



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**



18
24

**DETERMINAR LA FRECUENCIA DE AISLAMIENTO
E IDENTIFICACION DE LOS AGENTES
ETICLOGICOS QUE CAUSAN DIARREAS AGUDAS
EN ADULTOS EN EL H. G. " DR. MIGUEL SILVA " "
EN MORELIA MICHOACAN.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
MAGNOLIA DOMINGUEZ RODRIGUEZ**

DIRECTOR DE TESIS: Q.F.I. ANDREA BECERRIL OSNAYA

COASESORES: DR. JUAN IGNACIO CARDENAS

Q.F.B. ELDA GABRIELA VAZQUEZ NARVAEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1995

FALLA DE ORIGEN



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).

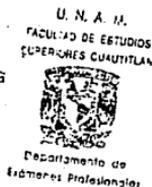
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA LI
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA FES-CUAUTITLAN
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'NI: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
"Determinar la frecuencia de aislamiento e identificación de los agentes etiológicos que causan diarreas agudas en adultos, en el H.G. Dr. Miguel Silva, de Morelia, Micho."

que presenta la pasante: Magnolia Domínguez Rodríguez
con número de cuenta: 8154918-7 para obtener el TÍTULO de:
Química Farmacéutica Biológica

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 03 de Diciembre de 1999

| | | |
|------------------|---|--|
| PRESIDENTE | <u>M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez</u> | |
| VOCAL | <u>Q.F.I. Andrea Becerra Canaya</u> | |
| SECRETARIO | <u>M.V.Z. Luis María Gómez Torres</u> | |
| PRIMER SUPLENTE | <u>M.C. Estela María Rodríguez Rivera</u> | |
| SEGUNDO SUPLENTE | <u>M.C. Marcela Domínguez Torres</u> | |

UAE/DEP/VAF/01

FALLA DE ORIGEN

A mis sobrinos: Adriana, Edgar, Olga M., Yudith, Ma. Fernanda,
Alejandra, Dalia del C., Cynthia N., y Hector M.

A mis cuñados: Ana L., Ma. Luisa, Manuel E., Hector y
Marcos R.

Gracias a la Sra. Natividad, Guadalupe, Ma. del
Pilar y Alejandra K.

Un agradecimiento muy en especial a la O.F.I.
Andrea Becerril Osnaya por sus consejos y su
apoyo.

Gracias a los sinodales.

Un sincero agradecimiento a todo el personal del Laboratorio de Microbiología del Hospital General " Dr. Miguel Silva" de Morelia Mich. por el apoyo brindado para la realización de este trabajo y una especial mención al Dr. Juan Ignacio Cardenas por su asesoría como director de Tesis en el Hospital y a la Q.F.B. Eida Gabriela Vazquez N.

A las Q.F.B. Ana Ma., Marielena, Laura, Sara, Gabriela, Martha y Berenice.

A Margarita y Socorro por su amistad .

A todas aquellas personas que me apoyaron.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Hospital General "Dr. Miguel Silva" de Morelia Mich. bajo la dirección del Dr. Juan Ignacio Cardenas.

INDICE

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 1 |
| I.- INTRODUCCION | 2 |
| 1.1.- Definición de Diarrea | 5 |
| 1.2.- Los Síndromes Diarreicos los podemos Clasificar por la Duración de los Síntomas | 5 |
| 1.3.- Los Principales Síndromes Clasificados por Características Predominantes | 6 |
| 1.4.- Clasificación de la Diarrea Infecciosa Aguda | 7 |
| II.- GENERALIDADES | |
| 2.1.- Disentería Bacilar | 8 |
| 2.1.1.- Antecedentes | 8 |
| 2.1.2.- Agente Infeccioso | 9 |
| 2.1.3.- Taxonomía | 9 |
| 2.1.4.- Patogenicidad | 11 |
| 2.1.5.- Epidemiología | 16 |
| 2.1.6.- Mecanismo de Transmisión | 17 |
| 2.2.- Cólera | 18 |
| 2.2.1.- Antecedentes | 18 |
| 2.2.2.- Agente Infeccioso | 21 |

| | |
|---|----|
| 2.2.3.- Taxonomía | 22 |
| 2.2.4.- Patogenicidad | 24 |
| 2.2.5.- Epidemiología | 28 |
| 2.2.6.- Ecología y Mecanismo de Transmisión | 29 |
| 2.3.- <i>Salmonellosis</i> | 31 |
| 2.3.1.- Antecedentes | 31 |
| 2.3.2.- Agente Infeccioso | 32 |
| 2.3.3.- Taxonomía | 33 |
| 2.3.4.- Patogenicidad | 37 |
| 2.3.5.- Epidemiología | 42 |
| 2.3.6.- Mecanismo de Transmisión | 45 |
| 2.4.- <i>Yersiniosis</i> | 46 |
| 2.4.1.- Antecedentes | 46 |
| 2.4.2.- Agente Infeccioso | 46 |
| 2.4.3.- Taxonomía | 47 |
| 2.4.4.- Patogenicidad | 48 |
| 2.4.5.- Epidemiología | 49 |
| 2.4.6.- Mecanismo de Transmisión | 50 |
| 2.5.- <i>Diarrea del Viajero</i> | 51 |
| 2.5.1.- Antecedentes | 51 |
| 2.5.2.- Agente Infeccioso | 51 |
| 2.5.3.- Taxonomía | 52 |
| 2.5.4.- Patogenicidad | 55 |

| | |
|---|-----|
| 2.5.5.- Epidemiologia | 58 |
| 2.5.6.- Mecanismo de Transmisión | 59 |
| 2.6.- Susceptibilidad a Antimicrobianos por el Método de Kirby-Bauer | 60 |
| III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 63 |
| IV.- OBJETIVOS | 64 |
| V.- MATERIAL Y METODOLOGIA | 65 |
| VI.- RESULTADOS | 79 |
| VII.- DISCUSION | 108 |
| VIII.- CONCLUSION | 113 |
| IX.- COMENTARIOS | 114 |
| X.- BIBLIOGRAFIA | 115 |

