

Nº 62  
R.L.V.

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



Campylobacter fetus, Yersinia enterocolitica y Vibrio  
parahaemolyticus COMO AGENTES ETIOLOGICOS  
DEL SINDROME DIARREICO.

TRABAJO MONOGRAFICO DE  
ACTUALIZACION

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO  
P R E S E N T A :  
ANA MARIA GURROLA TOGASI



México, D. F.

1992.

**FALLA DE OROEN**



## **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 está 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.

## INDICE

INTRODUCCION.	1
OBJETIVOS.	2
I. SINDROME DIARREICO.	
- Anatomía y fisiología del tracto gastrointestinal.	3
- Absorción de agua y electrolitos.	8
- Absorción de nutrientes.	13
- Mecanismos de secreción intestinal.	22
- Espacios de líquidos corporales.	23
- Clasificación funcional de las diarreas.	24
II. PROPIEDADES GENERALES DE <u>Campylobacter fetus</u> , <u>Yersinia enterocolitica</u> y <u>Vibrio parahaemolyticus</u> .	
- <u>C. jejuni</u> .	27
- <u>Y. enterocolitica</u> .	37
- <u>V. parahaemolyticus</u> .	47
III. PATOGENESIS DEL SINDROME DIARREICO.	
- Cuadro clínico.	53
- Frecuencia de estos agentes etiológicos en América Latina.	55
- Frecuencia de estos agentes etiológicos en países Industrializados.	58
- Complicaciones.	62
IV. MANEJO DEL PACIENTE CON SINDROME DIARREICO.	
- Terapia de hidratación oral.	66
- Manejo nutricional.	69
- Antibióticoterapia.	71
V. DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO.	
- Aislamiento.	73
- Identificación.	76
COMENTARIO	80
CONCLUSIONES	83
BIBLIOGRAFIA	84

## INTRODUCCION

Las enfermedades diarreicas persisten como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en los países en desarrollo, incluyendo a América Latina. En México, la diarrea es la segunda causa de mortalidad en niños de un año, la primera entre 1 y 4 años y la segunda entre los 5 y 14 años.

Antes de la década de 1970, la etiología de la mayoría de los episodios de diarrea en niños era desconocida, el interés que surgió a principios de esa década por conocer su etiología, condujo al descubrimiento de varios agentes nuevos. El principal obstáculo en su descubrimiento como agentes patológicos, lo representa la dificultad técnica que implica el desarrollo en un medio sumamente selectivo, en este caso se encuentra Yersinia enterocolitica, Vibrio parahaemolyticus y Campylobacter fetus, siendo por esto que no se conoce bien la frecuencia de estos microorganismos en el síndrome diarreico en nuestro país, no obstante que algunos laboratorios ya realizan la identificación del primero y el último.

Estudios conducidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en diferentes países del mundo, han permitido conocer la frecuencia de varios microorganismos como agentes etiológicos del síndrome diarreico. Resultados preliminares revelan que Campylobacter fetus es una de las bacterias que más frecuentemente causa diarrea en niños, tanto en países desarrollados como en los que se hallan en vías de desarrollo, y que Yersinia enterocolitica es, en algunos países del norte y occidente de Europa, tan importante como Salmonella y Shigella.

Por lo que respecta a Y. parahaemolyticus, se sabe que su frecuencia en nuestro país es baja, siendo mucho más alta en países consumidores de pescado y productos del mar. Por todo lo expuesto anteriormente, debe considerarse el incluir la búsqueda de estos microorganismos en los estudios de rutina de todos los laboratorios, con fines diagnósticos.

## OBJETIVOS

- Revisar la biografía especializada para informar las posibles frecuencias de C. jejuni, Y. enterocolitica y V. parahaemolyticus como agentes etiológicos en el síndrome diarreico.
- Describir las características fisiológicas, bioquímicas y patológicas de estos tres agentes.
- Informar acerca de las metodologías actuales que permiten aislar e identificar a C. jejuni, Y. enterocolitica y V. parahaemolyticus.
- Describir las tendencias actuales en el manejo del paciente con enfermedad diarreica.
- Consientizar al equipo de salud, sobre la necesidad de incluir la búsqueda de estas tres bacterias en los estudios diagnósticos de rutina.

## I. SINDROME DIARREICO

### -Anatomía y fisiología intestinal.

El intestino, en el humano, cumple una variedad de funciones fisiológicas complejas, relacionadas principalmente con la digestión y absorción de los nutrientes exógenos y con la excreción de los componentes no absorbibles de los alimentos, toxinas exógenas y metabolitos endógenos. Antes de iniciar la discusión de las alteraciones funcionales inducidas por las diarreas infecciosas, es necesario revisar brevemente el funcionamiento del sistema gastrointestinal en un estado no patológico.

El intestino está situado en la cavidad abdominal abajo del hígado y páncreas, los cuales, descargan sus productos secretorios (bilis y jugo pancreático, respectivamente) en la porción superior del duodeno, a través del conducto biliar y pancreático.

El intestino delgado del ser humano adulto consta de tres porciones; el duodeno, el yeyuno y el ileon. Mide aproximadamente 7 metros de longitud, pero puede variar entre 5 y 8 metros. El intestino grueso se compone del ciego, apéndice, el colon ascendente, transversal y descendente, el sigmoide, el recto y el canal anal. Su longitud promedio es de alrededor de 1.5 metros. Cada uno de los segmentos mencionados tiene estructura y funcionamiento diferente. (fig. No. 1) (120).

El intestino está formado por cuatro capas: la mucosa (en la superficie luminal), la submucosa, la muscular y la serosa. (fig. No. 2) (120). Son de interés para este estudio las características de la mucosa, ya que es la capa más relacionada con los procesos de absorción y secreción intestinal. La estructura de la mucosa del intestino está adaptada para proporcionar un área superior muy grande a fin de aumentar el proceso de absorción. El área superficial luminal de la mucosa del intestino delgado (área interna) se aumenta 600 veces por la presencia de los pliegues circulares (pliegues de Kerkring), vellosidades y microvellosidades intestinales que involucran a la mucosa y a la submucosa. Las primeras son proyecciones de la mucosa en forma de dedos u hojas, en el centro de cada vellosidad existe un vaso linfático que se comunica con otros vasos de la mucosa, y que se agranda para formar un seno cubierto de células endoteliales. Cada vellosidad intestinal está recubierta por una capa de células epiteliales columnares conocidas como enterocitos .

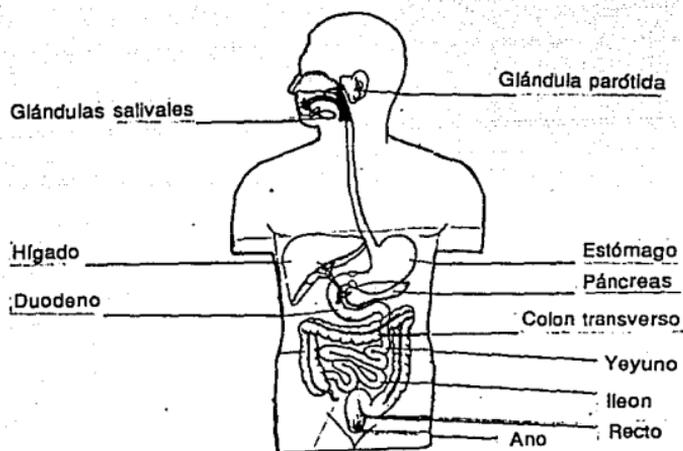
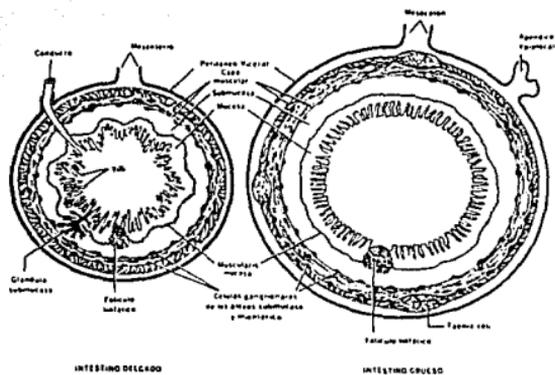


fig. No. 1 Tracto digestivo.



**Fig. No. 2** Diagrama esquemático de las capas del intestino delgado y del intestino grueso.

Los enterocitos tienen un extremo libre, cercano a la luz intestinal (cara luminal), que contiene un borde cuticular especializado conocido como borde en cepillo, compuesto de finas microvellosidades de aproximadamente  $1 \mu$  de longitud y  $0.1 \mu$  de ancho. Las microvellosidades producen una capa superficial de glicolipoproteínas, conocida como glicocálix, el cual contiene los transportadores intestinales y las enzimas digestivas tales como glucoamilasa, maltasa, sacarasa, isomaltasa, lactasa, trealasa, enterocinasa y oligopeptidasas, que son responsables de la hidrólisis de un gran número de sustratos (fig. No. 3) (120).

Las criptas de Lieberkühn, o glándulas intestinales, se encuentran en la base de las vellosidades y su función principal es la de producir continuamente las células epiteliales que recubren las vellosidades, de manera que las células inmaduras no diferenciadas se encuentran en el fondo de la cripta y se movilizan hacia la extremidad de las vellosidades, madurando hasta alcanzar la capacidad de producir enzimas digestivas especializadas y transportar los nutrientes. Las células viejas son expulsadas eventualmente de las extremidades de las vellosidades, después de una vida aproximada de 3 días; es decir, que existe un proceso continuo de renovación del epitelio intestinal en alrededor de 3 días, este sistema de renovación celular es el más rápido de todo el organismo.

Este hecho es muy importante, pues explica porqué las diarreas agudas se curan o mejoran en un lapso de 3 a 5 días y porqué es posible usar la vía oral para la rehidratación ya que el epitelio alterado por una infección intestinal se renueva en un período muy corto (120). Es cuanto a la alimentación durante los episodios diarreicos, se ha observado que la presencia de nutrientes en la luz intestinal estimula la migración de las células de las criptas al extremo de las vellosidades. De tal manera que la restricción en la dieta de un niño con diarrea, puede disminuir el proceso de renovación de la mucosa intestinal y la producción de las enzimas del borde en cepillo (171).

Los enteropatógenos bacterianos, virales y protozoarios que producen diarrea poseen propiedades de virulencia, que de una u otra forma afectan el estado fisiológico del intestino, alterando la estructura de la mucosa. Entre las bacterias que causan lesiones histológicas más notables se encuentran las cepas enteropatógenas de *E. coli*, que corresponden a los serotipos "clásicos", se adhieren estrechamente a

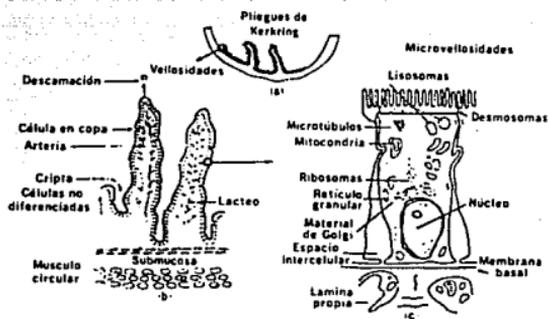


fig. No. 3 Estructuras anatómicas involucradas en el proceso de absorción.

la mucosa del intestino delgado y grueso. Esta bacteria causa lesiones histopatológicas patognomónicas, las cuales son visibles con el microscopio electrónico. Dichas lesiones se caracterizan por la destrucción de los enterocitos del borde en cepillo en el sitio donde se adhiere la bacteria, las lesiones se encuentran tanto en el intestino delgado como en el colon (118, 120).

Los agentes etiológicos causantes del síndrome diarreico por invasión de la mucosa y proliferación dentro de la célula epitelial tanto del intestino delgado como del colon, alteran tan dramáticamente el funcionamiento de la célula que causan su muerte, dando origen a una diarrea con sangre y moco. El análisis microscópico del moco fecal revela la presencia de abundantes leucocitos. Entre las bacterias causantes de diarrea por este mecanismo se encuentran las diferentes especies de Shigella y E. coli enteroinvasora (120).

- Absorción de agua y electrolitos. -

Para comprender los procesos de absorción que se llevan a cabo en el intestino, es necesario hacer una descripción breve de la estructura funcional de la mucosa intestinal. Los enterocitos tienen una membrana basolateral hacia el espacio intercelular enterocitario y una membrana apical hacia el lumen intestinal, de esta manera se establece la división entre el ambiente intracelular y el espacio extracelular.

El agua y las sustancias disueltas se absorben desde el lumen intestinal, para ser tomados por la sangre. En la membrana apical de los enterocitos que está hacia el lumen intestinal, tienen lugar las operaciones de recepción, entrada y transferencia de solventes y solutos (iónicos y no iónicos) para el ambiente intracelular. Esto se hace por difusión, transporte activo o transporte facilitado por la ruta transcelular (RT). Deben destacarse también los espacios intercelulares enterocitarios, que están limitados por el estrechamiento formado por los microfilamentos que mantienen firmemente unidos a los enterocitos. Esto constituye la ruta paracelular (RP) que es la vía principal para el tráfico de agua y solutos pequeños (120).

Aunque la mucosa intestinal es una membrana completa formada por la capa luminal, el epitelio basal y los capilares sanguíneos, se le puede considerar como una

membrana con poros pequeños llenos de líquido, a través de los cuales pasan agua, iones y solutos. El tamaño de los poros determina las características de absorción de la mucosa. Su tamaño efectivo es mayor en el duodeno y el yeyuno (donde la absorción es más rápida) que en el estómago (donde la absorción es mínima), se estima que en el ileon es alrededor de la mitad de los del duodeno y yeyuno.

En cuanto a la absorción de agua y electrolitos, es un mecanismo que debe reemplazar las cantidades que el organismo pierde normalmente. En el adulto, dichas pérdidas son aproximadamente las siguientes: por la piel (por transpiración) 1.0 ml; por la respiración 500 ml; por la orina, sumado a los desechos nitrogenados y los electrolitos en exceso, 700 ml y por las heces, junto con los sólidos no digeribles, entre 100 y 200 ml (120). En los niños, debido a la mayor superficie corporal en relación a su peso, sus requerimientos diarios de agua para reemplazar las pérdidas normales, son de 60 a 100 ml/Kg (6 a 10% de su peso corporal), lo que es dos veces y media más que los requerimientos de los mayores (144).

Diariamente entran al intestino delgado del adulto, entre 8 y 10 litros de líquidos provenientes de la dieta, saliva, jugo gástrico, bilis y jugos pancreáticos. De este volumen, llegan al colon alrededor de 1.5 litros, excretándose en las heces únicamente entre 100 y 200 mililitros. Así pues, en el intestino existe un flujo bidireccional de agua y de iones a través de la mucosa, manteniéndose un equilibrio entre la absorción y secreción intestinal, que son dos funciones diferentes de la mucosa intestinal. La mayor parte (alrededor del 85%) del flujo bidireccional de agua y electrolitos pasa a través de la vía paracelular que permite una alta tasa de flujo; los poros, a través de los cuales fluye el agua y el sodio ( $\text{Na}^+$ ), se encuentran en las uniones estrechas entre las células epiteliales. El resto del flujo circula por vía transcelular (126, 144).

En situación normal, la absorción predomina sobre la secreción, pero cuando el balance cambia hacia esta dirección ya sea por la inhibición de los procesos de absorción, por estímulo de la secreción, o por ambos mecanismos, se origina la diarrea. La mayor parte del líquido se absorbe en la parte superior del intestino delgado. La absorción del agua a este nivel es un fenómeno pasivo, secundario al movimiento de solutos que se absorben activamente. El  $\text{Na}^+$  y el cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) son los iones más importantes involucrados en el movimiento del agua, mientras que los carbohidratos y los aminoácidos sólo regulan el transporte de  $\text{Na}^+$ .

En el duodeno y el yeyuno, que son más permeables al agua, la osmolalidad del contenido luminal se ajusta a la del contenido intersticial. El contenido gástrico se mantiene alrededor de 900 mOsm/l, y al llegar al yeyuno ya ha alcanzado los niveles ideales de osmolalidad de 210 a 330 mOsm1/Kg de agua. En estos segmentos del intestino se absorbe alrededor del 90% de los nutrientes, proceso que se asocia con la rápida absorción de aproximadamente 4 a 5 litros de agua, que representa alrededor del 50% del líquido y electrolitos que normalmente llegan a la luz intestinal. O sea, que el fin de gran parte de los procesos relacionados con el movimiento de líquidos en el intestino es establecer una corriente líquida isotónica para el medio interno, protegiendo la homeostasis (120, 144).

En el íleon y el colon la mucosa es menos permeable que en el yeyuno, en estos segmentos intestinales, se absorben de 3 a 4 litros de agua y el resto se absorbe durante el lento paso del contenido intestinal por el colon, siendo la fuerza principal que impulsa la absorción de agua, los procesos activos para el transporte de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ . El íleon absorbe algunos nutrientes, agua,  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  además de ser responsable de la absorción de vitaminas B12 y de la reabsorción de sales biliares en su porción distal. El colon absorbe cantidades pequeñas de agua restante,  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , así como algunas sustancias nutritivas, resultantes del metabolismo bacteriano sobre de algunos nutrientes que no se digirieron durante el tránsito normal en el intestino delgado. Además, el colon secreta cantidades pequeñas de potasio ( $\text{K}^+$ ) y bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), que intercambia con  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ ; este fenómeno lo regula la aldosterona tal como sucede en el tubo distal de la nefrona (120).

La absorción del  $\text{Na}^+$  en el intestino delgado se realiza en dos fases. La primera es la entrada del  $\text{Na}^+$  y solutos a la célula intestinal a través del borde en cepillo de la mucosa. Durante la segunda fase del proceso, la ATPasa Na-K, que está ligada directamente al metabolismo celular, transporta activamente al  $\text{Na}^+$  fuera de la célula a través de la membrana basolateral y hacia el espacio intercelular. De esta manera, el aumento en el flujo del  $\text{Na}^+$  a través del borde en cepillo se compensa con un aumento en la actividad de la ATPasa Na-K en la membrana. Así se mantiene una baja concentración intracelular de  $\text{Na}^+$ . Por cada molécula hidrolizada de ATP, se expulsan de la célula tres moléculas de  $\text{Na}^+$  y se aceptan dentro de la célula dos de  $\text{K}^+$  (120, 144).

La expulsión activa del  $\text{Na}^+$  tiende a aumentar la osmolaridad en el espacio intercelular lateral produciendo una fuerza osmótica de conducción para la absorción activa del agua.

Existen dos mecanismos principales para la absorción del  $\text{Na}^+$ , el primero es un proceso de difusión electrogénica del  $\text{Na}^+$  no acoplado, que se realiza sin acoplamiento iónico o molecular. La concentración de  $\text{Na}^+$  en el interior de las células de las vellosidades intestinales es menor (aproximadamente 40 mmol/l) que en el líquido intestinal o en la sangre (aproximadamente 140 mmol/l) y la carga eléctrica dentro de la célula es electronegativa (-40/mV) con respecto a la solución en la mucosa (0/mV). Esta situación induce una toma mayor de  $\text{Na}^+$  por la célula intestinal. Gracias a la diferencia en la concentración de  $\text{Na}^+$  y en la carga eléctrica, se crea un gradiente de concentración descendente permitiendo el paso del  $\text{Na}^+$  del lumen intestinal hacia el interior de la célula sin actuación de alguna fuente exterior de energía. Luego el  $\text{Na}^+$  sale en forma activa del interior de la célula por medio del sistema ATPasa Na-K. En la solución de la serosa, el  $\text{Na}^+$  da una carga eléctrica positiva de aproximadamente +3 a +5 mV, y esta diferencia proporciona una fuerza para la difusión de  $\text{Cl}^-$  de la mucosa a la serosa a través de la ruta paracelular (fig. No. 4) (123, 144)

El segundo mecanismo, y el más importante, es la toma de  $\text{Na}^+$  acoplado con algunos nutrientes como glucosa, aminoácidos (glicina) y algunos oligopéptidos. La absorción de estos solutos depende total o parcialmente de la presencia de  $\text{Na}^+$  en el lumen intestinal, siendo mayor la tasa de absorción de  $\text{Na}^+$  en presencia de ellos. En la ausencia de la glucosa, la toma de  $\text{Na}^+$  por esta ruta es mínima. Por afinidad específica el soluto, glucosa por ejemplo, se une a un transportador de membrana. El sistema formado lo energiza el  $\text{Na}^+$  y juntos se mueven a través de la membrana (120). Aunque la cinética de dicha interacción varía según la clase de sustrato, el efecto común es el aumento de la absorción del  $\text{Na}^+$ . Puesto que su entrada está acoplada al movimiento de glucosa, ambos,  $\text{Na}^+$  y glucosa, se absorben dentro de la célula. Este movimiento atrae consigo, por fuerza osmótica, gran cantidad de agua. Al igual que se describió en el primer mecanismo, el  $\text{Na}^+$  es sacado fuera de la célula hacia el espacio intercelular y allí, atrae al  $\text{Cl}^-$  del lumen intestinal. La extrusión basolateral del soluto (glucosa) se hace por difusión facilitada con la ayuda de un transportador. La terapia de rehidratación oral (TRO) se basa en este mecanismo, al

cual se ha considerado como uno de los avances científicos más importantes de este siglo (175).

Existe un mecanismo adicional para la absorción de  $\text{Na}^+$  en el yeyuno, que depende de la fuerza generada por el mecanismo "arrastre de solventes", el cual ocurre debido a la alta permeabilidad de la mucosa yeyunal para el  $\text{Na}^+$ . El flujo del agua a través de la mucosa, inducido por los gradientes de presión osmótica asociados con la absorción de nutrientes, arrastra consigo iones de  $\text{Na}^+$ , de tal manera que el flujo de solventes crea la fuerza para llevar iones pequeños con él.

A nivel del íleon, donde la mucosa es menos permeable y el arrastre de solventes tiene un papel limitado, la absorción principal de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y agua se produce por medio del proceso descrito en el primer mecanismo.

En el colon, el mecanismo de absorción electrogénica de  $\text{Na}^+$  por simple diferencia del potencial electroquímico, es la fuerza principal para la absorción de agua. Además, existe un proceso neutro de intercambio de aniones, diferente de los procesos descritos para el intestino delgado. Los iones de  $\text{Cl}^-$  se absorben a cambio de iones  $\text{HCO}_3^-$ . La absorción de aniones orgánicos por la mucosa del colon es un estímulo importante para el transporte de agua y de iones, el colon juega un papel importante en la absorción de agua y electrolitos.

Algunas bacterias causan diarrea por la producción de enterotoxinas, cuyo efecto en la mucosa conlleva a una secreción de agua y electrolitos. Entre las bacterias más estudiadas que producen diarrea por este mecanismo se encuentra *E. coli* enterotoxigénica (ECET) y *Vibrio cholerae*. La ECET se adhiere a las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado por medio de organelos en forma de pelo llamadas fimbrias o pili, localizadas en la superficie de la bacteria, esta estructura actúa como factor de colonización, permitiéndole al microorganismo contrarrestar los movimientos peristálticos intestinales, que constituyen un mecanismo de defensa del hospedador (120, 118).

