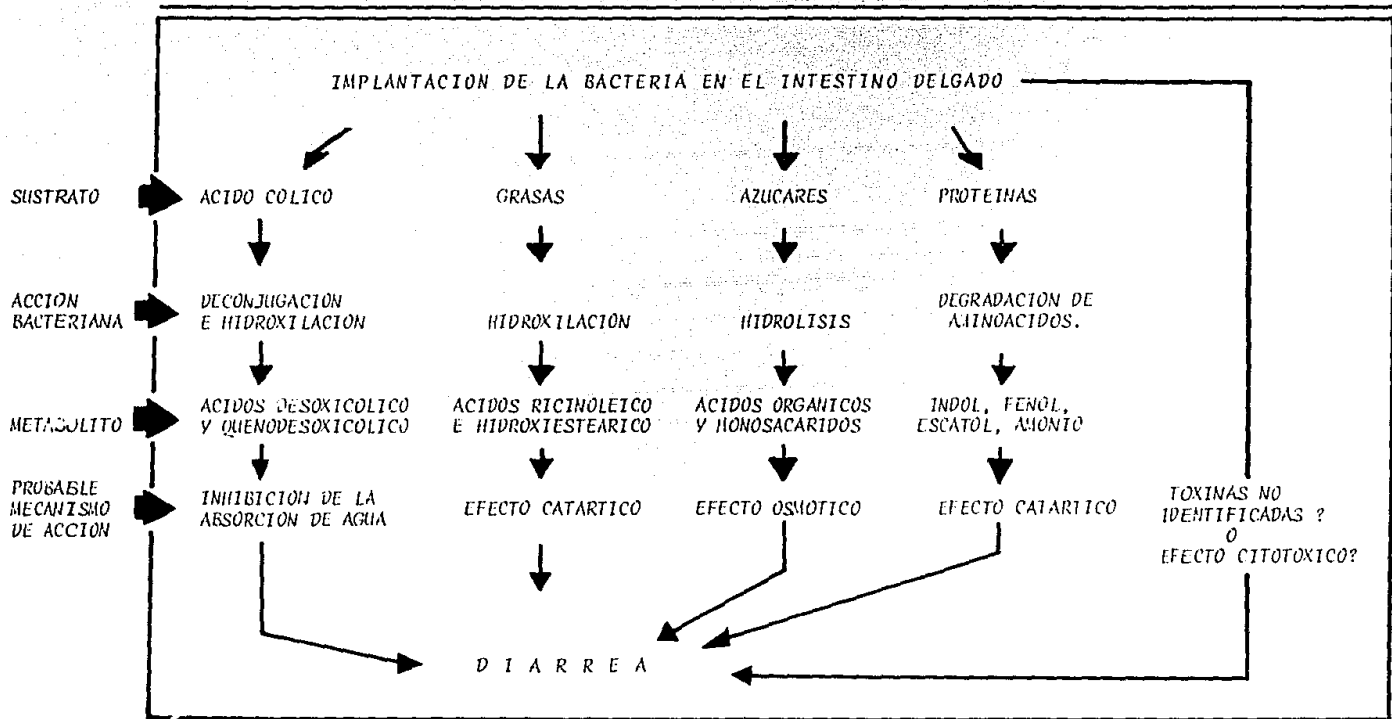


Figura 22: Esquemización de los posibles mecanismos fisiopatológicos en niños con diarrea prolongada y sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado SBID (Modificado de Phillips Ref. 23).