INDICE DE TABLAS

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabla 1: | Clasificación de <i>Shigella</i> | 11 |
| Tabla 2: | Serotipos de <i>Vibrio cholerae</i> O1 basado en el Antígeno Somático | 24 |
| Tabla 3: | Comparación de la Nomenclatura del Sistema de Kauffmann-White con el de Ewing para el genero <i>Salmonella</i> | 34 |
| Tabla 4: | Clasificación de <i>Salmonellas</i> según Esquema de Kauffmann-White | 36 |
| Tabla 5: | Especies y Serotipos de <i>Salmonella</i> más frecuentes encontradas en infecciones humanas | 44 |
| Tabla 6: | Serotipos de <i>E.coli</i> causantes de diarrea | 54 |
| Tabla 7: | Limites para el Control de Calidad de las pruebas de Sensibilidad (mm) Limites para la pruebas individuales con el medio de cultivo M.H | 62 |
| Tabla 8: | Medios de Cultivo Selectivos y Diferenciales | 71 |
| Tabla 9: | Distribución de las muestras de acuerdo a los Servicios, de Mayo 93 a Mayo del 94 | 80 |
| Tabla 10: | Distribución de las muestras de acuerdo a la edad de Mayo 93 a Mayo del 94 | 81 |
| Tabla 11: | Distribución de las muestra de acuerdo al sexo, de Mayo 93 a Mayo del 94 | 82 |
| Tabla 12: | Distribución de las muestras de acuerdo al tipo de evacuaciones, de Mayo 93 a Mayo del 94 | 83 |
| Tabla 13: | Distribución de las muestras de acuerdo a los signos, de Mayo 93 a Mayo del 94 | 84 |
| Tabla 14: | Diferenciación de los Agentes Etiológicos aislados mediante pruebas bioquímicas en el periodo de Mayo 93 a Mayo del 94 | 86 |
| Tabla 15: | Agentes Etiologicos aislados y confirmados en Adultos en el H.G. "Dr.Miguel Silva" de Morelia Mich. en el periodo de Mayo 93 a Mayo del 94 | 87 |

| | | |
|-----------|---|-----|
| Tabla 16: | Agentes Etiologicos aislados y confirmados en Adultos con diarrea aguda y otros enteropatógenos, en Mayo 93 a Mayo del 94 | 91 |
| Tabla 17: | Grupos más frecuentes de <i>Salmonellas</i> en el H.G."Dr.Miguel Silva" de Morelia Michoacán, de Mayo 93 a Mayo del 94 | 96 |
| Tabla 18: | Grupos más frecuentes de <i>Shigellas</i> en el H.G."Dr.Miguel Silva" de Morelia Michoacán de Mayo 93 a Mayo del 94 | 97 |
| Tabla 19: | <i>Salmonella</i> aisladas con respecto al sexo | 98 |
| Tabla 20: | <i>Shigella</i> aisladas con respecto al sexo | 99 |
| Tabla 21: | <i>V.cholerae O1</i> con respecto al sexo | 100 |
| Tabla 22: | <i>Salmonella, Shigella</i> y <i>V.cholerae O1</i> con respecto al sexo | 101 |
| Tabla 23: | Sensibilidad de los antimicrobianos de 13 cepas de <i>Shigellas</i> por el Método de Kirby-Bauer | 102 |
| Tabla 24: | Sensibilidad de los antimicrobianos de 10 cepas de <i>Salmonellas</i> por el Método de Kirby-Bauer | 103 |
| Tabla 25: | Sensibilidad de los antimicrobianos de 31 cepas de <i>V.cholerae O1</i> por el Método de Kirby-Bauer | 104 |
| Tabla 26: | Frecuencia de cepas multirresistentes de 23 cepas de <i>Shigellas</i> y <i>Salmonellas</i> | 105 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Clasificación de <i>V.cholerae</i> en Biotipos y Serotipos | 23 |
| Figura 2: Mecanismo de acción de la Toxina Colerica | 27 |
| Figura 3: La manifestación más común de la infección por <i>Salmonella</i> es la Gastroenteritis | 41 |
| Figura 4: Ciclo de Transmisión de las <i>Salmonellas</i> | 45 |
| Figura 5: Esquema de aislamiento e identificación para <i>Salmonella</i> , <i>Y.enterocolitica</i> y <i>Shigella</i> | 72 |
| Figura 6: Esquema de aislamiento e identificación para <i>V.cholerae</i> | 73 |

INDICE DE GRAFICAS

| | |
|---|-----|
| Grafica 1: Muestras procesadas para el aislamiento de enteropatogenos en Adultos con diarrea aguda | 68 |
| Grafica 2: Porcentaje de los agentes etiologicos aislados en Adultos con diarrea de Mayo 93 a Mayo del 94 | 88 |
| Grafica 3: Casos aislados por Mes, en Adultos con diarrea aguda de Mayo 93 a Mayo del 94 | 89 |
| Grafica 4: Edad de presentación de <i>V.cholerae O1</i> | 92 |
| Grafica 5: Edad de presentación de <i>Shigella</i> | 93 |
| Grafica 6: Edad de presentación de <i>Salmonella</i> | 95 |
| Grafica 7: Porcentaje de Resistencia a los antibióticos | 107 |

**ABREVIATURA UTILIZADAS EN EL
PRESENTE TRABAJO**

°C : Grados centrigados
APA : Agua peptonada alcalina
MC: Agar Mac Conkey
EMB: Agar Eosina Azul de Metileno
SS: Agar *Salmonella, Shigella*
ASB: Agar Sulfito de Bismuto
AVB: Agar Verde Brillante
TCBS: Agar Tiosulfato, Citrato, Bilis, Sacarosa
TSI: Triple Azúcar Hierro Agar
LIA: Medio de Lisina Hierro Agar
MIO: Medio de Movilidad, Indol, Ornitina
Arg: Arginina
M.H: Agar Mueller Hinton
AN: Agar Nutritivo
CST: Caldo Soya Triticaseina
Cit: Citrato
Ox: Oxidasa
H₂S: Producción de Acido Sulfhidrico
hr: Horas
min.: Minutos
ml: Mililitros
µm: Micrometros

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el fin de determinar, la frecuencia de los agentes etiológicos responsables de la diarrea aguda en adultos, en el Hospital General "DR.Miguel Silva" de Morelia Michoacan.

Entre Mayo de 1993 a Mayo del 1994, se realizaron 231 Coprocultivos y además de estas 231 muestras a 124 se les realizó búsqueda de *Vibrio* y 107 muestras no adecuadas para *Vibrio*.

Se aislaron y confirmaron bioquímicamente y serológicamente: 13 *Shigellas* y 10 *Salmonellas* de 231 Coprocultivos, y 31 *V.cholerae O1* de 124.

Shigella 13(5.63%) que correspondieron a 8 *S.flexneri*, 3 *S.sonnei* y 2 *S.dysenteriae*.

Salmonellas 10(4.3%) de las cuales son 3 del Grupo D, 2 del Grupo B, 1 al Grupo C, y 4 a otros o *Salmonella sp.*

V.cholerae 31(25%) todos correspondieron a *V.cholerae O1*.