La enterotoxina del cólera (CT) y la termolábil (TL) de *E. coli* están relacionadas estrechamente en su estructura y modo de acción. Ambas consisten de cinco unidades (B) que ligan la molécula de toxina a los receptores de las células

intestinales, y una subunidad (A) enzimáticamente activa. Después de penetrar en el enterocito, la subunidad (A) activa irreversiblemente la enzima intracelular adenilato-ciclase, la cual conduce a la acumulación intracelular de adenosín monofosfato cíclico (AMPc). El aumento de AMPc causa un cambio en la función de los enterocitos, llevando a un incremento en la secreción de la célula de las criptas intestinales y a una disminución de la función de absorción de los enterocitos situados en los ápices de las vellosidades intestinales. Esta situación conduce a una diarrea líquida en general abundante, especialmente en los casos de cólera (120).

Algunas cepas de *E. coli* producen una enterotoxina termoestable (ST), esta toxina activa la enzima intracelular guanilato ciclase, conduciendo a una acumulación de guanósín monofosfato cíclico (GMPc), la cual aumenta la secreción por la mucosa intestinal, a través del aumento del calcio ( $Ca^{++}$ ) del citosol (118).

Durante las infecciones por *V. cholerae* y ECET, la capacidad del intestino para absorber glucosa,  $Na^+$  y agua por medio del transporte activo de la glucosa acoplada al  $Na^+$ , permanece intacta. Esto explica la notable eficiencia de la rehidratación oral en las infecciones por los microorganismos comentados, a pesar de la pérdida excesiva en las heces líquidas (120, 175). En capítulos posteriores se tratarán los mecanismos, hasta ahora conocidos, por los cuales *V. parahaemolyticus*, *C. fetus*, *Y. enterocolitica* causan diarrea.

-Absorción de nutrientes.

Los nutrientes utilizados en el metabolismo animal se pueden clasificar como macronutrientes (carbohidratos, grasas, proteínas), micronutrientes (vitaminas y minerales) y agua.

Para sustentar el metabolismo basal, la actividad física y, en el caso de los niños, la síntesis de los tejidos y el crecimiento, se requiere de la energía proporcionada por la dieta (calorías), esta energía la proveen principalmente los carbohidratos y las grasas; además de que el organismo puede usar las proteínas de la dieta que se consumen en exceso, de la cantidad requerida para el metabolismo proteínico, la síntesis y reemplazo de los tejidos, la formación de enzimas, las hormonas peptídicas, etc.

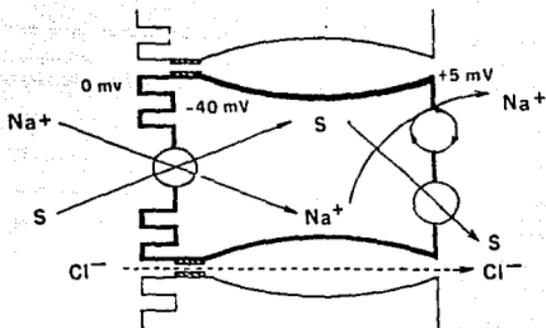


fig. No. 4 Modelo celular del transporte electrogénico de sodio.

Por lo que respecta a los carbohidratos de la dieta, incluyen moléculas complejas de polisacáridos, disacáridos simples y monosacáridos. Los carbohidratos presentes en la naturaleza puede dividirse según su absorción y metabolización, en tres grupos principales (120).

-Carbohidratos disponibles: Son los que pueden ser digeridos, absorbidos y metabolizados por el organismo humano, estos son carbohidratos libres, como glucosa, sacarosa, lactosa; oligosacáridos superiores de la maltosa, y también polisacáridos como el almidón y el glucógeno.

-Carbohidratos no disponibles: Se denomina así a los que no pueden ser hidrolizados por las enzimas digestivas y por ello no son absorbidos o, si lo son, no son metabolizados. Entre éstos se encuentran la rafinosa, estaquiosa y xilosa entre otros.

-Fibra alimentaria: Comprende la suma de los polisacáridos que no hidrolizan las enzimas intestinales y que, en general, se encuentran contenidos en las paredes de las células vegetales. La fibra puede fermentarse parcialmente en el intestino grueso por la flora existente, produciendo grasas, ácidos grasos de cadena corta y ácido láctico, que luego puede ser absorbidos y metabolizados.

La digestión de los carbohidratos empieza con la acción de las amilasas salival y pancreática, que junto con la glucoamilasa intestinal, presentan los carbohidratos exógenos a la mucosa intestinal en forma de oligosacáridos, disacáridos y monosacáridos como: glucosa, fructosa y galactosa. La glucosa resulta de la digestión de los almidones y como uno de los productos de la hidrólisis de la sacarosa (azúcar de caña) y lactosa. La fructosa resulta como producto de la digestión de la sacarosa y de ciertos productos naturales como la fruta y la miel (120).

El primer contacto que se establece entre los carbohidratos complejos y la amilasa salivar secretada en la boca, produce un desdoblamiento de las uniones interiores glucosa-glucosa de los almidones, que funciona brevemente ya que se inhibe por el pH ácido del contenido gástrico. La hidrólisis de los almidones continúa en la luz intestinal, donde la amilasa pancreática produce la digestión subsecuente de los polímeros de glucosa, incluyendo maltosa, maltotriosa y dextrina alfa límite. Los enterocitos especializados de la porción media y del extremo de las vellosidades del

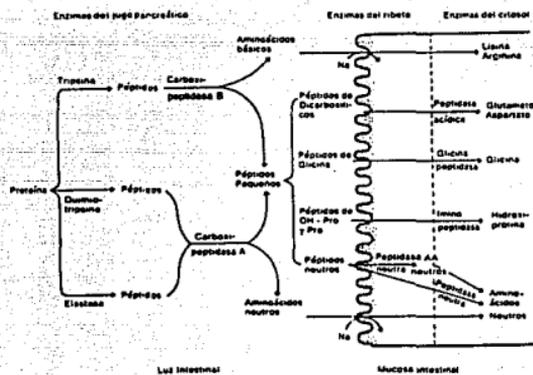


fig. No. 5 Digestión y absorción de las proteínas.

intestino delgado, producen la glucosidasa junto con otras oligosacaridasas y disacaridasas, las cuales completan la digestión de dextrinas, maltosa, sacarosa y lactosa a sus componentes monosacáridos. Las moléculas de glucosa y galactosa que resultan de esta acción se absorben entonces, ya sea en el mismo lugar del intestino delgado o más lejos, utilizando mecanismos activos de transporte especializados.

La glucosa puede absorberse cuando su concentración en el intestino es menor que su concentración en la sangre. Por esta razón se recomienda que la concentración de glucosa en una solución de rehidratación oral sea del 2%, que da como resultado una osmolaridad de 111 mOsm/l.

La glucosa y la galactosa comparten un mecanismo común de transporte mediado por transportadores específicos. La presencia de iones  $\text{Na}^+$  facilita grandemente el transporte de estos monosacáridos. La fructosa, por otro lado, tiene su propio transportador, que es distinto al mencionado anteriormente, es independiente del  $\text{Na}^+$  y menos eficiente.

Las grasas están presentes en la dieta, primordialmente, en forma de triglicéridos, estas moléculas son poco solubles en agua y por lo tanto, no pasan rápidamente a través de la llamada capa de agua laminar y de la capa de moco que cubre la mucosa intestinal. Se requiere de una serie de pasos pancreáticos, hepáticos e intestinales integrados entre sí, para permitir la máxima asimilación de grasa (120).

Se distinguen tres fases para la absorción de grasas:

- a) Fase Luminal: Las enzimas pancreáticas digestivas se secretan hacia la luz intestinal en respuesta a un estímulo neuronal (vagal) y hormonal (gastrina, colecistocinina - pancreozimina y secretina) inducido por la alimentación. Estas hormonas las secretan células especializadas de la mucosa intestinal. Una vez secretadas, la lipasa pancreática desdobra los ácidos grasos ligados a las posiciones de carbonos exteriores de los triglicéridos, dejando dos ácidos grasos libres y un monoglicérido. Este proceso lo facilita otra enzima pancreática, la co-lipasa. Los productos resultantes de la digestión de la grasa deben solubilizarse previamente por las

propiedades detergentes de las sales biliares, las cuales se sintetizan en el hígado y luego se secretan hacia la luz intestinal. Si las sales biliares se secretan en suficiente concentración, se produce la formación espontánea de "micelios" que son solubles en agua. Los micelios son agregados polimoleculares compuestos por sales biliares, ácidos grasos, 2-monoglicéridos y vitaminas liposolubles. Los diglicéridos y triglicéridos no penetran a los micelios, quedando casi enteramente insolubles, a menos que sean primeramente hidrolizados por la lipasa.

- b) Fase de penetración: Los constituyentes lipídicos de los micelios mezclados se difunden pasivamente a través de las capas de agua que cubren las vellosidades, entrando por último a las células intestinales. A diferencia de las grasas de la dieta, los ácidos biliares permanecen dentro de la luz intestinal hasta que se absorben activa y efectivamente en el íleon distal. Las sales biliares reabsorbidas son transportadas de vuelta al hígado por la circulación porta, donde se utilizan para una secreción repetida de bilis. Este reciclaje de las sales biliares (circulación enterohepática de bilis) es un proceso crítico, ya que la cantidad diaria de sales biliares secretadas hacia la luz intestinal excede bastante la capacidad de síntesis hepática.
- c) Fase intracelular: Ya en el interior de los enterocitos, los ácidos grasos intracelulares y los monoglicéridos son resintetizados a triglicéridos, los cuales a su vez se ligan a una variedad de apolipoproteínas. Las holo-lipoproteínas resultantes coalescen en gotas más grandes llamadas quilomicrones (fig. No. 6) (120).

La relativa ineficiencia de la absorción de grasas en los niños está más bien relacionada con la inmadurez de la capacidad sintética biliar. Los menores de un año tienen, por lo tanto, mayor posibilidad de sufrir esteatorrea después de las infecciones intestinales que interfieren con la reabsorción ileal de sales biliares.

En cuanto a la absorción de proteína, se ha observado que el intestino delgado de un adulto puede absorber 225 g de proteínas por día. La proteína que está disponible para absorción en el intestino delgado tiene un origen exógeno (proteínas de la dieta) y endógeno, proveniente de las secreciones gastrointestinales y de las células descamadas del intestino.

Las proteínas de la dieta se usan primordialmente, para reponer las pérdidas endógenas normales de nitrógeno (por la orina, heces e intertegumentarias), y para sintetizar tejidos nuevos. Una vez que se satisfacen estos requerimientos, las proteínas adicionales pueden usarse como un sustrato de energía. La digestión de las proteínas en péptidos pequeños y aminoácidos comienza con la secreción de ácido y pepsina en el estómago. Sin embargo, la descomposición de las proteínas ocurre en el intestino delgado superior en presencia de las enzimas pancreáticas activas (endopeptidasas), que incluyen tripsina, quimotripsina y elastasa, y por las exopeptidasas que incluyen las carboxipeptidasas A y B. Las endopeptidasas se secretan en forma inactiva, por lo que deben ser activadas por la enterocinasa, que es una enzima en la superficie de la mucosa del duodeno. Una vez activada, la tripsina también puede metabolizar las otras proenzimas a sus formas activas. Las endopeptidasas (tripsina, quimotripsina y elastasa) desdoblan las uniones peptídicas en los sitios interiores de sustrato proteínico produciendo cadenas relativamente cortas de aminoácidos y oligopéptidos. Los péptidos resultantes, más adelante los digieren las exopeptidasas (carboxipeptidasas A y B), las cuales remueven los aminoácidos C-terminal produciendo aminoácidos libres y pequeños péptidos de dos a seis unidades de aminoácidos.

Los productos resultantes de la digestión intraluminal de las proteínas son finalmente asimilados por varios procesos enzimáticos. Los oligopéptidos mayores, de tres a seis aminoácidos, pueden hidrolizarse subsecuentemente en forma parcial por las oligopeptidasas presentes en el borde en cepillo de la mucosa intestinal.

Los di - y tri - péptidos derivados y los que resultan de la digestión intraluminal, pueden ser transportados directamente a la célula intestinal, donde los hidrolizan los péptidos intracelulares, o bien esto sucede en la superficie celular y luego son transportados dentro de la célula como aminoácidos libres. Este transporte intracelular se produce por uno o varios mecanismos de transporte diferentes, dependiendo de las características químicas del aminoácido. En la mayoría de los casos el transporte es activo y al igual que en el caso de la glucosa, depende de la presencia de  $\text{Na}^+$  en el lumen intestinal, es por esta razón que, cuando se incorporan aminoácidos como la glicina, o proteínas a las soluciones de rehidratación oral, puede aumentarse la absorción de agua y  $\text{Na}^+$  y, por lo tanto, disminuir el número y el volumen de las evacuaciones intestinales durante la diarrea.

En cuanto a la absorción de micronutrientes, se sabe que se lleva a cabo por mecanismos mucho más complicados que la de macronutrientes. Las vitaminas liposolubles (A, D, E, K) están incluidas en los micelios mixtos y se absorben junto con las grasas de la dieta. Se conocen los mecanismos de absorción de vitaminas solubles en agua, tales como folato y cobalamina (B12), pero los procesos de absorción de otras vitaminas aún tienen que aclararse (171).

La absorción de algunos minerales, como el hierro y el calcio, es mediada activamente por moléculas transportadoras. Otros minerales como el magnesio, se difunden pasivamente a través de la mucosa intestinal.

La absorción intestinal durante las infecciones entéricas, se ha estudiado tanto en modelos animales como en pruebas clínicas. De estos estudios, se concluye que, en el caso de las diarreas enterotoxigénicas, no existe ninguna anomalía en la absorción de glucosa,  $\text{Na}^+$  y agua, y que está poco alterada la absorción de nutrientes durante la fase aguda de la enfermedad, lo que permite usar la TRO y mantener la alimentación del niño (175, 171). En lo que respecta a las enteritis de origen viral, causadas experimentalmente en modelos animales, se ven alterados varios procesos hidrolíticos y absorbentes. En general, se puede decir que los conocimientos sobre la relación entre las infecciones entéricas y la mala absorción intestinal son limitados, y que lo que puede demostrarse en modelos animales o en estudios *in vitro* no refleja necesariamente la situación real que se plantea en el paciente con síndrome diarreico (171, 120).

Por medio de estudios clínicos realizados en niños con diarrea aguda, se ha identificado la relativa mala absorción de carbohidratos, grasas y proteínas. Sin embargo, dicha información es muy limitada, y se refiere en especial a la relación entre diarrea de etiologías infecciosas específicas y a la función intestinal en niños. Frecuentemente se observa una mala absorción transitoria de carbohidratos, especialmente en niños con diarrea de origen viral. Posiblemente, esto sucede a consecuencia de la diferencia secundaria de disacaridasas, la alteración en el transporte de monosacáridos y las posibles alteraciones en la movilidad y tránsito intestinal. Aún se desconoce si las infecciones entéricas alteran la función pancreática, o la estimulación endócrina de la secreción pancreática por la mucosa intestinal dañada (120).

Los carbohidratos que no son absorbidos totalmente permanecen en el intestino agregándose a la carga osmótica intraluminal pudiendo, por lo tanto,

augmentar la gravedad de la diarrea al atraer agua al lumen intestinal. Aún más, los carbohidratos que pasan al intestino grueso pueden ser metabolizados por bacterias de la flora colónica produciéndose ácidos orgánicos pequeños y gas, como productos metabólicos finales. Estos metabolitos pueden contribuir a producir acidosis sistémica y causar distensión abdominal, agravando la diarrea (49). Por estas razones, no es recomendable ofrecer soluciones de rehidratación oral u otros líquidos que contengan niveles elevados (mayores de 2%) de azúcar, tales como refrescos, bebidas carbonatadas (Coca Cola, Pepsi Cola, Seven Up) o jugos procesados industrialmente (175).

También es frecuente que durante la diarrea se registre una mala absorción de grasas y en algunos casos ésta se prolonga durante un período variable después de la desaparición de la diarrea. La mayor excreción fecal de ácidos biliares, que posiblemente constituye un efecto secundario del mal funcionamiento del intestino, o del sobrecrecimiento de bacterias en el intestino delgado, puede resultar en concentraciones intraluminales de ácidos biliares que son insuficientes para lograr la formación de micelios (139). El daño pancreático y las anomalías de la mucosa intestinal pueden ser también causas importantes de esteatorrea. Sin embargo, el hecho de que las grasas no se absorban no contribuye a la osmolalidad intraluminal, puesto que no son solubles en agua. Por esto, la ingestión continuada de grasas no afecta la gravedad de la diarrea, y como las grasas de la dieta son una fuente principal de energía, debe estimularse su ingestión durante la diarrea (120).

A pesar de que no se ha estudiado extensamente la eficiencia de la absorción de proteínas durante la diarrea, la pérdida endógena, especialmente en los casos de disentería, puede ser sustancial. Adicionalmente se ha comprobado una pérdida de aminoácidos endógenos durante la diarrea infantil. En términos nutricionales, la mala absorción de nitrógeno es de menor importancia que la pérdida correspondiente a carbohidratos y grasas, ya que la proporción de este elemento que se retiene para el metabolismo proteico, rara vez supera el 50% del que se absorbe. Por consiguiente, un grado moderado de mala absorción de nitrógeno todavía es compatible con una retención adecuada. Por el contrario, la mala absorción de grasas y carbohidratos representa una pérdida de energía que el organismo compensa con una disminución del gasto de energía o reduciendo la velocidad de crecimiento, con agravamiento del estado nutricional (120, 139)

#### -Mecanismos de secreción intestinal.

Existen por lo menos tres tipos de mensajeros secundarios en el control intracelular de la secreción. Estos son a) los nucleótidos cíclicos enterocitarios: Adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y guanosín monofosfato cíclico (GMPc), b) el sistema endógeno de producción de prostaglandinas (PGs), y c) el calcio intracelular ( $Ca^{++}$ ) (21, 120).

- a) Nucleótidos cíclicos: Varias moléculas endógenas y exógenas, tales como prostaglandinas, "péptido vasoactivo intestinal" (VIP) y las enterotoxinas producidas por V. cholerae y E. coli estimulan la actividad intracelular ciclasa adenilato, que resulta en una acumulación intracelular de AMPC por el desdoblamiento de adenosín trifosfato, (ATP). Esto aumenta la permeabilidad al cloro ( $Cl^-$ ) en la membrana del enterocito. Con la secreción de  $Cl^-$  se moviliza agua hacia el lumen intestinal. Además el AMPC parece afectar el transporte iónico intestinal; en las vellosidades intestinales inhibirá el transporte neutro acoplado de  $Na^+$  y  $Cl^-$  del lumen a la serosa; en la cripta, estimulará la secreción de  $Cl^-$ .
- En el caso de GMPc, la enterotoxina termoestable (ST) de E. coli enterotoxigénica estimula la actividad de adenilato-ciclase, aumentando la concentración de GMPc, lo cual tendrá principalmente un efecto antiabortivo.
- b) Sistema prostaglandina: Reúne derivados del ácido araquidónico (AA), tiene un papel adicional en la regulación de la secreción. El AA se libera enzimáticamente del conjunto fosfolípido por la interacción de hormonas, mediadores parácrinos y neurotransmisores que interactúan con receptores en la membrana vasolateral. El AA es oxigenado por la ciclo-oxigenasa resultando endoperóxidos cíclicos. Estos se convierten enzimáticamente en las clásicas PGs, PGE2-alfa, prostaciclina (Pgl2) y tromboxanas (TX). Se sabe que la administración de dosis farmacológicas de los compuestos E o F por vía oral, intrayeyunal o parenteral, provoca diarrea líquida. Sin embargo, aún no se conocen las bases moleculares de su papel modulador en la secreción intestinal. Hay evidencias también de los mecanismos de las PGs

en las enfermedades diarreicas asociadas a tumores endócrinos, cuyos productos hormonales interactúan con ellas.

- c) **Calcio intracelular:** El  $\text{Ca}^{++}$  tiene un papel modulador en los dos sistemas descritos anteriormente. En forma libre en el citosol, es un importante mensajero intracelular que estimula la secreción tanto en el intestino delgado como en el grueso. Además, activa específicamente a la calmodulina ("calcio moduladora"), que ya activada sinergiza la acción de diferentes enzimas, en especial la AMPc-fosfodiesterasa, adenil-ciclasa y prostagladina-sintetasa. A través de una serie de eventos que desencadena, la calmodulina repercute en la conducción del cloro al nivel del borde estriado, induciendo la secreción.

Aunque existen drogas que tienen algún efecto antidiarreico, tales como: clorpromazina, ácido nicotínico, sulfato de berberina, verapamil (un agente del canal del  $\text{Ca}^{++}$ ), aún no se ha logrado una droga antidiarreica efectiva. Tal droga debería inhibir la secreción electrogénica del cloro, estar libre de efectos secundarios y poder recomendarse como antidiarreico eficaz en diarreas de diferentes etiología.

- Espacios de líquidos corporales.

Los animales de sangre caliente (homotérmicos) que producen continuamente calor, tienen un recambio de agua alto. Esta agua es reemplazada por lo que se llama el agua de mantenimiento que debe ingerirse diariamente (120).

En los niños menores de un año de edad y en los desnutridos de cualquier edad, el 90% de su peso está formado por agua. Conforme el niño aumenta en edad, (o mejora su estado nutricional), adquiere tejido adiposo, que contiene poca agua, de suerte que el contenido de agua de un adulto es alrededor del 60% de su peso. Un tercio de ese volumen es agua extracelular y dos tercios agua intracelular. El  $\text{Na}^+$  es el ión principal del suero y del agua extracelular encontrándose en una concentración de 135-145 mmol/l. El ión principal del líquido intracelular es el  $\text{K}^+$ , que tiene una concentración de 4.5-5.0 mmol/l en el suero (144).

El conocimiento de la distribución del fluido corporal en el espacio intracelular (EIC) y el espacio extracelular (EEC), así como las fuerzas que mantienen tal distribución, es importante para entender la patogenia de las diferentes formas de deshidratación. El 45% del peso de un niño menor de un año de edad está formado por agua intracelular, el 25% de su peso está formado por agua extracelular. Es decir, que el volumen del EIC corresponde al 65% del volumen total del agua y el EEC corresponde al 35%. El EEC se subdivide anatómicamente en el fluido intravascular (el plasma) que constituye el 6% del peso corporal y el fluido intersticial que forma el 19% del peso corporal. Tanto el EIC como el EEC y sus compartimientos, son fisiológicamente importantes y cada uno posee una composición característica y sus propios mecanismos para el mantenimiento de su volumen (120, 144).