R E F E R E N C I A S

- 1: Gracey M, Burke V, Anderson Ch. Association of monosaccharide malabsorption with abnormal small-intestinal flora. *Lancet* 1969; 2,384-385.
- 2: Coello-Ramírez P, Gutiérrez-Topete G, Lifshitz F. Pneumatosis intestinalis. *Amer J. Dis Child* 1970; 120, 3-9.
- 3: Coello-Ramírez P, Lifshitz F, Zúñiga V. Enteric microflora and carbohydrate intolerance in infants with diarrhea. *Pediatrics* 1972;49:233-7.
4. Cantey JR, Blake RK. Diarrhea due to Escherichia coli in the rabbit; a novel mechanism. *J. Infect Dis.* 1977;135:454-62.
5. Takeuchi A, Inman LR, O'Hanley PD, Cantey JR, Lushbaugh WB. Scanning and transmission electron microscopic study of Escherichia coli 015 (RDEC-1) enteric infection in rabbit. *Infect Immun* 1978;19:686-94.
- 6: Ulshen MH, Rollo JL. Pathogenesis of Escherichia coli gastroenteritis in man. Another mechanism. *N. Engl J. Med.* 1980;302:99-101.
- 7: Rothbaum R, McAdams J, Giannella R, Partin J. A clinicopathologic study of enterocyte-adherent Escherichia coli: a cause of protracted diarrhea in infants-Gastroenterology 1982;83:441-54.
8. Clausen CR, Christie D. Chronic diarrhea in infants caused by adherent enteropathogenic Escherichia coli. *J Pediatrics* 1982;100:358-61
9. Coello-Ramírez P, Medina-Huerta LA, Díaz-Bensussen S, Zúñiga V, Larrosa-Haro A. Etiología de la diarrea prolongada en niños. *Bol Méd Hosp Infant Méx.* ( En prensa ).
10. Gorbach S. Intestinal microflora. *Gastroenterology* 1971;60,1110-1123.

11. Gómez F. Desnutrición. Bol Méd Hosp Infant Mex. 1946;3,543.
12. Ramos-Galvan R. Somatometría pediátrica. Arch Invest Med 1975; 6, Supl. 1.
13. Edwards PR, Ewing WH: Identification of enterobacteriaceae; Third Edition, Minneapolis Minnesota, 1972.
14. Sereny B. Experimental Shigella Keratoconjunctivitis. Acta Microbiol Acad - Sci Hung. 1955;2:293-5.
15. Burrows W, Musteckis GMN Cholera infection and Toxin in the rabbit ileal - loop. J Infect Dis 1966;116:183-190.
16. Giannella RA. Sickling mouse model for detection of heat stable Escherichia coli enterotoxin: characteristic of the model. Infect Immun 1976;14,95-9
17. Schenk EA, Klipstein FA, A protocol for the evaluation of small bowel biopsies. Am J Clin Nutr 1972;25:1108-17.
18. Sternberger LA, Hardy PH, Cuculis JJ, Meyer HG. The unlabeled antibody-enzyme method of immunohistochemistry. J. Histochem Cytochem 1970;18:315-33.
19. Rolles CJ, Kendall MJ, Nutter S, Anderson CM. One-hour blood xylose screening test for coeliac disease in infants and young children. Lancet 1973;2: 1043.
20. Lifshitz F, Coello-Ramírez P, Gutiérrez-Topete. Monosaccharide intolerance and hypoglycemia in infants with diarrhea. I. clinical course of 23 infants. J Pediatrics 1970;77:595-603.
21. Coello-Ramírez P, Barinol-Zerega J. Alimentación parenteral en niños con - diarrea prolongada e intolerancia a monosacaridos. Bol Med Hosp Infant Mex. 1976;23,31-50.



22. Wade WG, Thom BT, Evans N. Cytotoxic enteropathogenic Escherichia coli. - Lancet 1979;2,1235-36.
23. Phillips SF. Diarrhea: a current view of the pathophysiology. Gastroenterology 1972;63:495-518.
24. Villegas-González J, Sánchez-Rebolledo JM, Coello-Ramírez P, Villegas-Silva R, López-Sánchez S. Citomegalovirus como agente causal de lesiones ulcerativas en tubo digestivo. Bol Méd Hosp Infant Méx 1983;40:498-503.