Se realizó susceptibilidad a los antimicrobianos por el método de Kirby-Bauer resultando que las cepas de *Salmonellas* más del 50% fueron resistentes a Cloranfenicol y Tetraciclina, *Shigellas* en especial *S.flexneri* estas cepas resultaron resistente más del 50% a Cloranfenicol, Ampicilina y 7.7% a Sulfametoxazol y Trimetoprim. Con respecto a *V.cholerae O1*, estas cepas fueron susceptibles a Cloranfenicol, Ampicilina, Trimetoprim, Sulfametoxazol y Tetraciclina en el 100%.

I. - INTRODUCCIÓN

A pesar de los avances científicos y tecnológicos que han permitido conocer cada vez mejor la etiología y los mecanismos fisiopatológicos de las diarreas. Así como el avance de innovaciones terapéuticas.(1)

La diarrea infecciosa aguda continua siendo una causa importante de morbimortalidad en nuestro medio especialmente en los infantes.

De la misma manera que varía la frecuencia de las enfermedades diarreicas entre los países desarrollados y los subdesarrollados, la etiología de la diarrea varía también según el nivel sociocultural de la población, la edad, el área geográfica en que se estudie (en este caso Morelia Michoacán), el grado de severidad de la diarrea, o ausencia o presencia de los agentes antimicrobianos.(1)

De las causas bacterianas *E.coli* enteropatógena sigue siendo la causa más importante en el tercer mundo, mientras que *Shigella* la reemplaza en los países altamente desarrollados. En nuestro país *Rotavirus*, *Salmonella* y *Shigella* ocupan un lugar importante como causa de diarrea y recientemente han tomado importancia *Campylobacter* y *Vibrio cholerae*.(1)

La diarrea infantil es la infección clásica con *E.coli*, la diarrea esporádica de verano en los niños menores también puede ser provocada por este tipo de bacilo.(2,4)

Los países con malos sistemas sanitarios es probable que tengan reservorios ambientales de enterobacterias.

Las enterobacterias constituyen la flora facultativa predominante del intestino humano de donde puede diseminarse fácilmente por falta de higiene personal sobre todo durante el periodo de una diarrea puede, contribuir a la transmisión oral fecal de los agentes etiológicos de gastroenteritis y enfermedades relacionadas.(2)

Además de su presencia en la flora fecal normal las enterobacterias se encuentran distribuidas mundialmente en habitat natural como el suelo, agua, plantas de todo tipo, peces y otros animales.

Estos microorganismos pueden transmitirse a huéspedes nuevos por vías indirectas. Los que abandonan el cuerpo con las excreciones suelen llegar a los alimentos o el agua, con lo cual pueden multiplicarse, y tienen asegurado el paso a las vías digestivas de otro huésped. La boca es la única entrada de estos microorganismos, y por lo tanto una causa de enfermedades intestinales. (2)

El diagnóstico clínico se hace en base a la presencia de la diarrea aguda.

El diagnóstico de laboratorio se lleva a cabo mediante el aislamiento e identificación de *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* y *Vibrio cholerae* O1 en muestras de diarreas agudas.

1.1.- DEFINICIÓN

Diarrea: Es el aumento del volumen o frecuencia de las evacuaciones con disminución de la consistencia (>0.3 l al día).(3)

Diarrea Aguda: Se trata de un desorden que dura poco ya sea porque es autolimitada y se corrige espontáneamente (es menos de dos semanas de evolución).(3)

1.2.- LOS SÍNDROMES DIARREICOS LOS PODEMOS CLASIFICAR POR LA DURACIÓN DE SÍNTOMAS.

Diarrea aguda: Tiene una duración de < 2 semanas, con una infección entérica probable, la cual se caracteriza por la presencia de leucocitos fecales, y su diagnóstico se realiza por cultivo de heces.

Diarrea subaguda: Su duración es 2 semanas a 2 meses, la infección puede ser producida por Giardiasis y Cryptosporidiosis. Existe intolerancia a la infección bacteriana entérica y su diagnóstico se realiza por evaluación parasitaria, serológica, alteración en la dieta, y cultivo de heces.

Diarrea Crónica: Es > 2 meses, y la infección puede ser producida por: Síndrome intestinal, Enfermedades inflamatorias intestinales, Síndrome de mala absorción, Giardiasis, Amibiasis, y

Sida. Su diagnóstico se realiza por: endoscopia, evaluación parasitaria, serológica y estudio de adsorción.(56)

1.3.- LOS PRINCIPALES SÍNDROMES DIARREICOS CLASIFICADOS POR CARACTERÍSTICAS PREDOMINANTES.

Gastroenteritis: El órgano que se ve afectado principalmente es el estómago y las principales características es vómito, y es producida por: *Rotavirus, Virus normales, Staphylococcus, Bacillus cereus.*

Enteritis: El órgano que se ve afectado es el intestino delgado y se caracteriza por diarrea acuosa con volúmenes grandes y pocas evacuaciones, es producida por: *ETEC, V.cholerae.*

Disentería: El órgano que se ve afectado es el colon y las principales características es materia fecal en poco volumen conteniendo sangre, moco, ileucocitos, y es producida por: *Shigella, Campylobacter, Salmonella, EIEC, Aeromona hydrofila, Clostridium difficil, Entamoeba histolitica.*

1.4.- CLASIFICACIÓN DE LA DIARREA INFECCIOSA AGUDA (4)

I.- Bacteriana

Disentería Bacilar

Cólera

Salmonelosis

Yersiniosis

Enteritis por *E.coli* enteropatógena.

II.- Enterovirus

III.- Parasitarias

IV.- Intoxicación Alimenticia.

II.- GENERALIDADES

2.1.- DISENTERIA BACILAR

Disentería Bacilar: Es una enfermedad infecciosa aguda de parte baja del íleon y colon. El período de incubación después de ingerir la especie *Shigella* suele ser unas 48 hrs. La infección empieza bruscamente con fiebre, dolor abdominal, vómito y diarrea con sangre, moco, pus acompañadas de tenesmo rectal. (5,33,43,47)

2.1.1.- ANTECEDENTES

Shigella esta bacteria fue aislada en 1898 por el Dr. Kioshi Shiga, el microorganismo aislado *S.dysenteriae* I (Bacilos Shiga's) en heces de soldados con disentería, causando grandes epidemias en el Japón con 89,400 - 90,000 casos y 22,300 (25%) defunciones. En realidad la identificación de *S.dysenteriae* fue reportada una década anterior (1888) por Chantemesse y Widal pero la descripción fue menos completa faltando estudios epidemiológicos de shiga. Dos años después de los resultados de Shiga, fueron confirmados en Filipinas por Simon Flexner y en Alemania por Kruse. (5,6,29,43,47)

Además de estas epidemias *Shigella* es también causa frecuente de casos aislados agudos, moderados y crónicos.