Toda el agua corporal tiene una concentración de solutos de aproximadamente 280 mosm/kg, exceptuando algunos fluidos altamente especializados, la mayoría de estos solutos son los electrolitos monovalentes:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$   $\text{Cl}^-$  y  $\text{HCO}_3^-$ . En el fluido intracelular muscular, los iones con cargas positivas son potasio y magnesio y una cantidad pequeña de sodio. Las sustancias con carga negativa son fosfato, sulfato, bicarbonato y las moléculas orgánicas, con poco o ningún contenido de cloro. El fluido extracelular muscular tiene al  $\text{Na}^+$  como catión principal y cantidades muy pequeñas de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$ . Los aniones son  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  y cantidades muy pequeñas de  $\text{PO}_4 \equiv$  y aniones orgánicos. Estos dos fluidos están separados por las membranas de la pared celular, que son permeables al agua y electrolitos monovalentes. Para mantener la concentración normal de estos iones intra y extracelulares, el organismo gasta una considerable cantidad de energía a través del mecanismo ATPasa Na-K, que expulsa al  $\text{Na}^+$  del interior de la célula e incorpora el  $\text{K}^+$ . Los aniones orgánicos mayores no se difunden bien, de tal modo que el  $\text{Cl}^-$  termina siendo excluido del interior de la célula. El plasma, que es el componente intravascular del EEC, se asemeja al componente intersticial con la excepción de que contiene 60 a 70 g/l de proteínas. La proteína que permanece en el plasma genera una fuerza osmótica de 40 mm de Hg, aún cuando su concentración osmolal en el plasma se reduzca a alrededor de 2 mosm/kg. Esta presión osmótica mantiene al agua y los otros solutos en el espacio intravascular (120, 144).

- Clasificación funcional de las diarreas.

Las alteraciones funcionales del intestino o fisiológicas del equilibrio de agua y electrolitos, causadas por enteropatógenos, pueden asociarse en mayor o menor grado como responsables de la diarrea. Sin embargo, según la alteración predominante, el proceso diarreico puede clasificarse en cinco categorías (120).

- a) **Alteraciones del equilibrio osmótico:** La permanencia en la luz intestinal de cantidades no usuales de solutos poco absorbibles y activos osmóticamente, causan retención de volúmenes equivalentes de agua. Por ejemplo, 5g de monosacáridos o 10 g de disacáridos retienen cerca de 100 ml de agua. De esta manera aumenta el contenido líquido del intestino y cuando éste es mayor que la cantidad que se puede absorber, sobreviene la diarrea.
- b) **Estímulo para la secreción intestinal:** En la diarrea de origen toxigénico, el aumento de la concentración de AMPc, aumenta a su vez la secreción de líquidos a la luz intestinal por arriba de los niveles que pueden absorberse. Debe mencionarse que en estos casos de diarrea se conserva el transporte de glucosa,  $\text{Na}^+$  y agua, lo que permite el uso de la TRO.
- c) **Alteraciones del transporte activo intestinal:** Al alterarse el transporte de glucosa y  $\text{Na}^+$  se disminuye la absorción intestinal. Esto se asocia al factor osmótico y a la irritabilidad de la mucosa con alteraciones de la permeabilidad y/o exudación intestinal.
- d) **Alteraciones de la permeabilidad intestinal:** Las alteraciones mayores de la permeabilidad del intestino pueden reducir la absorción normal de  $\text{Na}^+$ , glucosa y agua a través de:
  - La entrada de macromoléculas por la vía paracelular o transcelular que actúan como antígenos o alérgenos.
  - Micro rupturas epiteliales por agentes etiológicos invasores, o bien por procesos inflamatorios. Como consecuencia de este proceso patológico se produce exudación de plasma y elementos figurados de la sangre.

- e) **Alteraciones de la motilidad intestinal:** El aumento de la motilidad intestinal resulta de un período insuficiente de contacto del contenido intestinal con la mucosa, lo que disminuye el proceso de absorción normal. Sin embargo, no se ha podido demostrar claramente una relación directa entre el aumento de la motilidad intestinal y la producción de diarrea.

## II PROPIEDADES GENERALES DE Campylobacter fetus, Yersinia enterocolitica y Vibrio parahaemolyticus

- C. jejuni.
- Taxonomía.

En 1913, MacFaydean y Stockman determinaron que un microorganismo curvo, similar a los del género Vibrio, era el causante de los abortos en el ganado bovino y vacuno.

Se llevó a cabo la descripción del microorganismo, sin embargo no se le asignó ningún nombre.

En 1919, Smith y Taylor aislaron un microorganismo curvo del fluido fetal de un bovino abortado y le asignaron el nombre de Vibrio fetus. En 1931, Jones y col aislaron, de ganado vacuno con enfermedad gastrointestinal, otro Vibrio, al que le dieron el nombre de Vibrio jejuni. Doyle aisló un nuevo vibrio procedente de cerdos enfermos de disentería, al que le llamó Vibrio coli (1965).

Varios investigadores hicieron esfuerzos por clasificarlos. Florent en 1959, estudia a V. fetus, dividiendo a esta especie en dos subespecies: V. fetus venerialis, que es el causante de los abortos en ovejas y se transmite sexualmente y V. fetus intestinalis, que causa aborto esporádicamente en el ganado vacuno y no se transmite sexualmente.

Estudios posteriores, demostraron que el contenido de guanina-citocina (G+C) del ADN de la especie V. fetus es de 33-35 mol%, mientras que el contenido de G+C del género Vibrio es de  $47.2 \pm 0.7$  mol%. Estas diferencias condujeron a la exclusión de V. fetus dentro del género Vibrio y a la creación de un nuevo género: Campylobacter (forma curva) (1965).

Se han propuesto dos clasificaciones para el género Campylobacter. La francesa (Verón y Chatelain, 1973) y la americana (Smibert, 1974).

En la clasificación americana se incluyen dentro de la especie C. fetus subespecie jejuni, a todas las cepas termofílicas asociadas con enteritis aguda,

mientras que en la francesa, que es la comunmente aceptada, se proponen 2 especies C. jejuni y C. coli.

En el Bergey's Manual de 1984, se reconoce la siguiente clasificación para C. fetus (160).

- C. fetus: Microorganismo curvo con diámetro de 0.2 - 0.3  $\mu$  de largo, en algunas ocasiones tiene forma de S y adopta la forma cocoide en cultivos viejos. Sus colonias son generalmente pequeñas con poco o ningún color, translúcidas con aspecto de vidrio esmerilado.

- C. fetus subespecie fetus: Su morfología es similar a la de C. fetus. Sus colonias son generalmente pequeñas, de color opaco que fluctúa entre el blanco y el crema.

- C. fetus subespecie venerealis: Tiene la forma de una larga espiral. Este microorganismo no tiene la capacidad de crecer en el tracto intestinal del hombre y los animales.

- C. fetus subespecie jejuni: Tiene forma de espiral pequeño, cuando se expone al aire, adquiere rápidamente la forma cocoide. Sus colonias son pequeñas, convexas y translúcidas. Esta subespecie es la que causa gastroenteritis en el hombre y algunos animales domésticos con mayor frecuencia, por lo que, en este trabajo, se estudiará de manera preferencial.

Los estudios más recientes sobre el género Campylobacter, que incluyen la determinación de las secuencias homólogas del ARN mensajero, hibridación del ADN y estudios filogenéticos, han conducido a una nueva clasificación constituida por tres grupos (130):

I. Bacterias verdaderas del género Campylobacter.

IA. Especies termofílicas enteropatógenas.

C. jejuni subsp. jejuni

subsp. doylei

C. coli

C. lariidis, variante ureasa negativa.  
variante ureasa positiva.

C. upsaliensis

IB. Otras bacterias verdaderas del género Campylobacter.

C. fetus subsp. fetus

subs. venerealis

C. hyointestinalis

C. sputorum biovar sputorum

biovar bubulus

biovar faecalis

C. mucosalis

C. consisus

II. Especies psicrófilicas

C. nitrofigilis

C. cryaerofila

Dentro de las especies del grupo IA, se incluye a C. jejuni subsp. jejuni. Este microorganismo es el que causa con mayor frecuencia gastroenteritis en el humano; presentando además, muchas características similares a C. fetus subsp. jejuni, de ahí que se puedan considerar la misma especie.

En el transcurso de este trabajo, se hará referencia a este microorganismo como C. jejuni

-Composición química y estructura antigénica.

Campylobacter posee uno o dos flagelos que se pueden encontrar en uno o ambos extremos de la célula, y que le confieren una gran movilidad.

La composición química de este flagelo, no presenta gran variedad en el contenido de aminoácidos si se estudian diferentes serotipos. Se encuentran todos los aminoácidos a excepción de la cisteína y apenas trazas de prolina.

La proteína principal del flagelo de Campylobacter, fué estudiada por Logan y col (91,92), tiene un peso molecular de 62 Kd y participa en el comportamiento inmunogénico de la bacteria, sin conferirle seroespecificidad; sin embargo es un

antígeno dominante sobre los de la membrana celular, de manera que los sueros de los pacientes infectados con C. jejuni reconocen este antígeno (177).

Estudios de microscopía electrónica, han revelado que la membrana exterior de Campylobacter tiene una estructura de doble capa, que le confiere su forma característica a esta bacteria. Los principales componentes de esta bicapa, se encuentran agrupados en subunidades hexagonales y tetragonales, presentándose las primeras en cepas patógenas para el humano (47).

La pared celular se ha descrito como una estructura de tres capas: lipoproteínas en la capa más externa, lipopolisacáridos en la parte media y mucopéptidos en la capa interna.

La microcápsula es otra estructura de superficie de Campylobacter. Su componente principal o antígeno [a], es una glicoproteína con carga neta negativa. Este hecho es inusual, puesto que en la mayoría de los patógenos Gram-negativos, la microcápsula es de naturaleza polisacárida.

Su composición química incluye hexosa, pentosa y aminoácidos; de estos últimos los más abundantes son el ácido aspártico, treonina, glicina y alanina, mientras que los aminoácidos aromáticos y azufrados se encuentran en niveles apenas detectables(180).

Logan y Trust, en 1982 (89), determinaron el perfil electroforético de la membrana externa de C. jejuni, los resultados revelaron la presencia de siete bandas mayores de 92, 75, 63, 55, 45, 37 y 20 Kd de peso molecular. La proteína de 45 Kd, es la más importante estructuralmente, ya que corresponde al 70% de la composición de la membrana externa y es responsable del mantenimiento de los canales de difusión a través de ella. (34).

Estudios hechos sobre los antígenos de superficie de diferentes cepas de C. jejuni, demostraron la presencia de una proteína expuesta en la superficie celular con un peso molecular de 31 Kd, que se encontró en todas las cepas estudiadas, por lo que se le llamó antígeno común (90, 141).

La membrana externa contiene un lipopolisacárido (LPS) de bajo peso molecular (24-48 Kd), que a pesar de ser tan pequeño, contiene gran diversidad antigénica, dando como resultado un gran número de serotipos (89,91).

Este LPS, está constituido por una parte central o core y un lípido A. Su seroespecificidad no está mediada por cadenas de repetición de polisacárido O, sino por una gran heterogeneidad.

En resumen, se puede decir que el mosaicco antigénico de C. jejuni está formado por el flagelo y la proteína de 43 Kd de la membrana externa, ambos dan reacción cruzada con algunas cepas, mientras que la proteína de 31 Kd es un antígeno común a todos los microorganismos del género.

- Resistencia a los agentes físicos y químicos.

C. jejuni es un microorganismo microaerobio, que requiere de oxígeno y bióxido de carbono para crecer, sin embargo, la concentración de oxígeno que se encuentra en el aire a presión atmosférica le es tóxica. El mecanismo por el cual el oxígeno inhibe su crecimiento, aún es desconocido.

C. jejuni, es sensible a los radicales de alta energía del tipo de los peróxidos y superóxidos, que se producen en el medio Brucella al reaccionar con la luz. Por lo anterior se debe procurar que los medios no estén en contacto con la luz (165).

Otro agente químico que inhibe el crecimiento de esta bacteria es el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), al cual es altamente sensible, de tal manera que la presencia de 0.00124% de  $H_2O_2$  en el medio, es suficiente para inhibir su crecimiento (160 , 165).

Karmali y col en 1981 (160), demostraron que aproximadamente el 90% de las cepas estudiadas son sensibles al ácido nalidíxico, clindamicina, eritromicina, gentamicina, kanamicina, novobiocina y trimetoprim.

La susceptibilidad al ácido nalidíxico es importante para el diagnóstico, puesto que las cepas que son sensibles se consideran C. jejuni, que es, como ya se mencionó, la subespecie de mayor importancia como causante de gastroenteritis.

Altwegg reporta, en 1987 (2), el aislamiento de cepas de C. jejuni resistentes al ácido nalidíxico, en pacientes que lo habían tomado junto con norfloxacin como tratamiento para la diarrea del viajero.

- Requerimientos nutricionales.

Los microorganismos del género Campylobacter, no requieren un gran número de factores nutricionales para crecer.

En el caso de C. jejuni se ha visto que sólo requiere de niacina; aunque la presencia de otras vitaminas en el medio de cultivo estimulan su crecimiento, lo mismo que la cisteína, el lactato, el ácido glutámico, el manganeso y el hierro (165).

Muy pocas cepas requieren de tiosulfato para crecer, mismo que lo proporciona la adición de ácidos nucleicos al medio; se ha visto que además, acorta la fase estacionaria del crecimiento.

- Condiciones para el desarrollo óptimo.

C. jejuni requiere de una atmósfera microaerófila para crecer; la forma más común de obtenerla es mediante una jarra de anaerobiosis en la cual se evacúan aproximadamente las 2/3 partes del aire contenido, reemplazándolas por una mezcla comercial que contiene 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> y 85% N<sub>2</sub> (30, 69, 163, 169).

Thompson, en 1990 (169), reporta que el uso de una incubadora tri-gas, representa menores costos y mayor efectividad en el cultivo de C. jejuni, con la particularidad de que las colonias obtenidas en ella son pequeñas y no presentan crecimiento masivo. Para asegurar que en el sistema de incubadora se ha obtenido la atmósfera microaerófila requerida, Chan y col (30), proponen la inclusión de placas de agar sangre sembradas con C. perfringens que crece óptimamente bajo estas condiciones.

Tradicionalmente, se ha considerado que la temperatura óptima para el crecimiento de C. jejuni es de 42° C, sin embargo, Skirrow, en 1980, reporta que la temperatura de 43° C es aún mejor (163). De manera que este microorganismo puede cultivarse a 42 o 43°C.

El primer medio de cultivo diseñado para Campylobacter fué hecho por Skirrow en 1977; dicho medio contiene base de agar sangre, 5 a 7% de eritrocitos lisados de caballo, vancomicina (10mg/l), polimixina (2500 U/l) y trimetoprim (5mg/l) (160).

El medio de enriquecimiento de Brucella, es muy usado para cultivar a C. jejuni, contiene medio base para brucela, 0.5% de agar y 10% de sangre desfibrinizada de oveja (174).

Otro medio que se usa frecuentemente en el aislamiento de C. jejuni, es el medio Campy-Bap, que contiene agar brucela, 5% de sangre desfibrinizada de oveja, vancomicina (10mg/l), trimetoprim (5mg/l), polimixina B (2500 U/l), cefalotina (15mg/l) y anfotericina B (2mg/l) (160).

La adición de 0.025% de sulfato ferroso, bisulfito de sodio y piruvato de sodio (FBP), a estos medios, incrementa la aerotolerancia, permitiendo su desarrollo en presencia de hasta 15% de oxígeno. La mezcla FBP, destruye los aniones superóxido y peróxido que se forman cuando los medios no inculados se exponen al aire y la luz (160 , 165).

- Identificación de los microorganismos.

La identificación de un microorganismo, se lleva a cabo usando pruebas bioquímicas, de tolerancia a algunos compuestos químicos y antimicrobianos y por la temperatura a la que crecen.

En la tabla No. 1, se muestran las principales pruebas diferenciales del género Campylobacter.

La prueba de la oxidasa se efectúa tomando con un alambre de platino una porción de una colonia aislada. El inóculo se coloca sobre una tira de papel filtro impregnada con una solución acuosa al 1% de tetrametil p-fenilendiamina. La aparición de un color púrpura en un lapso de 10 seg, indica que la prueba es positiva (163).

**Tabla No. 1**  
**Características mínimas**  
**para efectuar la identificación**  
**de *Campylobacter jejuni* (160).**

<b>Fermentación u oxidación de la glucosa</b>	-
<b>Reducción de los nitratos</b>	+
<b>Indol</b>	-
<b>H<sub>2</sub>S</b>	+
<b>Crecimiento a:</b>	
<b>25°C</b>	-
<b>30.5°C</b>	-
<b>43°C</b>	+
<b>45.5°C</b>	d
<b>Reducción de selenito</b>	+
<b>Crecimiento en presencia de:</b>	
<b>1.0% de bilis</b>	+
<b>1.5% de NaCl</b>	-
<b>Verde brillante al 1:1,000,000</b>	-
<b>Verde brillante al 1:33,000</b>	-

Todas las tiras de papel utilizadas en estas prueba, deben esterilizarse en autoclave y secarse en una cabina especial antes de ser usadas.

Para la realización de la prueba de la catalasa, debe tenerse la precaución de usar un medio libre de sangre, como lo es el agar tioglicolato más la mezcla FBP. Se adiciona una gota de una solución de  $H_2O_2$  al 5% directamente sobre una colonia aislada, la prueba es positiva cuando se observa efervescencia (163).

La resistencia al ácido nalidixico se efectúa usando discos comerciales de diferentes concentraciones. Las zonas de inhibición del crecimiento, se miden desde el centro del disco hasta el punto donde el crecimiento cesa ( 2 ).

Una forma rápida para la identificación de C. jejuni, consiste en observar con microscopía de luz y tinción de Gram, o bien empleando una solución al 2% de carbol fucsina como colorante, la morfología curva característica de esta bacteria.

- Factores de patogenicidad.

Para que un microorganismo pueda causar diarrea, se requiere una serie de sucesos que le permitan establecerse en el tracto gastrointestinal y desencadenar la enfermedad diarreaica.

La adherencia es un factor importante, ya que las bacterias enteropatógenas deben resistir la movilidad intestinal y el flujo de moco.

Los mecanismos por los cuales C. jejuni causa enfermedad diarreaica, no son aún del todo conocidos, pero la recuperación de un gran número de microorganismos a partir de las heces diarreaicas y las características de la enfermedad, indican que tiene la capacidad de invadir las células del epitelio intestinal (33 , 29, 129).

Aunque no existe evidencia morfológica de fimbrias o pili, posee otras adhesinas, como las proteínas del flagelo, de la membrana externa y algunos LPS.

Estudios hechos en líneas celulares HEP-2, demostraron que la bacteria se asocia a la membrana celular y es internalizada mediante vacuolas endocíticas, la

subsecuente fusión fago-lisosomal que se lleva a cabo, causa una disminución considerable en el número de bacterias fagocitadas que permanecen viables; de manera que el sistema lisosomal del hospedador atenúa la patogenicidad de C. jejuni (33).

La invasividad de C. jejuni, fué confirmada por Ruiz -Palacios y col en 1981 (147). El proceso se inicia con la penetración de la bacteria a la célula epitelial, causando destrucción de la membrana celular, el mecanismo por el cual se destruye en aún desconocido, siendo muy probable que estén involucradas enzimas citotóxicas. El seguimiento histológico a través del tiempo, en pollos infectados experimentalmente, demostró que a las 12 horas post-infección, la bacteria ha penetrado a la mucosa y a las 24 horas se ha fagocitado.

C. jejuni produce una toxina citotóxica, de naturaleza protéica, que se inactiva a 100°C durante 30 minutos, pero que es estable a 60°C en el mismo tiempo (31, 183 , 62, 149).

Ruiz-Palacios y col, describieron una enterotoxina en C. jejuni, semejante estructural, funcional e inmunológicamente, a la toxina de V. cholerae (27,97, 103). Esta enterotoxina es una proteína cuyo peso molecular oscila entre 60 y 70 Kd, termolábil, pues se inactiva si se calienta por 1 hora a 56°C. Posee una subunidad con actividad enzimática, que actúa sobre el sistema de la adenilato ciclasa incrementando la concentración intracelular del AMPc, produciendo la acumulación de líquido y electrolitos, conduciendo a una diarrea líquida del tipo secretor (145) (Ver capítulo I).

Es importante considerar que no todas las cepas de C. jejuni son toxigénicas, y las que lo son, presentan diferencias en la cantidad de toxina que producen. Se sabe que aún las cepas que se consideran altamente toxigénicas, excretan poca cantidad al medio.

El papel de la microcápsula en la patogenicidad de C. jejuni es importante, pues se sabe que tiene un efecto antifagocitario, además de proteger a la bacteria de la infección por bacteriófagos (180).

- Yersinia enterocolitica

- Taxonomía.

El primer reporte de la presencia de Yersinia enterocolitica lo realizaron Mcleaver y Picke en 1934; sin embargo, la primera descripción la hicieron Schleifstein y Coleman hasta 1939.

En 1944 Van Loghem propone la creación del nuevo género Yersinia, en honor a Alexander Yersin, quien en 1884 fué el primero en aislar al bacilo de la peste bubónica. Las primeras especies incluidas en el género fueron Y. pestis y Y. pseudotuberculosis, que estaban contenidas en el género Pasteurella. Este cambio se debió a los diferencias existentes en la reacción de oxidasa y a la composición del DNA (11).

Actualmente, este género consta de siete especies, de las cuáles sólo tres son de interés, por causar enfermedades en el humano y algunos animales domésticos.

El género Yersinia, pertenece a la familia Enterobacteriaceae, por lo que expresa el antígeno común de las enterobacterias y algunas características fisiológicas similares (11).

Y. enterocolitica es un cocobacilo oval, de 0.5 a 0.8  $\mu$  de ancho por 1 a 3  $\mu$  de largo, es Gram negativo e inmóvil a 37°C, pero muestra movilidad por flagelos peritricos que se presentan a temperaturas menores a los 30°C.

- Composición química y estructura antigénica.

La estructura antigénica de las especies del género Yersinia es compleja. Algunos antígenos son comunes a las especies Y. pseudotuberculosis, Y. pestis y Y. enterocolitica. El antígeno común de las enterobacterias se encuentra en estas tres especies.

Los antígenos V y W, se han identificado en Y. enterocolitica y Y. pseudotuberculosis. El antígeno V es una proteína cuyo peso molecular se encuentra

en el rango de 38 a 41 Kd y puede recuperarse de la fracción citoplasmática de la célula (24, 111). La información que se tiene del antígeno W es mucho menor. Lawton y col, quienes realizaron la purificación de este antígeno, estiman que su peso molecular es cercano a los 45 Kd y que el 38% de su peso seco es lípido, esto indica que es posible que se localice en la membrana citoplasmática; sin embargo, su posición precisa aún se desconoce (24, 87, 114).

Wauter y col, en 1972 (11), describen 34 diferentes antígenos O y 20 antígenos de serogrupo H en Y. enterocolitica, esta clasificación incluye algunos serogrupos de las especies Y. intermedia, y Y. kristensenii. Se ha observado que existen reacciones cruzadas entre Y. enterocolitica serogrupo 09 y especies de Brucella, y entre Y. enterocolitica serogrupo 012 y Salmonella factor 047. Estudios recientes han revelado la presencia de un antígeno K prevalente en el serotipo 03.