En 1968 se propagó una epidemia de disentería en diversos países de Centroamérica. (12)

En México, esta bacteria se aisló por primera vez en 1947 y con excepción de los años de 1951 y 1952, en que se encontraron 12 casos de esta infección en niños de la ciudad de México. A partir de Julio 1970, se observó un número creciente de personas con disentería o diarrea causada por Shiga, comprendiendo una vasta zona del sur y sureste del país, habiéndose extendido hasta la ciudad de México. (12)

2.1.2.-AGENTE INFECIOSO

El género *Shigella* pertenece a la familia enterobacteriaceae, son bacilos gram negativo y en cultivo jóvenes pueden presentar forma cocobacilar, que miden 0.4-0.6µm por 1.0-3µm, son inmóviles, no fermentan a los hidratos de carbono, a excepción de *S. sonnei* fermenta lactosa. (5,39,43)

S. flexneri 6 y *S. boydii* produce gas y fermenta lactosa. (43)

2.1.3.-TAXONOMÍA

El género *Shigella* se clasifica en tribu *Escherichiae* y está muy estrechamente relacionada con los del género *Escherichia*. La taxonomía propuesta por Ewing. Ha sido modificada por la comisión de *Shigella*.

El género *Shigella* incluyen cuatro especies subdivididas en aproximadamente en 40 tipos serológicos. (5,29,39,41,43)

- 1.- *Shigella dysenteriae*
- 2.- *Shigella flexneri*
- 3.- *Shigella boydii*
- 4.- *Shigella sonnei*

Todas las *Shigella* poseen antígeno "O", algunas poseen antígenos "K". El antígeno "K" no es significativo en la tipificación serológica de la *Shigella* pero cuando está presente, interfiere con la determinación del antígeno de tipo "O". Esta interferencia habitualmente puede neutralizarse por ebullición de la suspensión de células, las *Shigellas* se dividen en cuatro grupos principales por los antígenos "O", denominados A,B,C y D (Tabla 1). (12,41)

Poseen dos clases de antígenos somáticos o endotoxinas, uno específico del grupo y otro específico de tipo o especie.

El primero permite determinar el grupo, el segundo caracteriza los serotipos o especies dentro de cada grupo.

(Tabla 1). (39)

S. dysenteriae comprende 10 serotipos enumerados 1 al 10.

S. flexneri 6 serotipos identificados con una combinación de números y letras.

S.boydii 18 serotipos enumerados del 1 al 18

S.sonnei un solo serotipo

Tabla 1 CLASIFICACIÓN DE SHIGELLA

| ESPECIES | SUBGRUPO | NUMEROS DE SEROTIPOS |
|----------------------|----------|----------------------|
| <i>S.dysenteriae</i> | A | 10 |
| <i>S.flexneri</i> | B | 6 |
| <i>S.bodii</i> | C | 18 |
| <i>S.sonnei</i> | D | 1 |

tomada (39)

2.1.4.- PATOGENICIDAD

Determinantes de Patogenicidad.

La disentería bacilar se produce luego de que las *shigellas* se adhieren y penetran en las células epiteliales de la superficie mucosa del ileon terminal y colon.(33) Primero hay inflamación local seguida por muerte celular y desprendimiento de estratos epiteliales, dando como resultado úlceras poco profundas.(5,10) Las *shigellas* virulentas poseen tres factores que contribuyen con estos sucesos: 1) una estructura de lipopolisacárido (LPS) liso,

2) Invasividad

3) Producción de toxinas. (10)

Lipopolisacárido liso. La importancia del LPS liso en la virulencia de las *Shigellas* se ha demostrado con *S. sonnei* y *S. flexneri*. Sansonetti y col. han demostrado que la *S. sonnei* virulenta posee un plásmido grande de 120 Megadaltons que codifica la producción de cadenas laterales O específicas de ácido 2-amino-2-desoxi-L-galacturónico, dando como resultado la formación de colonias lisas o en la fase I. La pérdida de este plásmido da como resultado la pérdida de estas cadenas laterales y se evidencia por la producción de colonias rugosas o en la fase II. Las variantes en la fase II son avirulentas, mientras que las colonias en fase I son virulentas. Se han producido híbridos de *S. flexneri* y *E. coli* que son virulentos sólo cuando se expresan los antígenos "O" de *S. flexneri*. Aunque no se ha demostrado, las cadenas laterales pueden proporcionar una forma de adherencia del huésped. (10)

Invasividad. Las *shigellas* virulentas penetran en las células epiteliales del colon en forma irregular. Los microorganismos rara vez penetran a la lámina propia y existen intracelularmente en vacuolas citoplasmáticas. La invasión de las células del huésped depende tanto del estado metabólico de éstas como de las células bacterianas. Cationes bivalentes como el

Calcio, Magnesio y Hierro ayudan en este proceso. Luego de adherirse a las células epiteliales, los microorganismos adherentes producen una sustancia de bajo peso molecular que induce un movimiento de plegamiento de la membrana celular de las células del huésped e inicia la pinocitosis en células normalmente no fagocíticas. Una vez dentro de la célula inducen cierto número de cambios degenerativos en la ultraestructura, indicando lesión celular, esta se puede relacionar con la producción de toxina. La invasividad de las células epiteliales está mediada por un gen ligado al cromosoma que se ubica cerca de las regiones E y lactosa-galactosa de este.

Toxina Neurotoxina (toxina shiga) (41) letal para conejo se creía que era responsable de las convulsiones observadas en algunos niños infectados con *S. dysenteriae* y responsable de la alta mortalidad observada con esta especie. Investigaciones posteriores han demostrado que esta toxina es citotóxica para diversos cultivos de tejidos y tienen actividad enterotóxica, produciendo acumulación de líquido en asas ileales ligadas de conejo. Se han descrito toxinas similares libres de células de *S. flexneri* y *S. sonnei* y los anticuerpos para estas toxinas pueden neutralizar la toxina shiga de *S. dysenteriae*. La actividad enterotóxica no parece deberse a un aumento de la actividad de adenilciclase como se observa en la toxina termolábil de *E. coli* o

la toxina del cólera, no está inmunológicamente relacionada con estas toxinas. Se desconoce el mecanismo por el cual se induce la secreción de líquidos; sin embargo, en las asas ileales inyectadas con toxina se observan notables cambios histológicos: como acortamiento de las vellosidades, células cuboides y aumento de las células inflamatorias. (5,10)

La toxina nativa tiene un peso molecular de 68,000, existe como una proenzima y esta compuesta por cadenas A y B. Hay 6 ó 7 cadenas B y una cadena A en cada molécula de la toxina. La cadena A consiste en dos subunidades, A_1 (P.M. 30,500) y A_2 (P.M. 3,000) unidas por una unión de disulfuro. Las subunidades aisladas no son tóxicas para las células, pero la A_1 intacta es menos activa que la A_1 aislada en sistemas libres de células. La cadena B puede servir como un factor de unión, mientras que la subunidad A_1 inhibe la síntesis de proteínas en sistemas libres de células. En las células tratadas con toxinas la síntesis de proteínas está inhibida a nivel de la enlongación de péptidos. En contraste con la toxina diftérica, la subunidad A_1 de la toxina shiga inactiva enzimáticamente la unidad ribosomal 60S, causa una lesión irreversible y no requiere nucleótidos de nicotinamida y adenina (NAD). La adherencia de la toxina parece ocurrir en la unión oligomérica B 1-4 de la N-acetilglucosamina de la superficie de la célula huésped.