Caroff y col (156) han identificado el determinante antigénico responsable de la reacción cruzada entre el serogrupo 09 de Y. enterocolitica y Brucella spp. Se trata de las unidades de la cadena de lipopolisacáridos del antígeno O, que están formadas por la molécula 4,6 - dideoxi - 4 - formamido -  $\alpha$  - D - manopranosil.

En 1986, Díaz y col (36), detectaron que las cepas de las diferentes serogrupos de Y. enterocolitica, produjeron una proteína de 24 Kd cuando se cultivaron a 37°C en un medio sólido conteniendo carbohidratos metabolizables. Esta proteína se comporta como un antígeno de superficie, aunque en realidad no es una proteína de membrana externa. Al parecer se trata de un marcador de patogenicidad, cuyo papel como factor patógeno se desconoce.

Todo parece indicar que la composición y estructura de los lipopolisacáridos de Y. enterocolitica están regulados por la temperatura de crecimiento; de manera que su composición química depende de la temperatura de crecimiento y la expresión - termodependiente, de los plásmidos que contengan alguna proteína de superficie (87).

- Resistencia a los agentes físicos y químicos.

Y. enterocolitica, muestra sensibilidad in vitro a los siguientes antibióticos: aminoglucósidos, cloramfenicol, tetraciclinas, trimetoprim-sulfametoxazol y a las cefalosporinas de tercera generación.

Frecuentemente muestra resistencia a las penicilinas, ampicilinas, las cefalosporinas de primera generación y a la carbencilina, debido a que produce una  $\beta$ -Lactamasa constitutiva, los extractos de diversas plantas pueden inhibir la actividad de esta enzima (60, 153).

Cornelis y col (15) reportan la presencia de un plásmido que tiene la capacidad de dar resistencia frente a diversas antibióticos como el cloramfenicol, la estreptomycinina, las sulfonamidas y las tetraciclinas, este plásmido puede ser transmitido a E. coli K12 y a Salmonella java, lo que significa la presencia de un reservorio potencial de factores de resistencia.

Y. enterocolitica es sensible a la clorinación, de ahí que este es un método de tratamiento del agua para eliminar una fuente de infección. Las especies de Yersinia pueden tolerar un 5% de NaCl y crecer en un rango de pH de 4 a 10.

En cuanto a la temperatura, se sabe que Y. enterocolitica sobrevive largos períodos a 4°C.

En general, se considera que este microorganismo es poco sensible a los efectos de la desecación y temperatura, ya que logra sobrevivir por más de 10 años en medios de cultivo convencionales para enterobacterias cuando se le mantiene a temperatura ambiente. Además que se mantiene viable por mucho tiempo después de que se ha liofilizado (11).

- Requerimientos nutricionales.

Y. enterocolitica es un microorganismo facultativo, que tiene metabolismo respiratorio y fermentativo.

Sus características fenotípicas son dependientes de la temperatura de cultivo, expresándose generalmente en el rango de 25 a 29°C.

Dentro de estas propiedades termodependientes se encuentra la dependencia de calcio. Esta característica se evalúa en los medios con oxalato de magnesio y agar triplicase-soya con 40 mg/l de calcio. Se incuban 2 placas, una a 37°C y la otra a 26°C. Las cepas calcio-dependientes crecen a 26°C, pero no a 37°C (10, 11, 50).

La biotina y la tiamina, aunque no las requiere el microorganismo para crecer, promueven su crecimiento.

Y. enterocolitica, requiere de hierro acoplado a sus transportadores, pues no es capaz de sintetizar compuestos transportadores del hierro, como son los sideróforos, que compiten con la transferrina por el hierro disponible. En un ambiente libre, utiliza los sideróforos producidos por otras bacterias. Otra fuente exógena la constituyen los agentes quelantes del hierro, sobre todo la desferroxamina que se administra a algunos pacientes que tienen exceso de hierro libre.

Esta propiedad explica el aparente incremento en la incidencia de yersiniosis (sobre todo con dolor abdominal y diarrea aguda) en pacientes que reciben agentes quelantes del hierro (15, 59).

Perry y Brubaker (159) demostraron que este microorganismo es capaz de utilizar la hemina como fuente de hierro.

- Condiciones para el desarrollo óptimo.

Y. enterocolitica se identificó como un microorganismo patógeno para el hombre en 1933. Sin embargo, es hasta 1970 que comenzaron a desarrollarse los métodos que ahora permiten aislar a este microorganismo, sobre todo a partir de muestras fecales. Y. enterocolitica, presenta un bajo crecimiento a 37°C y reacciones bioquímicas muy similares a otros miembros de la familia Enterobacteriaceae, lo que dificulta grandemente su identificación en el laboratorio clínico (15, 51, 125).

Greenwood y col (51) demostraron que los medios y procedimientos que se utilizan convencionalmente en la rutina clínica, fallan frecuentemente en la recuperación e identificación del microorganismo.

La colocación de la muestra en un amortiguador de fosfatos o en caldo Rappaport durante tres semanas a 4°C, favorece el enriquecimiento de la muestra, aumentando en un 44% la posibilidad de aislamiento de Y. enterocolitica a partir de materia fecal. Pai y col (125), reportan que la eficacia de este procedimiento de enriquecimiento, depende de la condición clínica del paciente. Se obtienen los mejores resultados en muestras de pacientes asintomáticos y convalecientes, en donde el número de microorganismos presentes es muy bajo. En lo que respecta a las muestras de pacientes con diarrea aguda, el cultivo directo rinde resultados aceptables, por lo que no es conveniente establecer este método de enriquecimiento en la rutina de un laboratorio clínico, sobre todo por el tiempo tan largo que requiere en la pre incubación.

Los medios generalmente usados para su aislamiento, son los que convencionalmente se emplean para las enterobacterias: MacConkey, XLD y Salmonella-Shigella (SS).

El medio de "Cefsulodin-Irgasan-novobiocina" (CIN), es un agar altamente selectivo y diferencial para Y. enterocolitica, a 25°C sus colonias son pequeñas de color rojo oscuro. Este medio es muy útil para distinguir a Y. enterocolitica de los microorganismos similares (11, 155)

El rango óptimo de temperatura de crecimiento para este microorganismo es de 28-29°C, para que se expresen muchas de sus características termodependientes (11). En cuanto al pH óptimo, éste se encuentra entre 7.2 y 7.4.

- Identificación de los microorganismos.

Muchas de las reacciones bioquímicas que muestra Y. enterocolitica son dependientes de la temperatura de crecimiento. En la tabla No. 2 (11), se muestran las principales pruebas bioquímicas de identificación del género Yersinia y las temperaturas a las cuales se llevan a cabo.

La reacción de Voges-Proskauer es positiva a 22-28°C y negativa a 37°C. En cuanto a la movilidad, usando el medio de lisina-indol-movilidad la prueba es positiva solamente si se incuba en el rango de temperatura de 25-28°C (11, 115).

Como se mencionó anteriormente, la identificación de la especie Y. enterocolitica no es suficiente para el diagnóstico clínico. La determinación de las cepas patógenas tiene mucha importancia.

A continuación se explica brevemente el procedimiento a seguir en la realización de algunas de estas pruebas.

**Pruebas de invasividad:** Dentro de estas pruebas se encuentran la invasión a células HeLa y la de Sereny. La primera consiste en obtener una monocapa de células cultivadas en medio mínimo de Eagle con 10% de suero fetal bovino, 50 UI de penicilina G/ml y 50 µg de estreptomina/ml, incubadas a 35°C con 5% de CO<sub>2</sub>. La infección se logra poniendo en contacto una suspensión de concentración conocida de microorganismos con la monocapa. La infectividad se evalúa a diferentes períodos mediante el conteo de las bacterias intracelulares por microscopía (35).

La prueba de Sereny es un recurso más accesible para el laboratorio clínico. Consiste en inocular una asada del microorganismo en el ojo de un cuyo, en el otro ojo (control) se inocula solución salina. La reacción se considera positiva si se presenta conjuntivitis en el ojo infectado en un lapso de 48 h. (4).

**Prueba de autoaglutinación:** Para esta prueba se utilizan células crecidas durante 24 h. a 37°C en medio de tripticase-soya-agar. Se preparan dos suspensiones con una concentración de 10<sup>9</sup> células por ml en un amortiguador de fosfatos, se incuban una a 37°C y otra a 25°C. La prueba positiva se observa después de 1 h a 37°C (137).

**Tabla No. 2**  
**Características mínimas para efectuar**  
**la identificación de**  
**Yersinia enterocolitica (11).**

Ornitina descarboxilasa	+
Movilidad (25°C)	+
Lisina descarboxilasa	-
Ureasa	+
Citrato (25°C)	-
Voges-Prokauer (25°C)	+
Producción de Indol	+
Gelatinasa (Hidrólisis de la gelatina)	-
Producción de ácido a partir de:	
Sacarosa	+
Celobiosa	+
Sorbitol	+
Rafinosa	-

- Factores de patogenicidad.

La diferencia entre las cepas patógenas de Y. enterocolitica de las que no lo son, es de vital importancia para el diagnóstico clínico. Una gran cantidad de los estudios realizados con respecto a Y. enterocolitica, se orientan al conocimiento de sus factores de patogenicidad y al diseño de pruebas de laboratorio que permiten identificarlos. (66, 67, 68, 93, 107).

Los marcadores de patogenicidad que se pueden detectar *in vitro*, incluyen la determinación del serotipo, autoaglutinación, dependencia de calcio, absorción del rojo Congo, ausencia de la actividad de pirazinamidasasa, invasión de células HeLa, invasión de la conjuntiva de cuyos (Prueba de Sereny), producción de antígeno V y W, alteración de las proteínas externas de la membrana, inhibición de la quimioluminiscencia de neutrófilos humanos, resistencia a la actividad bactericida del suero y a la fagocitosis y producción de enterotoxina (86, 87, 115).

Muchos de estos factores, están contenidos en plásmidos cuyo peso molecular se encuentra en el intervalo de 42 a 82 megadalton (MDa), además de que su expresión depende de la temperatura (4, 74 ).

La identificación de una cepa patógena se logra mediante la combinación de pruebas bioquímicas y la identificación de los plásmidos que contiene.

Mazigh y col (102) reportan que es posible diferenciar las cepas patógenas por su morfología cuando se hacen crecer en el medio RPMI 1640 (Flow laboratories) a 37°C. Las cepas no patógenas son colonias grandes, mientras que las patógenas son pequeñas. (150).

Otro método rápido y sencillo para diferenciar a las cepas patógenas, lo reportó Kaya en 1983 (137). Consiste en hacer crecer los microorganismos en un medio selectivo que contenga 5 µg/ml de rojo Congo. En este medio, las cepas patógenas de Y. enterocolitica toman el colorante, por lo que desarrollan una pigmentación roja.

Dentro de los marcadores que se asocian fuertemente con la patogenicidad de Y. enterocolitica, se encuentra la autoaglutinación y la hemaglutinación.

Mac Lagan y col (70) describieron la presencia de dos hemaglutininas en Y. enterocolitica, que se asocian a la presencia de fimbrias; sin embargo no se observa correlación alguna entre la capacidad para adherirse a las células epiteliales in vitro y la producción de fimbrias. El hecho de que no se encuentre relación alguna entre la virulencia de una cepa y la presencia de hemaglutininas in vitro, no implica que éstas no sean factores de virulencia importantes in vivo.

La autoaglutinación es un fenómeno dependiente de la temperatura; la prueba positiva se obtiene cuando se hace crecer al microorganismo a 37°C y es negativa cuando se incuba a 25°C. La autoaglutinación a ambas temperaturas se considera como un falso positivo (83).

Walter y col (83) proponen que la capacidad de autoaglutinación y la producción de antígeno V y W están contenidos en el mismo plásmido.

Las cepas patógenas de Y. enterocolitica requieren de calcio en el medio de cultivo para crecer, esta característica se presenta solo cuando el cultivo se incuba a 37°C, a esta temperatura y sin la presencia de calcio, el microorganismo detiene su crecimiento (111).

Estudios realizados por Mulder en 1989 (111), revelan que las cepas que contienen el plásmido de 70 kilobases llamado pYV son calcio dependientes. De ahí, que se puede considerar que ésta es una propiedad mediada o contenida en este plásmido.

Y. enterocolitica es un microorganismo que se ha considerado invasivo; así la prueba de invasión a células HeLa y a la conjuntiva ocular de cuyos ( Prueba de Serey) se consideran como propiedades patógenas importantes de este microorganismos (124).

Devenish, en 1981 (35), hace notar que existe diferencia en el uso de los términos "invasividad" e "infectividad". Un microorganismo invasivo, es aquél que tiene la capacidad de infectar y multiplicarse intracelularmente, mientras que la infectividad, se refiere a la sola capacidad de entrar a la células sin multiplicarse. Y. enterocolitica es un microorganismo infectivo, pues se sabe, que no posee la

capacidad de multiplicarse intracelularmente. Esta capacidad es mediada por el plásmido de peso molecular  $41 \times 10^6$  MDa (186).

Los antígenos V y W se han reconocido como importantes factores de patogenicidad en Y. enterocolitica. Su síntesis se lleva a cabo, cuando el microorganismo se cultiva a temperatura ambiente o a 37°C en presencia de calcio. El papel preciso que estos antígenos tienen en la patogenicidad de Y. enterocolitica no se conoce; sin embargo, se ha observado que existe relación entre la resistencia a la actividad bacteriolítica, del suero fresco y fagocitosis, con la producción de dichos antígenos y otras proteínas externas. Dichas resistencias, son factores importantes en el proceso de evasión de los mecanismos naturales de defensa del hospedador, que el microorganismo lleva a cabo para causar daño (24, 86, 87, 124).

La mayoría de las cepas de Y. enterocolitica aisladas en humanos, tienen la capacidad de producir una enterotoxina, que al igual que la termoestable de E. coli, es activa en el asa ileal de ratones y conejos neonatos, pero sin serlo en las células adrenales Y1, además de ser estable cuando se calienta a 100°C durante 15 min. (122, 123). Aulisio y col en 1983 (4), sugirieron que la producción de esta enterotoxina no es un factor determinante en la patogenicidad del microorganismo.

- Vibrio parahaemolyticus

- Taxonomía.

En el año de 1950, en un suburbio situado al sur de Osaka Japón, se presentó un envenenamiento alimentario debido a la ingesta de una pequeña sardina llamada "shirasu".

Al microorganismo identificado como el agente casual, Fujino y col, en 1951 (121), lo clasificaron como Pasteurella parahaemolytica.

A esta bacteria halófila patógena, la incluyeron dentro del género Vibrio en 1960, designándola como V. parahaemolyticus.

Intentos posteriores por reclasificar a V. parahaemolyticus, llevaron a Bauman a incluirlo en el género Beneckea (Lucibacterium), debido a la similitud que se presenta

entre las bacterias luminosas y V. parahaemolyticus. Sin embargo, la creación de este nuevo género no fué aceptada por la comunidad científica, lo que provocó que se descartara.

En la edición de 1984 del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática (7), aparece clasificado dentro de la familia Vibrionaceae, género: Vibrio y especie: V. parahaemolyticus.

- Composición química y estructura antigénica.

V. parahaemolyticus es un microorganismo Gram negativo, en forma de bacilo recto, en ocasiones curvo (pleomórfico), que generalmente posee un flagelo polar, pero bajo ciertas condiciones, también produce flagelos peritricos (152).

Su cubierta celular está constituida por lipopolisacáridos (LPS) que poseen bajas cantidades de ácido grasos hidroxilados, y una alta proporción molar de fosfatos con respecto a los aminoazúcares presentes en el lípido A (121).

El estudio de los ácidos grasos presentes en el LPS de V. parahaemolyticus, revela la presencia de ácidos mirístico, palmítico, 3-hidroxiáurico y probablemente ácido palmitoléico en cantidades mayores. Los ácidos decanoico, pentadecanoico, heptadecanoico, octadecanoico y eicosenoico, se encuentra en proporciones menores.

Se sabe que la composición de los ácidos grasos se ve afectado por el medio de cultivo usado y la temperatura de crecimiento, que son factores que se deben tener en cuenta para determinar la composición de este microorganismo.

En lo que respecta a los flagelos de V. parahaemolyticus, Shinoda (121) reporta que existen diferencias antigénicas entre los flagelos polares (producidos en medio de cultivo líquido) y los flagelos peritricos (producidos en medio sólido).

La flagelina peritrica es una proteína de 40 Kd que puede eluirse fácilmente con un amortiguador de fosfato 0.031M.

La comprobación de las diferencias antigénicas fue realizada por Shinoda, quien observó por microscopía electrónica la reacción de los diferentes flagelos con anticuerpos específicos conjugados con ferritina, obteniendo flagelos "forrados" con ésta, fácilmente distinguibles entre ellos.

- Resistencia a los agentes físicos y químicos.

La gran mayoría de las especies del género Vibrio son muy sensibles a las tetraciclinas, de ahí que se consideren el antibiótico de elección para el tratamiento de las enfermedades.

Presenta además, mediana sensibilidad al cloramfenicol, gentamicina, kanamicina, estreptomina y a las sulfonamidas.

De manera especial V. parahaemolyticus es resistente a la polimixina y en menor grado a la penicilina y a la novobiocina (7).

V. parahaemolyticus es un microorganismo marino, por lo que presenta una halotolerancia alta (hasta un 8% de NaCl), presentando además, dependencia del Na<sup>+</sup>.

Otros factores físicos importantes a los que este microorganismo presenta un amplio rango de tolerancia son temperatura y pH, puede crecer a bajas temperaturas (9-10°C) y a temperaturas tan altas como 44°C.

En cuanto al pH puede desarrollarse desde 5 hasta 11. Esta capacidad se ha aprovechado en el diseño de medios selectivos para su aislamiento (121).

- Requerimientos nutricionales.

Como se mencionó antes, V. parahaemolyticus requiere de iones Na<sup>+</sup> para crecer.

El Na<sup>+</sup> previene la lisis celular, además de acelerar a la citocromo oxidasa, la cadena de transporte de electrones y la formación de ATP en la fosforilación oxidativa. También es de gran importancia, en el transporte activo de nutrientes dependientes

de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , al interior de la célula. Los requerimientos de  $\text{Na}^+$  se ven notablemente disminuidos en presencia de otros cationes tales como el  $\text{Li}^+$  y el  $\text{K}^+$  (121).

De manera general, se considera que las especies del género Vibrio no requieren factores de crecimiento orgánicos. Sin embargo, algunas cepas llegan a requerir para su desarrollo algunos aminoácidos, particularmente después de haber permanecido largo tiempo almacenadas (7).

- Condiciones para el desarrollo óptimo.

La temperatura óptima de crecimiento para este microorganismo se encuentra en el intervalo de 35 a 37°C.

En cuanto al pH, su óptimo se encuentra entre 7.5 y 8.0 y la concentración óptima de NaCl es de 0.5 M, es decir, del 3% (121).

La interacción conjunta del pH, temperatura y concentración de sal, son los factores más importantes a regular para obtener un crecimiento óptimo de V. parahaemolyticus.

El uso de medios de enriquecimiento se hace necesario en muestras que contengan pocos microorganismos (muestras de alimentos marinos o agua de mar). Los más usados son el caldo glucosa-sal-Teepol (GSTB), caldo sal-colistina de Sakazaki y el caldo tripticase soya suplementado con NaCl al 7%.

Dentro de los medios selectivos más usados se encuentra el medio tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa (TCBS), que inhibe un gran número de microorganismos de la flora fecal, debido a que contiene sales biliares y su pH es de 8.6. Permite, además, diferenciar las colonias de V. parahaemolyticus, que al no fermentar la sacarosa son azules o azul verdosas, a diferencia de V. cholerae y V. alginolyticus que fermentan este azúcar y producen colonias amarillas.

Aunque el TCBS es un medio útil, su selectividad no es muy alta, además de que es difícil de conseguir en países no desarrollados. Por tales razones, se han diseñado nuevos medios como el agar polimixina-tilosin-sal-sacarosa (PTSS), el agar

azul agua-amarillo alizarina (WA) y el medio arabinosa-sulfato de amonio-colato (AAC) entre otros.

La selectividad de estos medios radica en la presencia de detergentes como el teepol, de sales biliares, antibióticos como la polimixina y pH alcalino mayor a 8 (17, 121)

- Factores de patogenicidad.

De las sustancias hemolíticas que se han identificado en V. parahaemolyticus, la más importante es la hemolisina termoestable directa (TDH).

La TDH es la responsable de presentar el fenómeno de Kanagawa, que consiste en la capacidad que tiene V. parahaemolyticus de causar hemólisis total en los eritrocitos humanos. Dicha actividad hemolítica se detecta mediante la prueba de Kanagawa, que consiste en inocular al microorganismo en dos medios, uno que contenga eritrocitos humanos y el otro de caballo. La prueba se considera positiva cuando se observa una hemólisis tipo  $\beta$  alrededor de las colonias de V. parahaemolyticus cultivadas en el medio con eritrocitos humanos, permaneciendo el segundo medio sin hemólisis (108).

La confiabilidad de esta prueba es aún incierta, puesto que factores como el pH, concentración de NaCl en el medio, y distintos carbohidratos presentes, producen variaciones en el tipo de hemólisis y el tiempo en el que ésta se presenta (61, 73, 167, 168).

Se han detectado actividades biológicas de la TDH como son:

- Citotoxicidad: Se presenta en células HeLa, L, FL, de neuroblastomas, de miocardio de ratón y las CCL (6) derivadas del intestino humano.

En las células FL, Sakurai en 1976 (126), observó que la TDH causaba desaparición de los microvellosidades conduciendo a la muerte celular a los 60 min de incubación.

- Enterotoxicidad: En experimentos realizados en el asa ligada de conejo, se observó la acumulación de un fluido turbio y sanguinolento, además de lesiones histológicas erosionantes.

- Toxicidad letal: La TDH es letal para ratones y cuyos. En 1980, Miyamoto encontró que la DL50 por vía intravenosa, era de 1.4 µg, mientras que por vía oral era de 30µg.

- Cardiotoxicidad: La TDH causa degeneración de las células del miocardio de ratón, probablemente debido a que facilita la entrada excesiva de  $Ca^{++}$  al interior de la célula.

Aunque no existe evidencia comprobada de que la TDH es la responsable de la diarrea observada en la infección por V. parahaemolyticus es muy probable que, por lo menos, sea una de las principales causas de esta manifestación clínica.

- Identificación de los microorganismos.

V. parahaemolyticus es un microorganismo facultativo puesto que tiene ambos metabolismos: el respiratorio y el fermentativo.

Es capaz de fermentar la glucosa en forma anaeróbica, además de la galactosa, levulosa, maltosa, manitol, manosa, ribosa y trehalosa. En contraste, no fermenta el inositol, lactosa, rafinosa, sacarosa y xilosa.

Tienen la capacidad de reducir los nitratos a nitritos y posee carboxilasas para lisina y ornitina.