La toxina puede desempeñar dos papeles en la patogenia de las infecciones por *Shigella*. En primer lugar, como una enterotoxina en el Yeyuno, produciendo la diarrea acuosa asociada con la enfermedad temprana. En segundo lugar, su capacidad para inhibir la síntesis de proteína y su citotoxicidad puede explicar la muerte celular y producción de úlceras colónicas. Estas teorías están avaladas por investigaciones con monos Reshus infectados intracecalmente con *S. flexneri* que demuestra que es necesario el pase a través del intestino delgado para la producción de diarrea, mientras que se produce Disentería en animales inoculados intracecalmente.(10)

Se ha aislado una segunda toxina que produce cambios morfológicos en células ováricas de Hámster chinos, pero todavía no se conoce el papel de esta toxina en la patogenia de las Shigellosis.(10)

La mayor parte de las especies de la *Shigella* solo producen endotoxinas causantes de hemorragia intestinal, perdida de peso y los otros síntomas generales típicos de endotoxina.

2.1.5- EPIDEMIOLOGIA

La primera descripción epidemiológica fué por Shiga con 90,000 casos clínicos.(47)

Durante el período de 1964 a 1973, se informaron 105,832 casos de shigelosis al Center for Disease Control en Atlanta. De los microorganismos aislados, 73% fueron *S.sonnei*, 26% *S.flexneri*, 0.7% *S.boydii* y 0.6% *S.dysenteriae*. Datos recientes muestran la misma distribución de microorganismos aislados. En países en desarrollo donde la higiene es pobre, el patrón de aislamiento es inverso: *S.dysenteriae* y *S.boydii* son los aislados más frecuentes, seguido por *S.flexneri* y *S.sonnei*. Las infecciones por *S.dysenteriae* en los EE.UU. están limitadas a personas que viajan a áreas endémicas.(10)

Shigella tiene una distribución mundial, en México la más frecuente es *S.flexneri*, continuando *S.boydii*, *S.sonnei*, *S.dysenteriae*. Se ha observado que en las regiones cuyas condiciones sanitarias son pobres, como es el caso de México predomina el grupo *S.flexneri* y que a medida que estas condiciones mejoran, va siendo reemplazado por *S.sonnei* fenómeno epidemiológico que no tiene una explicación clara. *S.boydii* y *S.dysenteriae* son en general menos frecuente.(12)

En México predomina francamente el grupo Flexneri con los serotipos *S.flexneri* 2a, 6, 4 y 3 a la cabeza. Siguiendo en

frecuencia *S. sonnei*. En general se encuentra *Shigella* entre 5-20% aproximadamente, de los enfermos con diarrea aguda. (12,13)

2.1.6.-MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

Como la única fuente importante de Disentería Bacilar es el hombre y la enfermedad se trasmite por "alimentos, heces, manos y moscas". Las medidas sanitarias tienen una gran importancia, el control de las enfermedades se ha complicado por la existencia de un gran número de infecciones inapreciables.

La ingestión de hasta 180 células de *Shigellas* viables y virulentas pueden producir una disentería en el hombre.

La forma de transmisión también puede ser de individuo a individuo. (47)

La Disentería Bacilar constituye un problema particular en instituciones, cárceles e instalaciones militares. La Disentería Epidémica es frecuente en zonas tropicales y subtropicales, y en los meses calientes del año. Pero es endémica en zonas templadas, incluso en países con buenas instalaciones sanitarias. Interviene la higiene personal y los portadores convalecientes pueden eliminar los gérmenes durante cuatro o cinco semanas. El alimento infectado es el vehículo principal de transmisión de los microorganismos.

2.2.-CÓLERA

Cólera: Es una infección intestinal aguda grave, que se caracteriza por la aparición brusca de diarrea acuosa y abundante además de vómitos, esto causa deshidratación, acidosis, colapso. En los casos no tratados puede producir la muerte dentro de las 24 hrs. de su aparición. (17,18,26,45,47)

2.2.1.-ANTECEDENTES

El cólera fue descrito por Hipócrates en el siglo V A.C. En el siglo XV y XVIII se describieron en Asia. Roberto Koch descubrió el microorganismo y lo llamo *Kommabacillus*. (17,18,45,47)

Apareció en Europa por primera vez en el siglo XIX las rutas comerciales fueron la vía por donde la enfermedad paso de la India a Europa, Africa y América del Norte. En cada país por el que pasaba la enfermedad, se presentaban miles de enfermos, de los cuales morían aproximadamente la mitad. (17,45)

La segunda pandemia alcanzó a Europa y llegó a América en 1832. Una de las ciudades más afectadas en esa época fue Nueva York. (17,45,47)

La sexta pandemia (1903-1923) se disperso principalmente para Asia, fue limitada en Africa y Europa y no llegó afectar el hemisferio Occidental. (45)

La séptima pandemia comenzó en 1961 y llegó hasta la Indonesia y se extendió a otros países del Asia oriental.

V. cholerae fue descrito primeramente y nombrado en 1854 por Pacini. (45)

En 1970 el cólera invadió el Africa Occidental y se disperso rápidamente. La Enfermedad es ahora endémica en este continente especialmente en las zonas costeras donde la temperatura, pluviosidad y densidad de población contribuyeron a su persistencia, y en los años siguientes el cólera penetró a los países industrializados. (45)

En América el cólera origino epidemias durante el siglo XIX y desapareció la transmisión durante 100 años.

El primer caso de cólera en México se presentó en Saltillo Coahuila en 1833 y a partir de entonces se propagó a todo el país y se estima que fallecieron aproximadamente 200 mil personas. Se cree que se origino a partir de Nueva Orleans y de Cuba, el último caso se notificó en Juchitan Oaxaca en 1833. (17,45)

Se presentó después en Campeche, Yucatán y Tampico. Se propagó en San Luis Potosí y Guanajuato, durante ese año, en agosto se registro en la ciudad de México y Guadalajara ,entre Agosto y Septiembre se presentó en Puebla y Oaxaca.

El cólera originó epidemias en 1849 y 1854 en todo el territorio, la enfermedad tuvo un comportamiento endémico de 1855 a 1871.(17)

En 1882 de nuevo ocurrió la epidemia en Chiapas, Tabasco, y Oaxaca.(17)

En 1978 se informó el aislamiento de *V. cholerae* en el drenaje en Río de Janeiro Brasil; no se observaron infecciones en seres humanos. En 1988 se reportaron dos casos de diarrea en turistas norteamericanos que visitaron Perú, a los que se les aisló *Vibro cholerae 01* en Sudamérica, varios meses antes de su aparición en forma epidémica. En 1991, esta epidemia inició en Perú, se distribuyó a Ecuador, Colombia, Brasil, Chile, Estados Unidos y México.(17,45)

En junio de 1991 surgió un caso de cólera en San Miguel Totolmoloya municipio de Tultepec Estado de México de aquí la epidemia se extendió al valle de Tula (Hidalgo), Huasteca (Hidalgo, Veracruz), Ciudad Hidalgo (Chiapas), Miahuatlan (Puebla), Tabasco, Distrito Federal, Oaxaca, Tajin(Veracruz), Puerto de Veracruz, Estado de México, Uxmal y Merida (Yucatán), Morelos, Guerrero; en estas entidades los brotes han sido en forma de epidemia o casos aislados.(28)

2.2.2.- AGENTE INFECCIOSO

El agente causal del cólera es *V. cholerae*, bacteria gram negativa la cual pertenece a la familia Vibrionaceae en las que se incluyen cuatro generos.(45)

- a) *Vibrio*
- b) *Aeromonas*
- c) *Plesiomonas*
- d) *Photobacterium*

De acuerdo al manual de Bergey la familia Vibrionacea fue inicialmente propuesta por Veron en 1965, en el cual se incluye géneros móviles por flagelos polares y oxidasa positivos, esto implica necesariamente que existiera una estrecha relación entre los géneros, como conveniencia para poder diferenciar a esto de la familia enterobacteriaceae.(17,27)

El género *Vibrio* son bacterias gram negativas que miden 0.5μ a 0.8μ de diámetro por 1.4 a 2.6μ de largo, con morfología al microscopio de "Coma", son móviles por la presencia de un flagelo polar único, son anaerobios facultativos, poseen metabolismo fermentador y respiratorio, para su crecimiento requieren ser estimulados con NaCl, además de requerir una fuente de Carbohidratos, Nitrógeno Inorgánico, Azufre, Fósforo, Minerales, Buffer adecuado, crecen a pH de 7.0 pero toleran pH alcalino de 9.0. (6,8,17,18,27,47)

Su habitad es generalmente acuático con variedad de salinidad, se puede encontrar en agua dulce en donde sobrevive unas horas y algunas semanas si esta se encuentra contaminada con materia orgánica y tienen un pH de 6 y 9. Es susceptible a la desecación, la ebullición, cloro, otros desinfectantes y a las Tetraciclinas. (17,45)

2.2.3.- TAXONOMÍA

La nomenclatura y taxonomía del género *Vibrio* ha sufrido recientemente un cambio importante. El termino *V. cholerae* era generalmente restringido a los organismos que causan cólera epidémico y entonces se usaron términos como *Vibrio* aglutinante (NAGs) y *Vibrio* no aglutinante (NCVs). (17)

Los taxónomos han llevado a cabo estudios para clarificar la nomenclatura y han encontrado que es más adecuado colocar a los *Vibrio* bioquímicamente similares al *Vibrio* que causa cólera y que anteriormente eran llamados NACs-NVCs en una sola especie llamada *V. cholerae* no 01. (17,47)

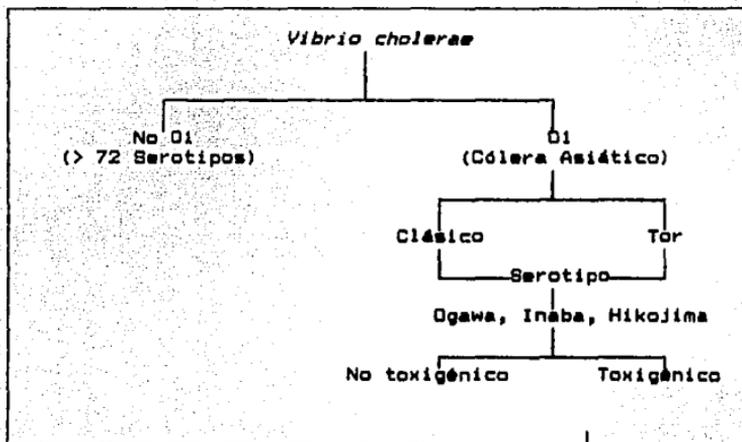
Las cepas pura de *V. cholerae* cuando reaccionan con el antisuero somático del grupo 01 son denominados *V. cholerae* 01 y los que no reaccionan con el antisuero son *V. cholerae* no 01.

Existen más de 20 especies de *Vibrio* de las cuales solo 12 se han encontrados en muestras clínicas humanas. (17)

Pero dos especies de *Vibrio* tienen importancia en patología humana, la que provoca el Cólera Asiático que es el *V.cholerae* y *V. parahaemolyticus* que provoca una enteritis aguda.(12,17)

EL *V. cholerae* incluyen dos tipos o clases de biotipos: EL Clásico y el Tor (4)(Fig.1).. Serológicamente los biotipos se dividen en serotipos: Ogawa, Inaba e Hikojima (Tabla 2). (8,12,17,47)

Figura.1 CLASIFICACIÓN DE *VIBRIO CHOLERA*E EN BIOTIPOS Y SEROTIPOS



tomada (17)

Tabla 2 SEROTIPOS DE VIRIO CHOLERAЕ O1 BASADO EN EL ANTIGENO SOMÁTICO

| SEROTIPO | ANTIGENOS PRESENTES |
|-----------------|----------------------------|
| Ogawa | A B |
| Inaba | A C |
| Hikojima | ABC |

tomada (17)

2.2.4.-PATOGENICIDAD

Como otras enfermedades infecciosas el desarrollo depende de una interacción entre el hospedero y el microorganismo.