Teniendo como base las características bioquímicas ya mencionadas, Hugh y Sakazaki propusieron una tabla de características mínimas para identificar a V. parahaemolyticus.

Características mínimas para efectuar  
la identificación de  
Vibrio parahaemolyticus (121)

Bacilo Gram negativo no esporulado	+
Oxidasa	+
Glucosa, ácido bajo un sello de petróleo	-
Glucosa, gas	+
Manitol, ácido	+
Sacarósa, ácido	-
Acetilmetilcarbinol	-
H <sub>2</sub> S	-
L-lisina descarboxilasa	+
L-arginina dihidrolasa	-
L-ornitina descarboxilasa	+
Crecimiento en caldo triptona al 1%	-
Crec. en caldo triptona al 1% con NaCl al 8%	+
Crec. en caldo triptona al 1% con NaCl al 10%	-
Crecimiento a 42°C	+

### III. PATOGENESIS DEL SINDROME DIARREICO

#### - Cuadro Clínico.

Como se ha mencionado en el capítulo I, existen diferentes tipos de diarrea dependiendo del microorganismo causal y de su mecanismo de patogenicidad.

Conocer las características del síndrome diarreico causado por un microorganismo específico, es de mucha utilidad en el diagnóstico y posible tratamiento a seguir. A continuación se mencionan las características principales de la enfermedad diarreica causada por las tres bacterias objeto de este estudio.

#### - Campylobacter jejuni:

Las características clínicas de la enfermedad diarreica causada por este microorganismo, no nos permiten hacer un diagnóstico etiológico per se, ya que son indiferenciables de las encontradas en otras enfermedades, pareciéndose mucho a la enfermedad causada por Shigella y Salmonella (53, 185)

El cuadro clínico se caracteriza por una enfermedad de mediana gravedad (las personas afectadas generalmente no requieren de hospitalización), hay presencia de deposiciones líquidas abundantes, características de un síndrome diarreico secretor, que en algunas ocasiones se acompañan de vómito y que si son abundantes pueden llevar a una deshidratación moderada. (43, 164).

De manera menos frecuente, se puede presentar un síndrome disenteriforme, con heces mucosanguinolentas y moco fecal, signos característicos de una diarrea invasiva.

Los dos cuadros anteriormente descritos, se pueden explicar en base a la capacidad que posee C. jejuni tanto para producir una enterotoxina, como para invadir las células de la mucosa intestinal (53, 135, 185).

- Yersinia enterocolitica:

Las deposiciones diarreas son de color verdoso, de consistencia variable, sin olor característico y sin sangre ni moco. Este signo desaparece en un período que varía de 1 día a 3 semanas.

Asociados a la diarrea, se presentan dolores abdominales intensos con cólicos y calambres en el cuadrante derecho bajo, que en muchos casos se confunde con cuadros de apendicitis que requieren atención quirúrgica; sin embargo, no se identifica en el apéndice la presencia de Yersinia enterocolitica (105, 113, 119).

En algunos casos de infección gastrointestinal debidos a este microorganismo, se presentan intensos dolores abdominales sin diarrea, lo que confunde más el diagnóstico, haciendo creer que se trata en realidad de un ataque de apendicitis.

La fiebre es otro signo del síndrome diarreico causado por Y. enterocolitica, que puede presentarse asociada con el dolor abdominal y las evacuaciones diarreas, o como único signo (172).

- Vibrio parahaemolyticus:

La gastroenteritis causada por este microorganismo es de aparición brusca, conocida en algunas partes como "intoxicación por mariscos" ya que su aparición se asocia a la ingesta de platillos confeccionados con mariscos y pescados.

Las evacuaciones diarreas son líquidas, muy abundantes, llegándose a presentar hasta 15 durante las primeras 24 horas después de haberse iniciado los síntomas. Puede instaurarse la deshidratación moderada o grave si no se le administra al paciente líquidos de reposición (23).

Los síntomas que generalmente acompañan a la diarrea son : dolores abdominales, náusea, fiebre y una fatiga que puede permanecer por varios días aún en el período de recuperación.

- Frecuencia de estos agentes etiológicos en América Latina.

Son muchos los factores que influyen en la frecuencia de un microorganismo en un medio determinado. En el caso de microorganismos causantes de diarrea, los factores socioeconómicos y culturales afectan de manera relevante; entre ellos pueden mencionarse los hábitos de higiene personal y los que se tienen al preparar y conservar los alimentos, la disponibilidad de agua potable y servicios sanitarios adecuados y, en el caso de Y. parahaemolyticus, la costumbre de ingerir platillos confeccionados con pescados y mariscos crudos o parcialmente cocidos. (132).

El clima y la distribución geográfica, aunados a los factores socioeconómicos y culturales mencionados anteriormente, producen una marcada diferencia en la frecuencia de estas bacterias en los países desarrollados y en los no desarrollados, como lo son los latinoamericanos.

En México, y esto se podría generalizar para toda América Latina, los niños menores de cinco años son los más afectados por el síndrome diarreico, presentándose éste como una de las primeras causas de mortalidad infantil; mientras que en los países industrializados, la diarrea aguda en niños tiene una incidencia global inferior, con una mayor frecuencia en los meses fríos y asociadas con una etiología fundamentalmente viral (45, 135).

Gracias al "Programa de Control de Diarreas" instituido por la OMS en 1978, se han podido desarrollar técnicas de laboratorio que permiten conocer la frecuencia de nuevas bacterias enteropatógenas como E. coli enterotoxigénica y enteroinvasiva, C. jejuni, Aeromonas hydrophila, Plesiomonas y Y. enterocolitica (92, 135).

De estos y otros estudios, se ha podido conocer que C. jejuni se aísla de niños con diarrea en una proporción semejante a Shigella y Salmonella en varios países latinoamericanos como México, Perú, Ecuador, Brasil y Chile, entre otros (9, 45, 53, 92, 109, 185). Es importante notar que el mayor número de aislamientos de C. jejuni se llevaron a cabo en meses calurosos. Morales y col (109) reportan la mayor frecuencia entre abril y junio, siendo los niños pequeños, menores de dos años, los más afectados (45, 109, 135, 138, 127).

Cabe mencionar que el porcentaje de aislamiento de C. jejuni declina al aumentar la edad de los niños, de manera que en los 6 primeros meses de vida se encuentra la mayor susceptibilidad a presentar diarrea aguda causada por C. jejuni, desapareciendo significativamente a los cinco años de edad (18, 22, 28).

Este fenómeno lo reportaron Calva y col en México, como resultado de un estudio longitudinal realizado en la población suburbana de San Pedro Mártir, en donde se estudiaron 125 niños menores de cinco años durante un año. Este estudio reveló que en los niños entre 12 y 17 meses de edad, la incidencia promedio anual de episodios diarreicos debidos a C. jejuni era de 3.5, disminuyendo a 0.6 episodios por niño cuando se acercaba a los cinco años de edad (28).

Resultados similares reportó Figueroa en 1989, de ahí que se puede concluir que se adquiere inmunidad natural efectiva, debida a la frecuente exposición a este agente etiológico en etapas tempranas de la vida, de manera que la frecuencia de episodios diarreicos disminuye, debido a la elevación de los niveles de anticuerpos anti-C. jejuni, particularmente los IgA (3, 28, 42, 71, 97).

C. jejuni se aísla frecuentemente de pacientes asintomáticos, esto puede explicarse en parte, por el prolongado período de excreción durante la convalecencia (15 días o más), que se ve alargado por la administración de antibióticos y por la inmunidad adquirida que evita la aparición de la diarrea pero no la colonización del Intestino (42, 101).

En el caso de Y. enterocolitica y V. parahaemolyticus, no se han realizado suficientes estudios para determinar la frecuencia real de estas bacterias en el síndrome diarreico. Sin embargo, se ha podido determinar que Y. enterocolitica es un agente frecuente en el síndrome diarreico de niños pequeños.

Un estudio realizado por Morales-Castillo y col en niños menores de dos años con diarrea aguda en un hospital de la ciudad de México, reveló que Y. enterocolitica se encontró en el 3.9% de los niños enfermos, porcentaje menor a los reportados para C. jejuni (9.8%), Shigella (9.4%) y Salmonella (5.9%) (109), pero significativamente importante para motivar la realización de más estudios y de incluir la búsqueda de este microorganismo en los estudios de rutina. (157).

Y. enterocolitica es un microorganismo que preferentemente se encuentra en países de clima frío, en donde se han reportado, en los últimos años, varios brotes epidérmicos (12, 78, 173). Este factor probablemente influye en la menor frecuencia de este microorganismo en los países latinoamericanos, en comparación con C. jejuni, cuya mayor frecuencia se detecta en zonas y meses cálidos.

Y. parahaemolyticus se consideró durante muchos años un microorganismo limitado al Japón, actualmente se sabe que se encuentra ampliamente distribuido en las aguas marinas de todo el mundo. En lo que respecta a América Latina, se han detectado brotes de gastroenteritis debidos a esta bacteria en México, Panamá y Perú (20, 46, 143).

Particularmente en la República Mexicana se han reportado casos en las ciudades de Puebla y Mérida.

En el caso de la ciudad de Puebla, se encontraron antecedentes de ingestión previa de un platillo confeccionado con mariscos crudos ("ceviche"), que es muy popular en nuestro país, especialmente en la costa del Pacífico. En este caso específico, los mariscos utilizados para preparar este platillo, provenían del Golfo de México, sitio en donde se han encontrado un número importante de mariscos contaminados con Y. parahaemolyticus (143).

Abbot y col, reportan haber encontrado un nuevo biotipo de Y. parahemolyticus en las costas oeste de México y Estados Unidos, que a diferencia de los biotipos antes conocidos, posee la capacidad de hidrolizar la urea. El nuevo biotipo se aisló predominantemente de casos de gastroenteritis asociados a la ingesta de ostiones provenientes, como arriba se mencionó, de las costas oeste de México y de Estados Unidos (Washington), además de haberse aislado de 2 pacientes que recientemente hablan viajado por México (1).

Aparte de la ingesta de mariscos y pescados crudos o insuficientemente cocinados existen otros factores que se asocian a la aparición de brotes de gastroenteritis debidos a Y. parahaemolyticus, como es la defectuosa refrigeración de los productos y el manejo inadecuado de los alimentos en las cocinas, que proporcionan la contaminación de los alimentos crudos a los cocidos.

Resultados obtenidos en un estudio hecho en los restaurantes de la ciudad de Mérida, Yucatán, revelaron que la prevalencia de V. parahaemolyticus difiere en las distintas especies marinas, siendo los moluscos los que presentan el mayor porcentaje de aislamiento; aún después de someterse al procedimiento para "ablandar" los alimentos, que consiste en sumergirlos en agua hirviendo y dejarlos reposar durante 5 minutos (46).

Finalmente, debe tenerse en cuenta la existencia de portadores asintomáticos, que constituyen una fuente de contaminación, ya que ésta no sólo involucra la ingesta de alimentos marinos, sino también otras vías de contaminación como la persona-persona, contaminación fecal de alimentos y agua, etc.

Un estudio realizado por Pérez Memije en el puerto de Acapulco, Guerrero, demostró la presencia de V. parahaemolyticus en las heces de 2 de las 275 muestras tomadas a manipuladores de alimentos marinos (46).

- Frecuencia de estos agentes etiológicos en los países industrializados.

En los países industrializados se tiene un conocimiento más amplio de la frecuencia de estos microorganismos en el síndrome diarreico, del que se tiene en los no desarrollados. Esto se puede explicar, debido a la introducción temprana de las técnicas microbiológicas adecuadas para su identificación.

Gracias a lo anterior, en los países industrializados se conocen con mayor precisión las fuentes y vehículos de transmisión de estas bacterias (14).

En la literatura internacional se encuentra un gran número de artículos que reportan brotes epidémicos de gastroenteritis, debidos a Y. enterocolitica y C. jejuni, relacionados con el consumo de agua, leche cruda y pasteurizada contaminada con estos agentes (176).

El agua no potable o deficientemente tratada, constituye un vehículo de transmisión que afecta grandes zonas y cantidades de personas. Palmer y col (126) reportaron en 1983, la aparición de un brote epidémico de gastroenteritis debido a C. jejuni, que afectó a 234 alumnos y 23 miembros del personal de una escuela. En este

caso, se encontró una relación significativa entre el consumo de agua proveniente de la escuela y la presencia de diarrea. Análisis de muestras de agua del tanque de almacenamiento de la escuela, revelaron la presencia de Campylobacter sp del mismo serotipo encontrado en los pacientes.

Debido a que sólo los estudiantes y personal de la escuela fueron afectados en la comunidad, se puede inferir que la contaminación se efectuó en el tanque de almacenamiento de la escuela, el cual se encontraba abierto al medio ambiente y expuesto a recibir deposiciones de aves (126).

Y. enterocolitica también se transmite por el agua. En 1982, Martin y col (96) reportaron un brote epidémico familiar de gastroenteritis debido a Y. enterocolitica, en donde fueron afectados tres de los cuatro miembros de una familia que se abastecía de agua en la riberita de un río cercano a su hogar.

No se encontró a Y. enterocolitica en ninguna de las muestras de agua tomadas en la riberita del río tres meses después de reportado el brote; sin embargo, el consumo de agua no hervida se relacionó significativamente con la presencia de diarrea y dolor abdominal.

La ingesta de leche pasteurizada y cruda se ha relacionado desde tiempo atrás, con la enfermedad diarreica causada por Y. enterocolitica y C. jejuni.

En los Estados Unidos y Canadá se han reportado varios brotes epidémicos de gastroenteritis debidos a C. jejuni, relacionados con la ingesta de leche cruda de vaca (58, 79, 104, 134).

C. jejuni no se excreta en la leche de vaca. Las fuentes de contaminación más probables, las constituyen las heces de animales enfermos, contenedores contaminados y manipuladores infectados. Mac Naughton, en 1982 (104), reportó que tres manipuladores de leche, habían sufrido enteritis debida a C. jejuni días antes de la aparición de un brote epidémico relacionado con la ingesta de esta leche.

La leche inadecuadamente pasteurizada también es un vehículo de transmisión de varios agentes etiológicos. En 1988, se reportó un brote epidémico de gastroenteritis debido a C. jejuni, en una escuela elemental en los Estados Unidos; en

este caso, el vehículo involucrado fué la leche inadecuadamente pasteurizada de la que se abastecía la escuela. La leche se sometía a un calentamiento de 57°C durante 25 min, mientras que un proceso de pasteurización adecuado, requiere de un calentamiento a 63°C durante 30 min (13).

Las vacas con antecedentes de aborto, diarreas o mastitis, deben retirarse de la ordeña hasta que se recuperen, puesto que se ha detectado que la leche que proviene de ellas se relaciona con la aparición de enfermedad diarreica debido a C. jejuni (13, 58).

En cuanto a Y. enterocolitica, Black y col (16) reportan un brote epidémico de gastroenteritis en Oneida, New York, Estados Unidos. En este brote, la enfermedad se relacionó con el consumo de leche con chocolate que se vendía en la cafetería de una escuela. Y. enterocolitica se aisló de muestras de la leche proveniente de la cafetería.

Algunos animales domésticos como perros, gatos, vacas, ovejas, cerdos y pollos, pueden ser infectados tanto por Y. enterocolitica como por C. jejuni, de manera que constituyen una fuente de contaminación importante para el hombre. (40, 52).

Existen varios casos de gastroenteritis debidos a estas dos bacterias, en donde los vehículos de transmisión son gatos y perros pequeños, infectados con estos agentes (48, 136).

Estudios hechos por Ruiz-Palacios y col (147), han demostrado que los pollos son animales muy susceptibles a ser colonizados por C. jejuni y a sufrir diarreas debidas a este agente, por lo que constituyen una fuente muy importante de contaminación para el hombre. La manipulación de pollos (vivos o muertos) se relaciona con la aparición de diarrea por C. jejuni (17, 88).

De los países desarrollados, Japón es el que presenta la mayor incidencia de Y. parahaemolyticus, debido al consumo de alimentos crudos de origen marino. Fishbein (121), ha reportado su aislamiento de treinta diferentes especies marinas, incluyendo almejas, ostiones, langostas, sardinas, camarones, calamares, anguillas y otras. (142, 154).

Y. parahaemolyticus se ha aislado de pacientes con gastroenteritis en varios lugares del mundo, incluyendo Estados Unidos, Holanda, Inglaterra y en el norte de Alemania (5, 23, 64, 65, 128).

A partir de 1969 se han presentado 16 brotes epidémicos de gastroenteritis debidas a esta bacteria en los Estados Unidos (46). El mayor se localizó en la Ciudad de Maryland en 1971; sin embargo, la poca información que hasta entonces se tenía de Y. parahaemolyticus, impidió la realización de un estudio epidemiológico profundo (23).

En 1973 se describió por primera vez en Gran Bretaña, una intoxicación masiva en la tripulación y pasajeros de un vuelo internacional que viajaba de Bangkok a Londres, por ingestión de bocadillos de cangrejo contaminados con este agente. Tres de los pasajeros afectados, de inmediato fueron hospitalizados por presentar deshidratación y choque (128).

Por lo que respecta a la frecuencia con la que C. jejuni se aísla en los países industrializados, se sabe que en el Reino Unido, en 1981, se aislaron 9,500 cepas, de las cuales, la mayoría provenían de pacientes con diarrea. Esta frecuencia sobrepasa a la de Shigella y es muy similar a la reportada para Salmonella (19).

Estudios realizados en este mismo país, revelan que la costumbre de ingerir leche no pausterizada, es uno de los factores de riesgo más importantes asociados con la aparición de enfermedad diarreica debida a C. jejuni, de manera que este problema se está tornando endémico en el Reino Unido (19).

Korlath y col (79), reportan que en los Estados Unidos C. jejuni se aísla en los pacientes hospitalizados con diarrea, con una frecuencia muy parecida a la existente para Salmonella y Shigella, siendo los más afectados los niños menores de cinco años.

Desde las dos últimas décadas, Y. enterocolitica se ha empezado a reconocer cada día con mayor frecuencia, como agente patógeno para el humano en varios países industrializados como son: Sudáfrica, Canadá, Japón, el Reino Unido, Estados Unidos, Australia, Suecia, Finlandia y Bélgica; presentándose la gastroenteritis debida a esta bacteria como un problema endémico en los tres últimos; siendo Bélgica,

probablemente, el país que presente la mayor densidad de infecciones por Y. enterocolitica (12, 84, 85, 172, 173).

En Suecia y Canadá, su frecuencia de aislamiento es muy parecida a la presentada por Salmonella y Shigella y, al igual que C. jejuni, afecta principalmente a los niños menores de cinco años (78, 94, 95).

- Complicaciones.

C. jejuni:

Son varias las complicaciones asociadas con el síndrome diarreico debido a este agente, de las cuales, una de las más graves y lesivas es el síndrome de Guillain-Barré (SGB).

Este síndrome es una desmielinización aguda del sistema nervioso periférico, que causa parálisis total o parcial. Este padecimiento, generalmente ocurre de una a tres semanas después de una infección inespecífica del sistema respiratorio o del tracto gastrointestinal.

C. jejuni es el agente patógeno más comúnmente asociado con este síndrome. Se ha reportado una alta frecuencia de pacientes con SGB y con la presencia previa de enteritis causada por esta bacteria (32, 82).

Se han detectado niveles elevados de anticuerpos anti-C. jejuni clase IgG, en el líquido cefalorraquídeo de los pacientes afectados. Estos anticuerpos probablemente proceden del suero.

El papel de los anticuerpos anti-C. jejuni en la producción del SGB aún se desconoce, sin embargo, muy probablemente existe reacción cruzada entre ellos y los tejidos nerviosos.

Se han detectado anticuerpos contra las proteínas neurales y la mielina durante este síndrome, de manera que es posible que C. jejuni, estimule su producción. Otra posibilidad la constituye la enterotoxina producida por esta bacteria, que probablemente se une al tejido nervioso de manera similar a como lo hace el colerágeno, causando daño neuronal (32).

Varios autores han sugerido que el SGB asociado a *C. jejuni*, es mucho más severo de lo usual; sin embargo, la recuperación final de los pacientes afectados es muy satisfactoria, quedando apenas ligeras alteraciones en la marcha (32, 82).

Smith y col (166) reportaron en 1988, un caso de metahemoglobinemia asociado al aislamiento de *C. jejuni* en las heces de una niña de 7 años que presentó cianosis progresiva.

El origen de la metahemoglobinemia puede deberse a que *C. jejuni* es un microorganismo microaerófilo, reductor de los nitratos, que aunado al tratamiento con eritromicina, produce un compuesto con propiedades oxidativas que causa el daño.

En 1979, se reportaron en Finlandia 8 casos de artritis reactiva en pacientes que habían sufrido enteritis por *C. jejuni*. De estos pacientes, cinco poseían antígeno HLA-B27, además de elevados niveles plasmáticos de anticuerpos anti-*C. jejuni*, los cuales disminuyeron durante la convalecencia. Estos hallazgos, indican que la artritis reactiva asociada a la gastroenteritis por *C. jejuni*, se relaciona significativamente con el antígeno HLA-B27 (80).

Una de las complicaciones más frecuentes que se presentan en la enfermedad diarrea debida a esta bacteria, son las convulsiones febriles.

Wright y col (181), reportaron su ocurrencia en varios niños durante una epidemia de enteritis causada por *C. jejuni*.

#### - *Y. enterocolitica*:

Es muy frecuente que en pacientes con gastroenteritis debidas a este microorganismo, se presente un fuerte dolor en la parte baja del cuadrante derecho, muy similar al que se presenta en los ataques agudos de apendicitis, conduciendo en muchos casos, a la extirpación del apéndice (78, 85, 105, 161, 172). Generalmente éste no se ve afectado, sin embargo, se encuentran signos de linfadenitis mesentérica e ileítis terminal aguda. En casos más graves, llegan a presentarse invasiones de la pared intestinal en la parte terminal del ileon y colon, causando su subsecuente ulceración (138, 172, 173).

Una vez que se ha llevado a cabo la ulceración y perforación del intestino, se puede presentar septicemia. esta es una complicación que sucede con mayor frecuencia en pacientes que padecen de otras enfermedades como: anemia aplásica, malnutrición, cáncer, enfermedades del hígado y en aquéllos que reciben terapia Inmunosupresora. Sin embargo, también se han reportado casos fatales de septicemia en niños sanos (12, 77, 170).

Entre las enfermedades sistémicas que se presentan como complicación en el síndrome diarreico causado por Y. enterocolitica, se encuentra la meningitis, el eritema nodoso, el síndrome de Reiter, artritis, miocardis, tiroiditis y pancreatitis (16, 77, 85, 138). A excepción de la meningitis, el resto de las enfermedades mencionadas tienen un origen autoinmune, los mecanismos por los cuales se causa el daño, aún se desconocen; sin embargo, se sospecha que los complejos inmunes circulantes, que se detectan en pacientes con gastroenteritis prolongada causada por Y. enterocolitica, juegan un papel determinante en la aparición de estos padecimientos (84).