Los mecanismos de defensa del hospedero y los factores de virulencia del microorganismo son importantes en la patógenesis del cólera. Entre los mecanismos de defensa del hospedero se tiene: (45)

Saliva

Acidez Gastrica

Perístaltismo Intestinal

Flora Normal

Inmunoglobulinas Intestinales

La acidez gástrica es al parecer, el mecanismo de defensa mas importante frente al cólera: para poner de manifiesto signos de infección, ingestión de un mínimo de 10^8 organismos, mientras que la neutralización de la acidez del estómago hizo disminuir este número hasta 10^7 organismos. (17)

La adherencia a la superficie intestinal y la producción de la toxina son dos factores necesarios para la patogénesis, la motilidad es también un factor de virulencia para *V. cholerae*. Se ha observado que las cepas inmóviles son menos virulentas que las cepas móviles.

Las cepas virulentas también producen proteínas extracelulares incluyendo: (45)

Enterotoxinas

Hemaglutinas

Endotoxinas

Enzimas: Neuraminidasa

Mucina

Proteasa

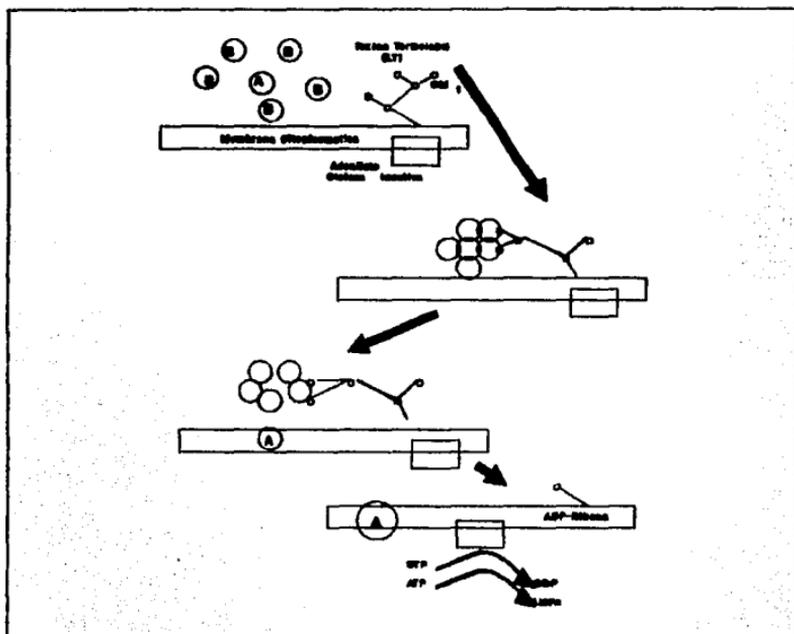
Las cepas de *V. cholerae O1* producen una exotoxina (toxina colérica). Que se unen a receptores específicos sobre la mucosa intestinal y estimula la secreción de electrólitos y agua de las células, es responsable de la diarrea característica de la enfermedad. (17,47)

La toxina colérica (35) (Fig. 2) es una proteína oligomérica (84 KDa). Compuesta de una subunidad A_1 , y A_2 y cinco subunidades B. (17)

Las subunidades B son las responsables de la unión de la toxina a las membranas celulares, contienen dos residuos de Cistina que pueden formar puentes intrasubunidades, esta subunidad constituye el toxoide colérico o coleragénico, el cual carece de actividad tóxica pero es capaz de unirse a la membrana celular del epitelio del intestino delgado (45). La subunidad A_1 activa el complejo enzimático adenilato ciclasa, incrementando los niveles intracelulares de AMPc que provoca la hipersecreción de sales y agua, dando como consecuencia una diarrea isotónica con respecto al plasma, es decir; con concentración de Cl^- , Na^+ ligeramente inferior a las del plasma. La concentración de $NaHCO_3$ es aproximadamente el doble de la del plasma y la concentración de K^+ es de 3 a 5 veces que la del plasma. (8,17)

Como resultado el paciente presenta un déficit de líquido extracelular, una acidosis metabólica y una hipocalcemia. Con frecuencia se produce un shock que causa la muerte en 24 hrs. (17)

Figura.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA TOXINA COLERICA



2.2.5.-EPIDEMIOLOGIA

En el último bimestre de 1991 y primero de 1992, la actividad epidémica disminuye notablemente en todo el país, sin embargo de marzo a octubre se presentaron brotes mas extensos principalmente en la región del sureste y en los estados del Golfo de México, así como se empezaron a observar casos en el Altiplano mexicano.(28)

En 1991 fueron afectados principalmente el sureste del país y la parte oriente del Altiplano central donde se encuentra Tabasco, Hidalgo, Yucatán, Chiapas y Puebla.(28)

En 1992 está situación vario y las entidades mas afectadas fueron el sureste del país y la parte oriente del Altiplano central que corresponde a Campeche, Yucatán, Guerrero, Tabasco y Morelos.(28)

En 1993 la actividad epidémica se observa en el Altiplano Central y el norte del Golfo de México que corresponden a Morelos, Puebla, Tlaxcala, Tamaulipas, y Michoacan.(28)

Durante los tres periodos el sexo masculino ha sido el más afectado.

2.2.6.-ECOLOGÍA Y MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

El reservorio natural es el hombre, aunque las observaciones recientes de Estados Unidos y Australia, sugieren la presencia de reservorios ambientales. (4,17,18,45,46)

El cólera sigue un ciclo de transmisión:

Hombre - Medio Ambiente - Hombre (4)

No se ha encontrado ninguna otra especie regularmente infectada, aunque existe una gran variedad de animales de laboratorio susceptibles. Se desconoce la forma en que sobrevive el microorganismo durante los períodos interepidemias.

La transmisión se realiza normalmente por la ingestión de agua o alimentos contaminados con vómito o heces del paciente y en menor grado de Persona a Persona, por contacto directo, las manos sucias o las moscas. (17)

Durante los brotes el mecanismo de transmisión más frecuente es la ingestión de agua contaminada por heces y vómitos de enfermos o en menor medida por heces de portadores. (17)

EL *Vibrio* clásico y el biotipo El Tor pueden persistir en agua por largo tiempo. (4,8,17)

La dosis infecciosa es variable, la susceptibilidad puede variar.

1.- Dependiendo de la acidez gástrica.

2.- De la cantidad de tipo de comida que hay en el estómago.

3.- La adquisición de cierta inmunidad en el caso de que haya presentado una infección previa con *V. cholerae O1*.

El período de incubación es de unas cuantas horas a cinco días, generalmente de dos a tres días(4). El período de transmisibilidad dura mientras se mantenga el estado del portador que generalmente es de unos cuantos días, aunque puede ser de varios meses, antibióticos como la Tetraciclina acortan el período de transmisibilidad. El único medio efectivo para evitar la extensión de la enfermedad es mejorar las condiciones sanitarias básicas.(17)

2.3.- SALMONELOSIS

Gastroenteritis por *Salmonella*, como shigelosis, representa una infección real del intestino y por lo general ocurre aproximadamente 18hr. después de ingerir el microorganismo.