Al igual que la artritis asociada a la infección entérica por C. jejuni, se ha observado que la asociada a la gastroenteritis por Y. enterocolitica, se presenta en individuos con antígeno HLAB-27, involucrando varias articulaciones (77).

Las manifestaciones cutáneas que incluyen el eritema nodoso, son más frecuentes en adultos que en niños, llegando a aislar a Y. enterocolitica de las lesiones ulcerativas de la piel.

Las complicaciones antes mencionadas se detectan con mayor frecuencia en los países Escandinavos, como son Suecia y Finlandia, debido a que en ellos la yersiniosis se presenta de manera endémica. La incidencia de estas enfermedades como manifestaciones colaterales al síndrome diarreico por Y. enterocolitica, no se conoce en otros países; inclusive los otros industrializados como los Estados Unidos y el Canadá.

#### V. parahaemolyticus:

La deshidratación moderada a grave, es probablemente la complicación más importante, debido a que la diarrea por V. parahaemolyticus es líquida y muy abundante (128).

Es importante hacer notar que la deshidratación puede presentarse en cualquier tipo de enfermedades diarreicas, independientemente de su etiología.

En el caso de los otros dos agentes estudiados en este trabajo, no se menciona la deshidratación como una complicación relevante; sin embargo, no debe perderse de vista que de los niños que fallecen a consecuencia de la diarrea, el 70% de los casos es por deshidratación (56).

Deshidratación se define como el balance negativo de líquidos y electrolitos, que se atribuye a varias causas, como son la pérdida de líquidos por vía intestinal (evacuaciones y vómitos), por polipnea, sudoración y por falta de aporte externo.

La hiponatremia y la hipocalcemia constituyen los desórdenes electrolíticos más importantes que se presentan en la deshidratación, causando los siguientes síntomas: náuseas, vómito, calambres musculares, debilidad muscular, taquicardias, letargo y confusión general (120).

La pérdida de líquidos puede llevar al choque hipovolémico, que es un síndrome clínico debido a la insuficiencia cardiovascular para llevar oxígeno y nutrientes a los tejidos del cuerpo, la carencia de éstos conduce a un metabolismo aerobio, causando daño y posteriormente la muerte celular (120).

No se han reportado otras complicaciones extraintestinales asociadas a la gastroenteritis debida a V. parahaemolyticus (178).

#### IV. MANEJO DEL PACIENTE CON SINDROME DIARREICO

##### - Terapia de hidratación oral.

La hidratación oral tiene como objetivo restituir el agua y los electrolitos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$ ) perdidos en las evacuaciones de pacientes con diarrea.

La OMS recomienda, desde 1971, el uso de una solución de hidratación que se administra oralmente y cuyo composición es la siguiente (175):

Componentes	(g/l)
Cloruro de sodio .....	3.5
Citrato trisódico hidratado .....	2.9
Cloruro de potasio.....	1.5
Glucosa anhidra.....	20.0

Estas sales vienen empaquetadas en sobres de aluminio laminado para garantizar su estabilidad y durabilidad. Para su administración al paciente, deben solubilizarse en un litro de agua limpia (preferentemente hervida y fría), la concentración molar final de la solución es la siguiente:

Concentración molar	(mmol/l)
Sodio.....	90
Cloro.....	80
Potasio.....	20
Citrato.....	10
Glucosa.....	110

Su osmolaridad es de 310 mOsm/Kg de agua, que es muy cercana a la osmolaridad ideal intestinal para la absorción (221 a 330 mOsm/Kg de agua) (120).

Como se mencionó en el capítulo I, el descubrimiento del transporte acoplado de la glucosa y del sodio se ha considerado uno de los avances médicos más sobresalientes de este siglo.

Hasta el momento actual, se acepta el modelo del transporte activo propuesto por Crane en 1962 (175), quien plantea la existencia de un transportador de la glucosa (posiblemente una proteína) el cual es compartido por el ión sodio; éste último facilita la captación de la glucosa por el transportador. Este proceso, a su vez, se basa en la acción del mecanismo activo de la bomba de sodio, que funciona en la parte basolateral de la membrana celular, manteniendo un bajo nivel de sodio dentro de la célula y una alta concentración del mismo en el espacio intercelular lateral. Lo anterior crea un gradiente osmótico que produce la entrada de agua y otros electrolitos. Fig. No. 6.

La solución de hidratación oral (SHO) que recomienda la OMS, tiene como limitante el hecho de que no induce reducción en el volumen de las evacuaciones diarreicas ni acorta el tiempo de duración de la diarrea. Es por esto que se han buscado soluciones modificadas (con otras sustancias que también favorezcan la absorción de  $\text{Na}^+$ ) y que muestren propiedades antidiarreicas.

Entre las sustancias experimentadas se encuentran: glucosa + glicina, glucosa + alanina, glucosa + L-alanina y maltodextrinas.

Los resultados obtenidos, revelan que estas soluciones modificadas (también llamadas "super soluciones de hidratación oral") no presentan efectos superiores, en cuanto al tiempo en que se hidrata el paciente y a la duración de la diarrea, con respecto a la SHO recomendada por la OMS.

Estudios posteriores han demostrado que la adición a la SHO-OMS, de polvo o harina de arroz en concentración entre 30 ó 50 g/l, induce reducción en las pérdidas de electrolitos y agua en las heces, así como acortamiento del período de la diarrea (174).

El manejo actual del paciente con síndrome diarreico, incluye de manera importante el uso de la terapia de hidratación oral; para ello se han diseñado tres planes de tratamiento, de acuerdo al grado de deshidratación del paciente (120).

**- Plan de tratamiento A:**

Tiene como objetivo el prevenir la deshidratación, se aplica principalmente en el hogar y es la madre (en el caso de niños) quien lo lleva a cabo.

Este plan consiste en administrar en pequeñas dosis, usando una cucharita o gotero, un cuarto, o media taza de SHO, después de cada evacuación. A los adultos se les administra tanto como deseen beber.

**- Plan de tratamiento B:**

Se aplica a pacientes con deshidratación leve a moderada. El proceso de hidratación se completa, por lo general, en un período de cuatro a seis horas; durante este tiempo se ofrecen al paciente alrededor de 20 a 30 ml de solución por cada kilogramo de peso por hora, debe procurarse que las tomas sean cada 15 o 20 minutos.

Este plan de tratamiento procura evitar la deshidratación grave, al igual que el uso de soluciones intravenosas, que generalmente son costosas, difíciles de aplicar y representan el peligro de sepsis.

Una vez que el paciente se ha hidratado, se incluye en el plan A, con el propósito de mantenerlo hidratado.

**- Plan de tratamiento C:**

Combina la administración por vía intravenosa, de una solución polielectrolítica durante un período corto de 2 ó 3 hrs, que se complementa con SHO.

El propósito es lograr una expansión rápida del volumen intravascular y convertir la deshidratación grave en moderada, debido a que la velocidad de reposición de los líquidos es mayor que la de su pérdida por las heces diarreicas.

En el medio rural mexicano el uso de la TRO es cada vez más frecuente; una encuesta realizada por Gutiérrez y col, mostró que el 65.2% de los casos de diarrea

aguda que se atendieron en el programa I.M.S.S.-C.O.P.L.A.M.A.R. de 1982 a 1983, se trataron exitosamente con la TRO, lo que causó una notable disminución de las defunciones de niños menores de un año (56).

- Manejo nutricional.

La alimentación debe de ser suficiente en energía, completa y equilibrada en sus componentes, pero sobre todo, debe ser adecuada a las circunstancias fisiológicas o fisiopatológicas de la persona que la consume. Su finalidad es la de contribuir a mantener o restituir una buena condición nutricional.

Durante mucho tiempo se consideró al ayuno prolongado como un tratamiento racional en el manejo de la diarrea aguda, sobre todo en el niño. Gracias a diferentes estudios, actualmente se sabe que la actividad enzimática disminuye cuando han ocurrido varios días de ayuno, además de que se origina atrofia de la mucosa intestinal (49, 139).

En la mayoría de las enfermedades diarreicas hay una reducción en la absorción de nutrientes (aunque en algunos casos puede haber diarrea sin alteración de las funciones absorbidas; sin embargo, como regla general, se considera que existe malabsorción cuando hay diarrea (Ver capítulo I).

La malabsorción, aunada al ayuno, en pacientes con síndrome diarreico, contribuye a la desnutrición, sobre todo en infantes y niños pre-escolares de países en vías de desarrollo, ya que en ellos coinciden una alta prevalencia de factores que producen diarrea y una disponibilidad relativamente baja de alimentos nutritivos.

El manejo nutricional del paciente con síndrome diarreico (independientemente de su etiología), tiene como propósito el evitar la instauración o agravamiento de la desnutrición, además de mejorar y acortar el cuadro diarreico.

Knudsen (49), reporta la disminución al 50% de la actividad enzimática de las disacaridasas cuando han ocurrido tres días de ayuno, mencionando también que la realimentación promueve tanto el aumento en el contenido proteico de la mucosa como la actividad de estas enzimas; estas mejorías conllevan a la disminución y

corrección de la malabsorción, teniendo como resultado una mejoría en el cuadro diarreico.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda que se mantenga la alimentación usual de los niños durante la diarrea aguda (98).

El reto actual, consiste en poder recomendar alimentos nutritivos, accesibles localmente y que sean aceptados culturalmente; además de modificar la conducta alimentaria de las madres hacia sus hijos durante los episodios de diarrea.

Un estudio hecho en la comunidad rural Valle de Soils, Estado de México, por el Instituto Nacional de la Nutrición, reveló que el 60% de las madres participantes suprimían la alimentación de sus hijos por considerar que no es bueno que el niño siga comiendo cuando tiene diarrea (98).

Para poder recomendar una conducta alimentaria adecuada para el manejo del paciente con síndrome diarreico, deben considerarse sus costumbres alimentarias antes del episodio. Bajo este criterio los niños se agrupan en tres categorías (171):

a) Niños alimentados al pecho materno:

Es particularmente importante no interrumpir este tipo de lactancia ya que se ha observado que los niños que presentan deshidratación, se hidratan más rápidamente cuando son amamantados.

En el caso de C. jejuni, la frecuencia de sus episodios diarreicos se ve significativamente disminuida en los niños alimentados exclusivamente al seno materno, durante los seis primeros meses de vida. Esta protección, se debe a la presencia, en la leche materna, de células inmunocompetentes, anticuerpos y otros factores inmunológicos no específicos (148).

b) Niños destetados, con la ingesta solamente de alimentos líquidos:

Este grupo, generalmente ingiere grandes cantidades de leche de vaca. La administración de ésta durante los episodios diarreicos, sigue siendo tema de

discusión. En niños con diarrea, es común que se presente intolerancia a la lactosa; misma que puede agravar el cuadro diarreico.

Es recomendable reducir la cantidad de leche o diluirla al 50%, compensando esta reducción con preparaciones líquidas de alimentos locales como son sopas, caldos de pollo y agua o atole de arroz, que son culturalmente aceptados en el medio rural mexicano (98), además de que previenen la deshidratación.

c) Niños que ingieren alimentos líquidos y sólidos:

En este grupo deben tenerse las mismas precauciones en lo que respecta a la ingesta de leche de vaca.

Los alimentos sólidos deben ofrecerse con mayor frecuencia de lo usual y en volúmenes pequeños y muchas veces se deben modificar las proporciones de algunos alimentos en las dietas tradicionales y aumentar su densidad energética mediante la adición de aceite y/o azúcar. En algunos casos también es necesario agregar otras fuentes de proteínas, por ejemplo, alimentos animales, derivados de soya, mezclas vegetales y combinaciones de cereales con leguminosas.

- Antibióticoterapia.

La mayoría de los agentes etiológicos causantes de gastroenteritis aguda, no requieren ningún tratamiento antimicrobiano. Una de las principales desventajas del uso de antibiótico es la prolongación, tanto de la diarrea como del estado de portador. Además de representar un enorme gasto económico que no está justificado en todos los casos. (39, 110).

Los episodios diarreicos que cursan con sangre y moco en las evacuaciones (disentería) son los únicos que ameritan la prescripción de antibióticos, ya que los casos que no presentan estos signos se autolimitan, curándose en menos de una semana (91, 56).

Para elegir correctamente el antimicrobiano que se va a administrar, debe llevarse a cabo la identificación previa del agente etiológico.

En el caso de pacientes con disentería aguda debida a C. jejuni, la eritromicina es el antibiótico de elección, pues se ha observado que acorta su tiempo de excreción en las heces, de 10 días a uno (133). Sin embargo, no acorta el tiempo de duración de la diarrea cuando se administra 4 o más días después de haber aparecido los síntomas (110, 151).

Salazar y col (151), reportan que la administración inmediata a la aparición de los síndromes de una suspensión de eritromicina (50 mg/kg/día), durante cinco días, disminuye tanto la duración de la diarrea como el período de excreción fecal del microorganismo.

La efectividad de la eritromicina en el tratamiento del síndrome diarreico debido a C. jejuni, no se ve disminuida por la presencia de infecciones mixtas con otros enteropatógenos.

En lo que respecta a Y. enterocolitica, se ha observado que tiene un patrón más o menos constante de sensibilidad a la eritromicina, sulfonamidas y ampicilina, siendo éstos los antibióticos de elección para el tratamiento de gastroenteritis aguda con evacuaciones sanguinolentas.

En los pacientes gravemente enfermos, que usan con frecuencia el tiamfenicol, cloramfenicol, gentamicina y tetraciclina, que aunque aún no se ha establecido formalmente cuál es la droga más efectiva en estos casos, se sabe que las últimas funcionan aceptablemente. (60).

Es importante considerar que generalmente las gastroenteritis agudas causadas por Y. enterocolitica, se autolimitan y no requieren de tratamiento antimicrobiano (72).

Las diarreas asociadas a Y. parahaemolyticus se comportan de manera similar, en cuanto al uso de antibióticos y al tiempo de desarrollo, que las de los otros dos agentes estudiados. Se ha observado que este microorganismo es muy sensible al bactrim y a la doxiciclina; sin embargo, no se tienen suficientes estudios clínicos controlados para poder recomendar un antibiótico de elección (121).

## V. DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO

### - Aislamiento.

Como se ha mencionado a lo largo de este trabajo, en los países latinoamericanos, no se incluye la búsqueda de estos agentes etiológicos en los coprocultivos de rutina. Sin embargo, la metodología adecuada para lograr su aislamiento, es ya conocida en muchos de estos países, empleándose en estudios de investigación o en contados laboratorios.

En el caso de Y. enterocolitica se aísla frecuentemente en los países industrializados, sobre todo en las zonas endémicas como Suecia, Finlandia y Bélgica (85, 173).

Y. parahaemolyticus es un agente muy frecuente en el Japón, de manera, que su búsqueda en los casos de gastroenteritis se efectúa desde hace largo tiempo.

C. jejuni, es un agente que se busca con frecuencia en los Estados Unidos y Canadá teniendo cada día mayor interés en nuestro país.

A continuación se mencionan las técnicas de cultivo más usuales para el aislamiento de estos tres agentes.

### - C. jejuni.

- Recolección de la muestra: La técnica usada depende de la edad del paciente.

En pacientes pediátricos, es frecuente el uso de hisopos o cucharillas de vidrio, previamente esterilizados, a fin de provocar la defecación en el momento de la toma (47, 54, 183).

Las muestras, generalmente se inoculan directamente sobre las placas de medio de Skirrow o Campy-BAP en un lapso no mayor a tres horas desde su emisión (41).

En adultos, la muestra se toma en frascos estériles, que se mantienen cerrados y en refrigeración hasta su procesamiento.

- Medios: Los medios de cultivo que se usan con mayor frecuencia son el medio de Skirrow y el de Campy-BAP adicionado de antibióticos (41, 47, 54, 112, 166, 183).

(Para ver su composición ver el capítulo II).

- Condiciones de cultivo:

Temperatura:	42°C
Tiempo de incubación	48 horas
Atmósfera:	Se incuba en una jarra Gas- Pak de la que se evacúan las 2/3 partes del aire, reemplazándolas con CO <sub>2</sub> . Otra opción, es el uso de sobres CampyPak II (54).

- Y. enterocolitica.

- Recolección de la muestra: En pacientes pediátricos, la muestra se toma con hisopos estériles los cuales se depositan en el medio Cary Blair fresco, cuando requieren ser transportados a otro sitio (117, 162).

En adultos, las muestras se recolectan en recipientes estériles, que se mantienen en refrigeración hasta su procesamiento.

- Medios: Los medios más usados son MacConkey, ENDO (el cual rinde excelentes resultados), SS y EMB que presentan a menudo resultados variables, favoreciendo el crecimiento de los serotipos O:3 y O:9, pero inhibiendo el crecimiento de otros que sí desarrollan en MacConkey (16, 117, 162).

El medio de elección para el aislamiento de esta bacteria es el agar cefsoludín-irgasan-novobiocina (CIN).

- Condiciones de cultivo.

Temperatura:	Se puede incubar a 22°C, 25°C o 37°C, siendo la última temperatura la más frecuente. Se obtiene un crecimiento
--------------	--

óptimo, cuando se realiza el enriquecimiento de la muestra en un amortiguador de fosfato 0.067M y pH= 7.6, a 4°C durante 4 semanas (79).

**Tiempo de incubación:**

Las colonias se desarrollan muy lentamente a cualquiera de las temperaturas mencionadas. A 37°C, se observa crecimiento a las 48 hrs.

**- V. parahaemolyticus**

- **Recolección de la muestra:** El diagnóstico de la gastroenteritis debida a V. parahaemolyticus, requiere el aislamiento de este microorganismo a partir de las heces o muestras de vómito, así como de alimentos que se sospeche contengan al microorganismo.

Las muestras de heces pueden ser deposiciones recientemente emitidas, o bien, tomarse mediante hisopos. En caso de no procesarse inmediatamente deben colocarse en medio de transporte de Cary Blair o agua peptonada; las muestras de alimentos, se recolectan en frascos estériles (124).

- **Medios:** pueden usarse un buen número de los que se emplean en forma rutinaria, si se encuentran suplementados con 2 a 5% de NaCl.

El medio de elección para su aislamiento es el agar TCBS, que es un medio selectivo que inhibe un gran número de especies bacterianas de la flora fecal, debido a que contiene sales biliares y citrato de sodio, además de tener un pH alcalino cercano a 8.6.

**- Condiciones de cultivo:**

Temperatura:	37°C
Tiempo de incubación:	24 hrs.

- Identificación.

- C. jejuni.

- Tipificación de las colonias: Son húmedas, poco convexas, mucoides, formando a menudo grandes masas de crecimiento confluyente. El aislamiento de pequeñas colonias, se logra en medios con alta concentración de agar (165).

- Identificación microscópica: La observación se puede llevar a cabo mediante una tinción de Gram a partir de colonias aisladas, o bien directamente de las deposiciones diarreicas recientes (no más de dos horas de haberse emitido), con microscopia de contraste de fases. (57).

En este último caso, se observan bacilos curvos muy móviles (20, 112). Esta técnica permite realizar un diagnóstico presuntivo, sobre todo en la etapa aguda de la enfermedad.

- Identificación bioquímica: Las pruebas más significativas para la identificación de este microorganismo son: resistencia a 30µg de ácido nalidíxico, producción de H<sub>2</sub>S captada en papel con acetato de plomo, fermentación de la glucosa, reducción de nitratos a nitritos, hidrólisis del hipurato, catalasa y oxidasa (95, 130).

- Identificación serológica: Figueroa y col (42) reportaron que, mediante la utilización de la técnica de ELISA, se pudieron detectar anticuerpos anti C.-jejuni en el suero de niños chilenos que habían sufrido gastroenteritis por este agente.

Los niveles séricos de anticuerpos decrecieron a medida que los síntomas clínicos desaparecían. Este hallazgo es una evidencia de que la medición de los niveles de anticuerpos anti C.-jejuni, puede ser un método rápido de detectar la enfermedad por C. jejuni. (63, 99, 100, 140).

- Y. enterocolitica.

- Tipificación de las colonias: Este microorganismo tiene la capacidad de crecer en casi todos los medios usados para enterobacterias; produciendo colonias pequeñas, indiferenciables de las de otras bacterias intestinales.

Sóloamente las colonias obtenidas en el medio CIN, presentan una morfología característica, útil en la identificación presuntiva de esta bacteria. En este medio, Y. enterocolitica produce colonias de 0.5 a 1 mm de diámetro, con un centro de color rojo oscuro y bordes transparentes, con la apariencia de un "ojo de toro" (16).

Los microorganismos como Serratia liquefaciens, Citrobacter freundii y Enterobacter agglomerans, que pueden crecer en el medio de CIN, se diferencian por dar colonias más grandes (>2 mm de diámetro) con un centro rosado difuso y un halo opaco. Las pruebas bioquímicas contribuyen a su diferenciación (11).

Uno de los primeros indicios de la presencia de esta bacteria en el cultivo primario de las heces, es el olor característico a papas o col que tienen sus colonias (25).

- Identificación microscópica: Esta observación se realiza, principalmente, de las colonias con morfología característica obtenidas en el medio de CIN.

Y. enterocolitica es un microorganismo relativamente grande, Gram-negativo, no esporulado, que presenta un gran pleomorfismo, llegando a adoptar la forma de coccobacilo.

A 37°C no se observa movilidad, sin embargo, a 22°C las células desarrollan flagelos peritricos y se comienza a observar movilidad.

- Identificación bioquímica: Y. enterocolitica es un microorganismo no fermentador de la lactosa, pero que a 37°C fermenta la glucosa, xilosa, manitol, maltosa, arabinosa, galactosa, levulosa, manosa y sorbitol; además de ser catalasa positivo y presentar la descarboxilación de la ornitina y la urea, además de presentar reacciones negativas para la oxidasa, hidrólisis de la gelatina, descarboxilación de la lisina y para la deshidrolasa de la arginina (173).

- Identificación serológica: La infección por Y. enterocolitica también puede diagnosticarse por la titulación de los anticuerpos en el suero del paciente.

Las técnicas usadas para su medición, incluyen la aglutinación en tubo y placa, hemaglutinación indirecta, ELISA, radioinmunoensayo en fase sólida y técnicas de inmunofluorescencia indirecta (16).

La aglutinación en placa, es la técnica más usada en las determinaciones de rutina, mediante ella, se han podido determinar los serotipos potencialmente patógenos para el humano, que son el O:3, O:5, 27, O:8, O:9 y O:13. De éstos, el O:3 y el O:9, son los más comunes en Europa, mientras que, en los Estados Unidos, el serotipo O:8 es el más común (16, 79, 173).

Los títulos séricos de anticuerpos de 1:160, teniendo como límite inferior 1:100, se relacionan siempre con la evidencia clínica de yersiniosis. Debe considerarse que en las muestras tomadas en los 6 primeros días de la enfermedad, no se encuentra títulos significativos de anticuerpos, por lo que la muestra debe tomarse entre la tercera y cuarta semana después de haber iniciado los síntomas (87, 173).

La existencia de reacción cruzada entre Y. enterocolitica O:9, Brucella, Vibria y Salmonella, puede producir falsos positivos, sobre todo en niños menores de un año de edad (79, 156, 158).

- Y. parahaemolyticus.

- Tipificación de las colonias: La morfología de las colonias desarrolladas en el medio TCBS, es lo que aporta mayor información al diagnóstico.

En este medio se pueden diferenciar las colonias de Y. parahaemolyticus de las de otros vibrios, pues al no fermentar la sacarosa, no producen virre del indicador, obteniéndose colonias azules o azul-verdosas (124).

- Identificación microscópica: La observación bajo microscopía de luz de las colonias características de Y. parahaemolyticus, revela la presencia de bacilos Gram-negativos, rectos, en ocasiones curvos y pleomórficos.

- Identificación bioquímica: Este microorganismo produce las enzimas catalasa y citocromo oxidasa, es negativo para la prueba de Voges-Proskauer; también fermentan

la galactosa, levulosa, maltosa, manitol, manosa, ribosa y trehalosa. En contraste, no fermenta adonitol, dulcitol, eritritol, lactosa, rafinosa y sacarosa (124).

Recasen (143) propone que para la identificación de este microorganismo, es suficiente con la inclusión de agar TCBS y un pequeño grupo de pruebas bioquímicas que comprende la prueba de oxidasa, el agar hierro de Kligler, sacarosa, fenilalanina, lisina descarboxilasa y citrato, que son suficientes para diferenciar a V. parahaemolyticus de Pseudomonas.

- Identificación serológica: La literatura internacional no reporta métodos diagnósticos para la medición de anticuerpos séricos anti - V. parahaemolyticus .

Braker y col en 1974 (6) reportan que, aunque no se hace de manera rutinaria, las cepas aisladas pueden tipificarse con suero somáticos anti - específicos de manera que se han reconocido 11 grupos 0 y 25 tipos K.

## COMENTARIO

El conocimiento de las funciones del tracto gastrointestinal en condiciones no patológicas, permite reconocer con mayor precisión las alteraciones que se presentan durante la enfermedad diarreica; de manera que éstas puedan corregirse con mayor facilidad, además de poder prevenir complicaciones, como la desnutrición, deshidratación y agravamiento de la diarrea, que pudieran conducir a la muerte.

Los agentes causales más frecuentes de diarrea infantil en los países Latinoamericanos, incluyendo a México, son bacterias, debido a las condiciones climatológicas (clima templado y húmedo en gran parte de nuestro territorio), socio-económicas y de hábitos higiénicos, que facilitan el desarrollo y transmisión de bacterias, mientras que en los países desarrollados, que tienen climas fríos y condiciones de vida más elevadas, corresponde la mayor frecuencia a agentes virales (184).

A partir de la década de los 70, el interés por identificar a los agentes etiológicos de las enfermedades diarreicas se ha visto incrementado gracias al apoyo que la OMS ha brindado a diversos estudios de investigación encaminados a descubrir nuevos agentes y las propiedades generales de los mismos. Y. enterocolitica, V. parahaemolyticus y C. jejuni, entre otros microorganismos, se han mencionado como los más recientes agentes etiológicos del síndrome diarreico, cuya frecuencia real en los países Latinoamericanos no se conoce todavía.

Además de conocer la frecuencia que presentan, es importante poder describir sus características taxonómicas, fisiológicas, químicas y su patogénesis, que permiten diseñar metodologías para su aislamiento e identificación. Estos tres microorganismos crecen en medios selectivos, lo que complica su aislamiento, puesto que no se manejan en la mayoría de los laboratorios de rutina; además de que Y. enterocolitica requiere de una larga preincubación a 4°C y C. jejuni una atmósfera de incubación con 10% de CO<sub>2</sub> y a 42°C, factores que contribuyen más a su baja frecuencia de aislamiento.

En cuanto al conocimiento de los factores y mecanismos de patogenicidad, Y. enterocolitica es el más estudiado de los tres. Varios estudios revelan que dichos factores están contenidos en plásmidos que se expresan dependiendo de la temperatura, al igual que muchos factores bioquímicos que se utilizan en su

Identificación, por lo cual, es muy importante el control adecuado de la temperatura a la que se llevan a cabo las pruebas bioquímicas de identificación.

Todos estos factores se considera que son los que han influido para que en los países Latinoamericanos no se conozca la frecuencia real de estos microorganismos.

En los países industrializados se conocen con mayor precisión su frecuencia, los vehículos de transmisión y fuentes de contaminación. Numerosos brotes epidémicos debidos a C. jejuni y Y. enterocolitica, se asocian al consumo de agua y leche contaminadas. En el caso de Y. parahaemolyticus, la aparición de la enfermedad diarreica se asocia a la ingesta de mariscos crudos o insuficientemente cocidos; este factor causa que Y. parahaemolyticus sea mucho más frecuente en países consumidores de mariscos y pescado como Japón.

La enfermedad diarreica que estas tres bacterias causan se considera como moderada y autolimitante, por lo que no requiere de antibióticos.

C. jejuni es el que presenta las complicaciones más graves, como el síndrome de Guillain-Barré y la artritis autoinmune, que también se presenta en las gastroenteritis por Y. enterocolitica; además de un cuadro de pseudoapendicitis que muchas veces conduce a la intervención quirúrgica.

La deshidratación moderada a grave, es la complicación más relevante de las gastroenteritis por Y. parahaemolyticus, no obstante que ésta es la complicación que más frecuentemente se presenta en la diarrea causada por cualquier microorganismo, representando la principal causa de muerte en niños menores de cinco años. Para evitar, tanto ésta en su forma grave, como sus consecuencias, se han establecido planes de tratamiento a base de soluciones de rehidratación; constituidas por electrolitos y glucosa, ya que ésta última promueve la absorción de agua y electrolitos al interior de la célula.

Las tendencias actuales en el tratamiento de la diarrea, tratan de evitar el uso indiscriminado de antibióticos, puesto que estos sólo están indicados en la diarrea que cursa con sangre, y aún en ésta deben administrarse únicamente durante algunas fases de la enfermedad; como en el caso de la eritromicina en el tratamiento de la gastroenteritis por C. jejuni.

**El uso de la TRO y la continuación de la alimentación durante la diarrea, son las estrategias actuales a seguir; esta última disposición evita la instauración o agravamiento de la desnutrición. Sin embargo, en algunos casos la diarrea puede agravarse, específicamente cuando existe en el paciente, intolerancia a la lactosa.**

**La reeducación alimentaria de las madres es uno de los retos más difíciles, puesto que casi en cualquier caso, al comenzar la diarrea, interrumpen de inmediato la alimentación, lo cual implica un riesgo severo para el niño al agudizar la desnutrición.**

## CONCLUSIONES

- 1.- Y. enterocolitica, Y. parahaemolyticus y C. jejuni, se reconocen actualmente como nuevos agentes etiológicos del síndrome diarreico en todo el mundo.
2. La frecuencia de aislamiento de C. jejuni en pacientes con síndrome diarreico en América Latina, es similar a la observada para Salmonella y Shigella y es más frecuente en los niños pequeños hasta de cinco años, disminuyendo el índice de aislamiento conforme aumenta la edad.
3. Y. enterocolitica se aísla con menor frecuencia que C. jejuni en América Latina y con una alta frecuencia en Europa, Canadá y Estados Unidos; siendo Suecia, Finlandia y Bélgica zonas endémicas.
4. Y. parahaemolyticus se aísla con baja frecuencia, con respecto a los otros dos agentes etiológicos, en América Latina, y con una alta frecuencia en el Japón.
5. Los datos actuales no permiten estimar con precisión la frecuencia real de estos microorganismos en América Latina, sin embargo, los hallazgos indican la necesidad de incluir su búsqueda en los estudios de rutina.
6. El aislamiento de estos agentes requiere de medios de cultivo selectivos y de condiciones de incubación específicas -con lo que no se cuenta en todos los laboratorios- lo que ha ocasionado una baja frecuencia de aislamiento.
7. La enfermedad diarreica causada por estos tres agentes etiológicos se considera como moderada y autolimitante.
8. Las tendencias actuales en el manejo del paciente con enfermedad diarreica incluyen la terapia de hidratación oral y la continuación de la alimentación.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abbott S., Powers C., Kaysner C., Takeda Y., Ishibashi M., Joseph S.W. and Janda J.M. "Emergence of a restricted bioserovar of V. parahaemolyticus as the predominant cause of Vibrio-associated gastroenteritis on the west coast of the United States and Mexico" J. Clin. Microbiol. 27:2891-2893, (1989).
2. Altwegg M., Burnens A., Zollinger-Iten J. and Penner J.L. "Problems in identification of Campylobacter jejuni associated with acquisition of resistance to nalidixic acid". J. Clin. Microbiol. 25:1807-1808, (1987).
3. Ani E.A., Takahashi T. and Shonekan R.A. "Campylobacter jejuni antibodies in nigerian children". J. Clin. Microbiol. 26:605-606, (1988).
4. Aulisio C.G., Stanfield W.E.H. and Seller R.I.J. "Evaluation of virulence factor testing and characteristics of pathogenicity in Yersinia enterocolitica". Infect. Immun. 40:330-335, (1983).
5. Arrieta R. y Cravioto J. "Influencia en la estimulación disponible en el hogar y de la interacción madre-niño sobre la presencia y duración de la -- diarrea en el lactante menor". Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 47:219-226, (1990).
6. Barker W.H. and Gangarosa E.J. "Food poisoning due to Vibrio parahaemolyticus". Bact. Dis. Branch. 7096:75-81, (1974).
7. Baumann P., Furniss A.L. and Lee J.V. "Genus Vibrio" In: BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY. Williams and Wilkins, Co Baltimore, (1984).
8. Bell J.A. and Manning D.D. "A domestic ferret model of immunity to Campylobacter jejuni induced enteric disease" Infect Immun 58:1848-1852, (1990).
9. Benitez O., Uribe F., Navarro A., Hernández D., Ruíz J. y Cravioto A. "Etiología de la diarrea con sangre en niños de una comunidad rural". Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 48:65-70, (1991).

- 10 Berche P.A. and Carter P.B. "Calcium requirement and virulence of Yersinia enterocolitica". J. Med. Microbiol. 15:277-284, (1982).
- 11 Bercovier H. and Mollaret H.H. "Yersinia". In: BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY. Williams and Wilkins, Co. Baltimore, (1984).
- 12 Bergstrand C.G. and Winblad S. "Clinical manifestation of infection with - Yersinia enterocolitica in children" Acta Paediatr. Scand. 63:875-877, (1974).
- 13 Birkhead G., Vogt R.L., Heun E., Evalth C.M. and Patton C.M. "A multiple-strain outbreak of Campylobacter enteritis due to consumption of inadequately pasteurized milk". J. Infect. Dis. 157:1095-1097, (1988).
- 14 Bissett M.L., Powers C., Abbott S.L. and Janda J.M. "Epidemiologic investigation of Yersinia enterocolitica and related species: Sources, frequency - and serogroup distribution" J. Clin. Microbiol. 28:910-912, (1990).
- 15 Black R.E. and Slame S. "Yersinia enterocolitica" Infect. Dis. Clin. Nor.- Am. 2:625-641, (1988).
- 16 Black R.E., Jackson R.J., Tsai T., Meduesky M., Shayegani M., Feeley J.C., Macleod K.J.E. and Waketee A.H. "Epidemic Yersinia enterocolitica infection due to contaminated chocolate milk" N. Engl. J. Med. 12:76-79, (1978).
- 17 Blaser M.J., La Force F.M., Wilson N.A. and Lan Lou W.W. "Reservoirs for - human campylobacteriosis". J. Infect. Dis. 141:665-669, (1980).
- 18 Blaser M.J., Black R.E. and Duncan D.J. "Campylobacter jejuni-specific serum antibodies are elevated in healthy Bangladesh children" J. Clin. Microbiol. 21:164-167, (1985).
- 19 Blaser M.J. and Reller B.L. "Campylobacter enteritis" N. Engl. J. Med. 10: 1444-1452, (1981).

- 20 Bocanegra F.A., Mercado P.E. and Saldaña W.H. "Vibrio parahaemolyticus: Presencia en ambientes y mixohalinos de la provincia de Trujillo, Peru". Rev. Lat-amer. Microbiol. 23:135-140, (1981).
- 21 Boden G. "Hormonas gastrointestinales" en ENDOCRINOLOGIA Y METABOLISMO. Feling P. McGraw-Hill. Mexico, (1983).
- 22 Bokkenheuser V.D., Richardson N.J., Bryner J.H. and Roux D.J. "Detection of enteric campylobacteriosis in children" J Clin. Microbiol. 9:227-232, (1979).
- 23 Bolen J.L., Zamiska S.A. and Greenough W.B. "Clinical features in enteritis due to Vibrio parahaemolyticus" Am. J. Med. 57:638-641, (1974).
- 24 Bölin I., Norlander L. and Wolf-Watz H. "Temperature-inducible outer membrane protein of Yersinia pseudotuberculosis and Yersinia enterocolitica is associated with virulence plasmid" Infect. Immun. 37:506-512, (1982).
- 25 Borrone E.J. and Robin T. "Yersinia enterocolitica: Recovery and characterization of two unusual isolates from a case of acute enteritis". J. Clin. Microbiol. 5:341-345, (1977).
- 26 Cafferkey M.T., McClean K. and Drumm D.E. "Production of bacteriocine-like antagonism by clinical isolates of Yersinia enterocolitica". J. Clin. Microbiol. 27:677-680, (1989).
- 27 Calva E., Torres J., Vázquez M., Angeles V., De la Vega H. and Ruíz-Palacios G.M. "Campylobacter jejuni, chromosomal sequence that hybridize to V. cholerae and E. coli LT enterotoxin genes" Gene 75:243-251, (1989).
- 28 Calva J.J., Ruíz-Palacios G.M., López-Vidal A.B., Ramos A. and Bojalil R. "Cohort study of intestinal infection with Campylobacter in Mexican children. Lancet 5:503-508, (1988).
- 29 Cervantes L.E., Calva J.J. and Ruíz-Palacios G.M. "The assessment of virulence factor for the definition of pathogenic strains in Campylobacter diarrhea". In: CAMPYLOBACTER V. Ruíz-Palacios G.M. (En prensa).

- 30 Chan F.T.H. and Mackende M.R. "Enrichment medium and control system for isolation of Campylobacter fetus subsp jejuni from stools". J. Clin. Microbiol. 15:12-15, (1982).
- 31 Daikoku T., Suzuki S., Oka S. and Takama T. "Profiles of enterotoxin and cytotoxin production in Campylobacter jejuni and Campylobacter coli". Microbiol. Letter 58:33-36, (1988).
- 32 De Bont B., Matthews N., Abbott K. and Davidson G.P. "Guillain-Barré syndrome associated with Campylobacter enteritis in a child". J. Pediatrics 109:660-662, (1986).
- 33 De Melo M., Gabbiani G. and Pechère J.C. "Cellular events and intracellular survival of Campylobacter jejuni during infection of HEp-2 cells". Infect. Immun. 57:2214-2222, (1989).
- 34 Derclaye I., Delor I., Van Bouchate M. and Moreau P. "Identification of Campylobacter jejuni and C. coli by gel electrophoresis of outer membrane proteins". J. Clin. Microbiol. 27:1072-1076, (1989).
- 35 Devenish J.A. and Schiemann D.A. "HeLa cell by Yersinia enterocolitica: Evidence for lack intracellular multiplication and development of a new procedure for quantitative expression of infectivity" Infect. Immun. 32:48-55, (1981).
- 36 Díaz J.T.R., Urra E. and Moriyón I. "Analysis by coagglutination of the distribution of a 24,000 dalton surface protein in Yersinia isolates". J. Clin. Microbiol. 23:804-805, (1986).
- 37 Doyle M.P. "Foodborne illness Pathogenic Escherichia coli, Yersinia enterocolitica and Vibrio parahaemolyticus" Lancet 336:1111-1115, (1990).
- 38 Duffau G., Lagos R., García J.M. y Maldonado A. "Campylobacter fetus subespecie jejuni en lactantes con síndrome diarreico agudo" Rev. Chil. Pediatr. 53:205-207, (1982).
- 39 Dupont H.L., Ericson C.D., Reves R.R. and Galindo E. "Antimicrobial therapy for traveler's diarrhea". Rev. Infect. Dis. 8:5217-5221, (1986).

- 40 Fantasia M., Mingrove M.G., Crotti D and Boscato C. "Isolation of Yersinia enterocolitica biotype 4 serotype 03 from canine source in Italy". J. Clin. Microbiol. 22:314-315, (1985).
- 41 Farmer J.J., Hickman-Brenner F.W. and Kelly M.T. "Vibrio". In: MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY Lenette E.H., Balows A. and Hausler W.S. Fourth Edition. American Society for Microbiology. Washington, (1985).
- 42 Figueroa G., Galeno H., Troncoso M., Toledo S. and Soto V. "Prospective study of Campylobacter jejuni infection in Chilean infants evaluated by culture and serology". J. Clin. Microbiol. 27:1040-1044, (1989).
- 43 Figura N. and Gugliemetti P. "Clinical characteristic of Campylobacter jejuni and C. coli enteritis". Lancet 23:942-943, (1988).
- 44 Fletcher K.M., Morris C.M. and Noble M.A. "Human coproantibody secretory immunoglobulin A response to Yersinia species". J. Clin. Microbiol. 26:281-292, (1988).
- 45 Flores-Solorio S.G., Vázquez-Alvarado V. y Moreno A.L. "Campylobacter como agente etiológico de diarrea en niños" Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 40:315-319, (1983).
- 46 Franco M.J. y Flores O.J. "Prevalencia de Vibrio parahaemolyticus en alimentos marinos de restaurantes de la ciudad de Mérida, Yucatán". Salud Pública de México 31:314-323, (1989).
- 47 Fujino S., Umeda A., Takada A., Murata K. and Amako K. "Hexagonal surface -- layer of Campylobacter fetus isolated from humans" Infect. Immun. 57:2563-2565, (1989).
- 48 Fukushima H., Nakamura R., Iitsuka S., Tsubokura M., Otsuki K. and Yawaoka Y. "Perspective systematic study of Yersinia spp. in dogs" J. Clin. Microbiol. 19:616-622, (1984).

- 49 García A.J.A. "Intolerancia transitoria a la lactosa en niños con diarrea aguda. En: PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS DIARREAS. S.S.A., O.S.P. y U.N.I.C.E.F México, (1990).
- 50 Gemski P., Lazere J.R. and Cassey T. "Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of Yersinia enterocolitica" Infect. Immun. 27:682-685, (1980).
- 51 Greenwood J.R., Flanigan S.M., Pickett M.J. and Martin W.J. "Clinical isolation of Yersinia enterocolitica cold temperature enrichment" J. Clin. Microbiol. 2:559-560, (1975)
- 52 Greenwood M. and Hooper W.L. "Human carriage of Yersinia spp." J. Med Microbiol. 23:345-348, (1987).
- 53 Guderian R.H., Ordoñez R.G. y Bossano R.R. "Diarrea aguda asociada a Campylobacter y otros agentes patógenos en Quito, Ecuador" Rev. Of. Sanit Pan-am. 102:333-338, (1987).
- 54 Guerrant R.L., Lahita R.G., Winn W. and Roberts R. "Campylobacteriosis in man: Pathogenic mechanisms and review of 91 bloodstream infections" Am. J. Med. 65:584-592, (1978).
- 55 Gutman L.T., Ottensen E.A., Quan T.J., Noce P.S. and Katz S.L. "An inter-familial outbreak of Yersinia enterocolitica enteritis" N. Engl. J. Med. 288:1372-1377, (1973).
- 56 Gutierrez G., Martínez M.C., Guisasafré H. y Gómez G. "Encuesta sobre el uso de antimicrobianos y de hidratación oral en la diarrea infecciosa aguda en el medio rural mexicano" Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 44:582-588, (1987).
- 57 Hodge D.S., Prescott J.F. and Shewen P.E. "Direct immunofluorescence microscopy for rapid screening of Campylobacter enteritis" Clin. Microbiol. 24:863-865, (1986).
- 58 Hudson P.J., Vogt R.L., Brondum J. and Patton C.M. "Isolation of Campylobacter jejuni from milk during an outbreak of campylobacteriosis" J. Infect. Dis. 150:789, (1984).

- 59 Hughes R. T., Keidan J., Janmohamed R. and Leyland M. J. "Yersinia and iron". Lancet 1H:929, (1987).
- 60 Jiménez V.M., Ruiz B.A. and Ramos C.A. "Inhibition of beta-lactamases from Yersinia enterocolitica by plants extracts" J. Antimicrob. Chemother. 19: 31-37, (1987).
- 61 Johnson D.E., Weinberg L., Ciarkowski J., West P. and Colwell R.R. "Wound infection caused by Kanagawa-negative Vibrio parahaemolyticus". J. Clin. Microbiol. 20:811-812, (1984)
- 62 Johnson W. H. and Lior H. "Toxins produced by Campylobacter jejuni and Campylobacter coli". Lancet 28:229-230, (1984)
- 63 Jones D.M., Eldridge J.A. and Dale B. "Serological response to Campylobacter jejuni/coli infection" J. Clin. Pathol. 33:767-769, (1980)
- 64 Kapelmacher E.H. and Van Noorle J.L.M. "A survival of the occurrence of Vibrio parahaemolyticus and Vibrio alginolyticus on mussels and oysters and estuarine waters in the Netherlands" J. Appl. Bact. 35:431-438, (1972).
- 65 Kapelmacher E.H., Mossel D.A.A., Van Noorle J.L.M. and Vincentie H. "A survey on the occurrence of Vibrio parahaemolyticus on fish and shellfish, marketed in Netherlands" J. Hyg. Camb. 68:189-194, (1970).
- 66 Kandolo K. and Wauters G. "Pyrazinamidase activity in Yersinia enterocolitica and related organisms" J. Clin. Microbiol. 21:980-982, (1985).
- 67 Kaneko S. and Muruyama T. "Pathogenicity of Yersinia enterocolitica serotype 03 biotype 3 strains". J. Clin. Microbiol. 25:454-455, (1987).
- 68 Kaneko S. and Muruyama T. "Evaluation of enzyme immunoassay for the detection of pathogenic Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis strains". J. Clin. Microbiol. 27:74B-751, (1989)
- 69 Kaplan R.L., Goodman L.J., Barrett J.E., Trenholme G.M. and Landau G.M. "Comparison of rectal swabs and stool culture in detecting Campylobacter fetus subsp. jejuni" J. Clin. Microbiol. 15:959-960, (1982).

- 70 Kapperud, G. and Lassen J. "Relationship of virulence-associated autoagglutination to hemagglutinin production in Yersinia enterocolitica-like bacteria". Infect. Immun. 42:163-169, (1983).
- 71 Karmali M.A. and Tan Y.C. "Neonatal Campylobacter enteritis". C. M. A. J. 122:192-193, (1980).
- 72 Karmali M.A. and Fleming P.C. "Campylobacter enteritis in children". J. - Pediatr. 94:527-533, (1979).
- 73 Karunasagar I. "Production of hemolysin by Vibrio parahaemolyticus in a -- chemically defined medium" Appl. Environ. Microbiol. 41:1274-1275, (1981).
- 74 Kay B.A., Wachsmuth K. and Gemski P. "New virulence-associated plasmid in Yersinia enterocolitica". J Clin Microbiol 15:1161-1163, (1982).
- 75 Kelly M.T. and Dan Stroh E.M. "Temporal relationship of Vibrio parahaemolyticus in patients and the environment" J Clin Microbiol. 26: 1754-1756, (1988).
- 76 Kelly M.T. "Temporal relationship of Vibrio parahaemolyticus" J. Clin. Microbiol. 27:1820-1824, (1988).
- 77 Kohl S. "Yersinia enterocolitica infection in children" Pediatr. Clin. -- North Am. 26:433-440, (1979).
- 78 Kohl S., Jacobson J.A. and Nahamias A. "Yersinia enterocolitica infection - in children". J Pediatr. 89:77-76, (1976).
- 79 Korlath J.A., Osterholm, M.T., Judy L.A., Fortang J.C. and Robinson R.A. "A point-source outbreak of campylobacteriosis associated with consumption of raw milk". J Infect. Dis 152-592-596, (1985).
- 80 Kosunen T.U., Kauranen O., Hartio J. and Pitkanen T. "Reactive arthritis -- after Campylobacter jejuni enteritis in patients with HLA-B27". Lancet 14:1312-1313, (1980).
- 81 Kumasawa T. and Kato E. "Survival of Kanagawa-positive strains of Vibrio parahaemolyticus in a brackish-water area" J Hyg Camb. 95:299-307, (1985).

- 82 Kuroki S., Haruta T., Yoshino M., Kobayashi Y., Nukina M. and Nakanishi H. "Guillain-Barré syndrome associated with Campylobacter infection". Pediatr Infect. Dis. J. 10:149-151, (1991).
- 83 Laird W.J. and Cavanaugh D.C. "Correlation of autoagglutination and virulence of Yersiniae". J. Clin. Microbiol. 11:430-432, (1980).
- 84 Leino T., Grantors K., Havia T., Heinonen R., Lampinen M. and Toivanen A. "Yersiniosis as a gastrointestinal disease". Scand. J. Infect. Dis. 19:63-68, (1987).
- 85 Leino R. and Kalliomäki J.L. "Yersiniosis as an intestinal disease". Ann. Internal Med. 81:458-461, (1974).
- 86 Lian C.J. and Pai C.H. "Inhibition of human neutrophil chemiluminescence by plasmid-mediated outer membrane proteins of Yersinia enterocolitica". Infect. Immun. 49:145-151, (1985).
- 87 Lian C.J., Hwang W.S. and Pai C.H. "Plasmid-mediated resistance to phagocytosis in Yersinia enterocolitica". Infect. Immun. 55:1176-1183, (1987).
- 88 Lindblom G.B., Sjögren E. and Kaijer B. "Natural Campylobacter colonization in chickens raised under different environmental conditions". J. Hyg. Camb. 96:385-391, (1986).
- 89 Logan S.M. and Trust T.J. "Outer membrane characteristic of Campylobacter jejuni". Infect. Immun. 38:898-906, (1982).
- 90 Logan S.M. and Trust T.J. "Molecular identification of surface protein antigens of Campylobacter jejuni". Infect. Immun. 42:668-675, (1983).
- 91 Logan S.M. and Trust T.J. "Structural and antigenic heterogeneity of lipopolysaccharides of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli". Infect. Immun. 45:210-216, (1984).
- 92 Maggí L., Martínez J.D., Prado J.V. y Grados O. "Campylobacter jejuni y Campylobacter coli: Marcadores epidemiológicos en cepas aisladas en Santiago". Rev. Med. Chile 116:195-110, (1986).

- 93 Mäki M., Grönroos P. and Vesikari T. "In vitro invasiveness of Yersinia enterocolitica isolated from children with diarrhea" J. Infect. Dis. 138: 677-680, (1978).
- 94 Mäki M., Vesikari T., Rantala I. and Grönroos P. "Yersiniosis in children". Arch. Dis. Chil. 55:861-865, (1980).
- 95 Marks M. I., Pai C. H., LaFleur L., Lackman L. and Hammerberg O. "Yersinia enterocolitica gastroenteritis: A prospective study of clinical, bacteriologic and epidemiologic features" J. Pediatrics 96:26-31, (1980).
- 96 Martin T., Kasian G.F. and Stead S. "Family outbreak of yersiniosis". J. Clin. Microbiol. 16:622-626, (1982).
- 97 Martin P.M., Mathiot J., Ipero J., Kirimat M. and Georges A. J. "Immune response to Campylobacter jejuni and Campylobacter coli in a cohort of children from birth to 2 years of age" Infect. Immun. 57:2542-2546, (1989).
- 98 Martínez S.H. "Alimentos de uso común en la comunidad para el tratamiento de la diarrea". En: PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS DIARREAS. S.S.A., O.P.S. y U.N.I.C.E.F. México, (1990).
- 99 Mathiot J.P., Martin M.V., Ipero J., Kirimat M. and Georges A. J. "Immune response to Campylobacter jejuni" Infect. Immun. 59:2800-2802, (1989).
- 100 Mascart-Lemone F. O., Duchateau J. R., Oasterom J., Butzler J.P. and Delacroix D. L. "Kinetics of anti-Campylobacter jejuni monomeric and polymeric immunoglobulin A1 and A2 responses in serum during acute enteritis" J. Clin. Microbiol. 25:1253-1257, (1987).
- 101 Mawer S.L. and Smith B. A. M. "Campylobacter infection of premature baby". Lancet 12:1041-1042, (1979).
- 102 Mazigh D., Alonso J.M. and Mollaret H. H. "Simple method for demonstration of differential colony morphology of plasmid-associated virulent clones of Yersinia enterocolitica". J. Clin. Microbiol. 17:555-557, (1983).

- 103 McCardell B.A., Madden J.M. and Lee E.C. "Production of cholerae-like enterotoxin by Campylobacter jejuni and Campylobacter coli". Lancet 1:4448-4449, (1989).
- 104 McNaughton R.D., Leyland R. and Mueller "Outbreak of Campylobacter enteritis due to consumption of raw milk" C. M. A. J. 126:657-658, (1982).
- 105 Megraud F. "Yersinia infection and acute abdominal pain". Lancet 16:1147, (1987).
- 106 Mills S.D. and Brodburry W.C. "Human antibody response to outer membrane proteins of Campylobacter jejuni during infection" Infect. Immun. 43:739-743, (1984).
- 107 Mingrone M.G., Fantasia M., Figura N. and Guglielmetti P. "Characteristic of Yersinia enterocolitica isolated from children with diarrhea in Italy". J. Clin. Microbiol. 25:1301-1304, (1987).
- 108 Miyamoto Y., Kato T., Obara Y., Akiyama S., Takizama K. and Yamai S. "In vitro hemolytic characteristic of Vibrio parahaemolyticus: It's close correlation with human pathogenicity". J. Bacteriol. 100:1147-1149, (1969).
- 109 Morales C.M.E., García P.M., Pedroza J.L., D'Amico A., Palacios T.J. y Muñoz O. "Frecuencia de Campylobacter fetus s.s. jejuni y Yersinia enterocolitica en niños con diarrea aguda" Bol. Med. Hosp. Infant. Méx. 41:86-89, (1984).
- 110 Mota H.F. "Abuso de antimicrobianos y otros conceptos erróneos en el tratamiento de diarreas en niños" Bol. Med. Hosp. Infant. Méx. 44:577-579, (1987).
- 111 Mulder B., Michiels T., Simonet M., Sory M.P. and Cornelis G. "Identification of additional virulence determinants on the pYV plasmid of Yersinia enterocolitica W227". Infect. Immun. 57:2534-2541, (1989).
- 112 Newell D.G. and Pearson A. "The invasion of epithelial cell lines and the intestinal epithelium of infant mice by Campylobacter jejuni and Campylobacter coli". Diar. Dis. Res. 2:19-26, (1984).

- 113 Ng F., Mendoza H. y Pimentel R. "Enfermedad diarreica aguda (EDA) asociada a Yersinia enterocolitica". Arch Dom Ped. 24:15-17, (1988).
- 114 Niléhn B. and Sjöström B. "Studies on Yersinia enterocolitica". Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 71:612-628 (1967)
- 115 Noble M.A., Barteluk R.L., Freeman H.J., Subramaniam R. and Hudson J. "Clinical significance of virulence-related of Yersinia species". J. Clin. Microbiol. 25:802-807, (1987).
- 116 Nyström T., Flärdh K. and Kjelleberg S. "Responses to multiple nutrients--starvation in marine Vibrio sp. strain CCUG 15956". J. Bacteriol. 172:7085-7097, (1990).
- 117 Olarte J. "Etiopatogenia de las diarreas infecciosas" Bol. Med. Hosp. Infant. Méx. 42:66-67, (1985).
- 118 Olarte J. "Nuevos agentes patógenos en diarrea aguda". En: PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS DIARREAS. S.S.A., O.P.S. y U.N.I.C.E.F México, (1990).
- 119 O'Loughlin E.V., Humpreys G., Dunn I., Kelly J., Lian C.I., Pai C. and Gail D.G. "Clinical morphological and biochemical alterations in acute intestinal yersiniosis" Peditr. Res. 20:602-608, (1986)
- 120 Organización Panamericana de la Salud  
MANUAL DE TRATAMIENTO DE LA DIARREA.  
Serie Paltex.  
Washington, D.C., (1987).
- 121 Ortíz G.G.  
PATOLOGÍA, DIAGNÓSTICO Y EPIDEMIOLOGÍA DE LAS GASTROENTERITIS DEBIDAS A VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS  
Tesis. Facultad de Química. U.N.A.M.  
México, (1987).
- 122 Pai C., Mors V. and Toma S. "Prevalence of enterotoxigenicity in human and non human isolates of Yersinia enterocolitica". Infect. Immun. 22:334-338, (1978).

- 123 Pai C.H. and Mors V. "Production of enterotoxin by Yersinia enterocolitica". Infect. Immun. 19:908-911, (1978).
- 124 Pai C. and De Stephano L. "Serum resistance associated with virulence in - Yersinia enterocolitica" Infect. Immun. 35:605-611, (1982).
- 125 Pai C.H., Sorgers S., LaFleur L., Lackman L. and Marks M. "Efficacy of cold enrichment techniques for recovery of Yersinia enterocolitica from human - stools". J. Clin. Microbiol. 9:712-715, (1979).
- 126 Palmer S.R., Gully P.R. and White J.M. "Water-borne outbreak of Campylobacter gastroenteritis" Lancet 5:287-290, (1983).
- 127 Parra-Maldonado N.R., Morales-De la Vega A., Rasano-Pérez F. y Landa L. -- Aislamiento de Campylobacter fetus ss jejuni en pacientes adultos con síndrome diarreico". Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 9:108-110, (1980).
- 128 Peffers A.S.R., Bailey J., Barrow G.I. and Hobbs B.C. "Vibrio parahaemolyticus gastroenteritis and international air travel" Lancet 20:143-145, (1973).
- 129 Pei Z. and Blaser M.J. "Pathogenesis of Campylobacter fetus infections". J. Clin. Invest. 85:1036-1046, (1990).
- 130 Penner J.L. "Campylobacter, Helicobacter and related spiral bacteria". In: MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY Balows A., Hausler W.J. and Herrman K.L. 5th Edition. American Society for Microbiology. Washington, D.C., (1991).
- 131 Pérez-Pérez G.I. and Blaser M.J. "Lipopolysaccharide characteristics of pathogenic Campylobacter" Infect. Immun. 47:353-359, (1985).
- 132 Pickering L.K., Evans D.J. and Munoz O. "Prospective study of enteropathogens in children with diarrhea in Houston and Mexico" J. Pediatrics 93:383-388, (1978).

- 133 Pitkäinen T., Petterson T. and Pönkä A. "Effect of erythromycin on the fecal excretion of Campylobacter fetus subsp. jejuni" J. Infect. Dis. 145:128-129, (1982).
- 134 Potter M.E., Blaser M.J., Sikes R.K., Kaufmann A.F. and Wells J. "Human Campylobacter infection associated with certified raw milk". Am. J. Epidemiol. 117:475-483, (1983).
- 135 Prado J.V., Braun J.S., Siri A.M.T., Maramba E.L. y Reyes L. "Escherichia coli enterotoxigénica y Campylobacter jejuni en el síndrome diarreico agudo en lactantes chilenos". Bol. Of. Sanit. Panam 104:51-61, (1988).
- 136 Prescott J.F. and Karmali M.A. "Attempts to transmit Campylobacter enteritis to dogs and cats". C.M.J.A. 119:1001-1002, (1978).
- 137 Pripic J.F., Robins-Browne R.M. and Davey R.B. "Differentiation between virulent and avirulent Yersinia enterocolitica isolates by using congo red - agar". J. Clin. Microbiol. 18:486-490 (1983).
- 138 Rabinovitz M., Stremple J.F., Wells K.E. and Stone B.G. "Yersinia enterocolitica infection complicated by intestinal perforation" Arch. Inter. Med. 147:1662-1663, (1987).
- 139 Ramos G.R. "Alimentación del niño durante y después de la diarrea". En: PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS DIARREAS. S.S.A., O.P.S. y U.N.I.C.E.F. México, (1990).
- 140 Rautelin H. and Kosunen T.V. "Campylobacter etiology in human gastroenteritis demonstrated by antibodies to acid extract antigen" J. Clin. Microbiol. 25:1944-1951, (1987).
- 141 Rautelin H. and Kosunen T.V. "An acid extract, a common antigen in Campylobacter coli and Campylobacter jejuni strains" J. Clin. Microbiol. 17:100-101, (1983).
- 142 Ray B., Hawkins S.M. and Hackney C.R. "Method for the detection of injured Vibrio parahaemolyticus in seafoods" Appl. Envir. Microbiol. 35:1121-1127, (1978).

- 143 Recasen M.E., Peral-López A M y Ruíz-Reyes G. "Aislamiento de Vibrio parahaemolyticus en casos de gastroenteritis por mariscos crudos en la ciudad de Puebla". Rev. Lat-amer. Microbiol. 16:85-88, (1974).
- 144 Riveron-Corteguera R.L. "Distribución de los líquidos orgánicos". En: AVANCES EN ENFERMEDADES DIARREICAS Y DESEQUILIBRIO HIDROELECTROLITICO. Memorias del V Curso Internacional. México, (1990).
- 145 Ruíz-Palacios G.M., Escamilla E, Torres N and Ruíz-Palacios B. "Cholera-like enterotoxin produced by Campylobacter jejuni, characterization and clinical significance". Lancet 2:250-255, (1980).
- 146 Ruíz-Palacios G.M., Torres J., Torres N.I, Escamilla E., Ruíz-Palacios B. and Tamayo J. "Cholera-like enterotoxin produced by Campylobacter jejuni". Lancet 3:250-252, (1983).
- 147 Ruíz-Palacios G.M., Escamilla E and Torres N "Experimental Campylobacter diarrhea in chickens". Infect. Immun. 34:250-255, (1981).
- 148 Ruíz-Palacios G.M., Calva J.J., Pickering L. K., López-Vidal Y., Volkow P., Pezzarossi H. and West M.S. "Protection of breastfed infants against Campylobacter diarrhea by antibodies in human milk" J. Pediatrics 116:707-713, (1990).
- 149 Ruíz-Palacios G.M., López-Vidal Y, Torres J. and Torres N "Serum antibodies to heat-labile enterotoxin of Campylobacter jejuni" J. Infect. Dis. 152:413-416, (1985).
- 150 Ryley G. and Toma S. "Detection of pathogenic Yersinia enterocolitica by using congo red-magnesium oxalate agar medium". J. Clin. Microbiol. 27: 213-214, (1989).
- 151 Salazar-Lindo E., Sack R.B., Chea-Wood E, Kay B A and Piscocoy Z.A. "Early treatment with erythromycin of Campylobacter jejuni-associated dysentery in children". J. Pediatr 109:355-360, (1986)

- 152 Sar N., McCarter L., Simon M. and Silverman M. "Chemotactic control of the two flagellar systems of Vibrio parahaemolyticus". J. Bacteriol. 172:334-341, (1990).
- 153 Scavizzi M., Alonso J.M., Philippon A M., Jupéau-Vassières and Guiyoule A. "a enterocolitica infection". Antimicrob. Agents Chemother. 31:523-526, (1987).
- 154 Schandevyl P., Van Dyck E. and Piot P. "Halophilic Vibrio species from sea-fish in Senegal". Appl. Environ. Microbiol. 48:236-238, (1984).
- 155 Schiemann D.A. "Synthesis of selective agar medium for Yersinia enterocolitica". Can. J. Microbiol. 25:1298-1304. (1979)
- 156 Schoerner C. and Watenberg R M "Differentiation of serological responses to Yersinia enterocolitica serotype O9 and Brucella species by immunoblot - or enzyme-linked immunosorbent assay using whole bacteria and Yersinia - outer membrane proteins" J. Clin. Microbiol. 28:1570-1574, (1990).
- 157 Sepúlveda A.J., Nakamura L.M y Lezana F.M. "Epidemiología de la enfermedad diarreica aguda en México". En: AVANCES EN ENFERMEDADES DIARREICAS Y DESEQUILIBRIO HIDROELECTROLITICO. Memorias del V Curso Internacional México, (1990).
- 158 Sheyegani M., Deforge I., McGlynn M and Root T. "Characteristic of Yersinia enterocolitica and related species isolates from human, animal and environmental sources". J. Clin. Microbiol. 14:304-312, (1981).
- 159 Shirai H., Ito H., Hirayama T., Nakamoto Y and Nakabayashi N. "Molecular epidemiological evidence for association of thermostable direct hemolysin (TDH)-related hemolysin of Vibrio parahaemolyticus with gastroenteritis" Infect. Immun. 58:3568-3573, (1990)
- 160 Smibert R.M. "Campylobacter". In: BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY. Williams and Wilkins Co. Baltimore, (1984).

- 161 Simmonds S.D., Noble M.A. and Freeman H.J. "Gastrointestinal features of - culture-positive Yersinia enterocolitica infection" *Gastroenterology* 92: 112-117, (1987).
- 162 Sjörgen E., Ruiz-Palacios G. and Rajer B. "Campylobacter jejuni isolation from Mexican and Swedish patients, with repeated symptomatic and/or asymptomatic diarrhea episodes" *Epidem. Infect.* 102:41-57, (1989).
- 163 Skirrow M.B. and Benjamin J. "'1001' Campylobacter's cultural characteristics of intestinal Campylobacter from man and animals" *J. Hyg. Camb.* 85: 427-442, (1980).
- 164 Skirrow M.B. "Campylobacter enteritis a "new disease" *Brit. Med. J.* 2:9-11, (1977).
- 165 Smibert R.M. "The genus Campylobacter" *Ann Rev Microbiol.* 32:673-709, (1978).
- 166 Smith M.A., Shah N.R., Lobel J.S. and Hamilton W. "Methemoglobinemia and -- hemolytic anemia associated with Campylobacter jejuni enteritis". *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 10:35-38, (1988)
- 167 Spite G.T., Brown D.F. and Tvedt R.M. "Isolation of an enteropathogenic, - Kanagawa-positive strain of Vibrio parahaemolyticus" *Appl. Environ. Microbiol.* 35:1226-1227, (1978).
- 168 Stocker D.L. and Williams J.G. "Gastroenteritis due to Kanagawa-negative Vibrio parahaemolyticus". *Lancet* 7:331-332, (1987).
- 169 Thompson J.S., Hodge D.S., Smith D.E. and Yong Y.A. "Use of tri-gas incubator for routine culture of Campylobacter species from faecal specimens" *J. Clin. Microbiol.* 28:2802-2803, (1990)
- 170 Toivanen P., Toivanen A., Oikkunen L. and Aantaa S. "Hospital outbreak of Yersinia enterocolitica infection". *Lancet* 14:801-803, (1973).

- 171 Torun B. "Bases fisiológicas y nutricionales para el manejo alimentario durante la diarrea". En:  
PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS DIARREAS.  
S.S.A., O.P.S. y U.N.I.C.E.F.  
México, (1990).
- 172 Vantrappen G., Geboes K. and Ponette E. "Yersinia enteritis". Med. Clin. - North. Am. 66:639-653, (1982).
- 173 Vantrappen G., Ponette E., Geboes K. and Bertrand P. "Yersinia enteritis - and enterocolitis: Gastroenterological aspects" Gastroenterology 72:220-227, (1977).
- 174 Velásquez J.L. "Nuevas soluciones de hidratación oral en diarrea aguda". En:  
PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS DIARREAS  
S.S.A., O.P.S. y U.N.I.C.E.F.  
México, (1990).
- 175 Velásquez J.L. "Bases científicas de la terapia de hidratación oral". En:  
AVANCES EN ENFERMEDADES DIARREICAS Y DESEQUILIBRIO  
HIDROELECTROLITICO.  
Memorias del V Curso Internacional  
México, (1990).
- 176 Vogt R.L., Sours H.E., Berrett T., Feldman R.A., Dickinson R.J. and Whiterell L. "Campylobacter enteritis associated with contaminated water". Ann. Intern. Med. 96:292-296, (1982).
- 177 Wenman W.M., Chai J., Louis T.L., Gaudreau C. and Lior H. "Antigenic analysis of Campylobacter flagellar proteins and other proteins". J. Clin. Microbiol. 21:108-112, (1985).
- 178 West P.A. "The human pathogenic vibrios: A public health update with environmental perspectives". Epidemiol Infect 103:1-34, (1989).
- 179 Winblad S., Nilén B. and Sternby N.H. "Yersinia enterocolitica (Pasteurella X) in human enteric infections" Brit Med. J 2:1363-1366, (1966).

- 180 Winter A.J., McCoy E.C. and Fullmer C.S. "Microcapsule of Campylobacter fetus: Chemical and physical characterization". Infect. Immun. 22:963-971, (1978).
- 181 Wright E.P. and Seager J. "Convulsions associated with Campylobacter enteritis". Brit. Med. J. 9:454, (1980).
- 182 Yamamoto T. "Adherence target of Vibrio parahaemolyticus in human small intestines". Infect. Immun. 57:2410-2419, (1989).
- 183 Yee, W.P., Puthuchary S.D. and Pang T. "Demonstration of cytotoxin production from Campylobacter jejuni". J. Clin. Pathol 36:1237-1244, (1983).
- 184 Zamora C.A. "Etiopatogenia de las gastroenteritis agudas y su importancia para la selección del tratamiento" En: PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS DIARREAS. S.S.A., O.P.S. y U.N.I.C.E.F. México, (1990).
- 185 Zamora C.A., Galindo H.E., Mejía A.M. y Ramírez A.M. "Infección por Campylobacter jejuni en niños" Bol. Med. Hosp. Infant. Méx. 44:155-159, (1987).
- 186 Zink D.L., Feeley J.C. and Wells J.G. "Plasmid-mediated tissue invasiveness in Yersinia enterocolitica". Nature 283:224-226, (1980).