La salmonelosis se caracteriza por diarrea, fiebre y dolor abdominal que habitualmente es autolimitada y dura de 2 a 5 días. En casos extremos los síntomas pueden durar varias semanas.(10)

2.3.1.-ANTECEDENTES

En 1880, Eberth publica el hallazgo de bacilos gram negativos en tejidos de enfermos fallecidos por fiebre tifoidea. Con este reporte se abre un capítulo que ha tenido y sigue teniendo gran importancia en la historia de la infectología. En 1884, Gaffky cultiva *S.typhi* de casos de fiebre tifoidea. En 1885, Salmon y Smith aíslan *S. cholera-suis*. En 1888, Gaertner cultiva una *Salmonella* de heces de enfermos sin fiebre tifoidea, a la que denomina *S.enteritidis*. Poco tiempo después, Durham y Noble aíslan *S.typhimurium*. A partir de entonces aparecen más y más reportes de nuevos tipos de *Salmonella*, creando confusión desde el punto de vista taxonómico. En 1920, Schuetze hace un primer intento de ordenarlas y clasificarlas. En 1925, White sienta las bases, que continuará posteriormente Kauffmann, para la creación del esquema de

Kauffmann-White, que en la actualidad es fundamental para el estudio e identificación de salmonelas.(9)

Son reconocidas más de 2,000 serotipos(16) solamente 50 serotipos son aisladas con mayor frecuencia en EE.UU. el 95% de los microorganismo clínicamente aislados corresponde al 38% de los serotipos. Kelterborn informó que, de 500,000 salmonelas, el grupo B fue responsable del 47% de todos los microorganismo aislados. Los grupos C, ,C,D, y E, corresponde a 13, 7, 24 y 4.4% respectivamente de los microorganismo aislados restantes.(10)

2.3.2.- AGENTE INFECCIOSO

El género *Salmonella* comprende una gran variedad de especies patógenas para el hombre o animales.(52)

Salmonella pertenece a la familia enterobacteriaceae. Son bacilos gram negativos , que miden 0.5 a 0.7 μ m de diámetro por 1 a 3 μ m., son móviles por presencia de flagelos peritricos, son facultativos y producen H₂S, gas por fermentación de glucosa.

El género *Salmonella* causa tres enfermedades en el hombre

1.- Fiebre tifoidea o Fiebre entérica causada *S.typhi*, aunque también puede se por *S.paratyphi A y B*

2.- Gastroenteritis: que es la forma más común de las Salmonelosis cuyo cuadro clínico varía desde las infecciones muy leves hasta cuadros muy severos. La causa cualquiera de los otros

serotipos de *Salmonella* algunas de ellas con mayor frecuencia que otras.

3.- **Septicemia**, seguida por infecciones localizadas que son producidas por cualquier de los muchos serotipos de las otras *Salmonella*. (16,46,48)

2.3.3.- TAXONOMÍA

El esquema antigénico Kauffmann-White para el género *Salmonella* da categoría de especie a cada tipo antigénico. Ewing y Col. han propuesto que hay sólo tres especies de *Salmonella*: *S. cholerae-suis*, *S. typhi*, *S. enteritidis*, siendo los otros tipos antigénicos serotipos de *S. enteritidis*. (Tabla 3.). Actualmente, el Center For Disease Control emplea el esquema de Ewing. (10,16)

Estructura antigénica: Los antígenos "O" y "H" son los principales antígenos utilizados para la tipificación de las *Salmonellas*. (10)

Los antígenos "H" son difásicos, pueden existir en cualquiera de las dos fases importantes, fase uno o específica, y fase dos no específica. Los antígenos de fase uno son compartidos por sólo unos pocos microorganismo y reaccionan únicamente con antisuero homólogos, mientras que los antígenos de fase dos son compartidos por muchos microorganismo pueden presentar reacción cruzada con antígeno heterólogos. (10)

Tabla 3 COMPARACIÓN DE LA NOMENCLATURA DEL SISTEMA DE KAUFFMANN-WHITE CON EL DE EWING PARA EL GENERO SALMONELLA

| Kauffmann-White | Ewing |
|------------------------|---------------------------------------|
| <i>S.typhi</i> | <i>S.typhi</i> |
| <i>S.cholerae-suis</i> | <i>S.cholerae-suis</i> |
| <i>S.typhimurium</i> | <i>S.enteritidis sero typhimurium</i> |
| <i>S.derby</i> | <i>S.enteritidis sero derby</i> |

tomada (10)

Los numerosos tipos antigénicos de *Salmonella* fueron organizados por Kauffmann y White para formar un sistema de clasificación lógica que es muy importante para el trabajo epidemiológico. De acuerdo con este esquema las *Salmonella* se agrupan en grupos principales en base a los antígenos "O" comunes. Esto grupos se designan con letras mayúsculas A a I (Tabla 4).(10)

Subdivisión de los grupos principales en especies o serotipos por determinación de los restantes antígenos "O" y "H"

en fase 1 y 2. Ewing emplea los mismos tipos antigénicos. La única diferencia entre los sistemas de Ewing y Kauffmann-White es la taxonomía. El método de Kauffmann-White designa a cada tipo antigénico como especie, mientras que el sistema de Ewing designa el mismo tipo antigénico como un serotipo de *S. enteritidis*. (10,22)

Además del serotipo de *Salmonellas* reciben nombres que generalmente hacen referencia a la ciudad en que fueron aisladas por primera vez a algún otro factor con el cual están asociadas. (12)

Debido al gran número de posibles serotipos, sólo los grandes Centros de referencias con capaces de una serotipificación completa.

Los antígenos capsulares, desempeñan un papel menor en la clasificación serológica de las *Salmonellas*, pero puede tener un importante significado patógeno. El antígeno capsular de *S. typhi*, el antígeno Vi (de virulencia) puede desempeñar un papel en la prevención destrucción intracelular de este microorganismo. (10)

Tabla 4 CLASIFICACIÓN DE SALMONELAS SEGÚN ESQUEMA DE KAUFFMANN-WHITE.

| ESPECIES O SEROTIPOS | ANTIGENOS O | ANTIGENOS H | |
|---|-------------------|-------------|----------|
| | | FASE 1 | FASE 2 |
| GRUPO A <i>S. paratyphi</i> | 1,2,12 | a | - |
| GRUPO B <i>S. schottmülleri</i> | 1,4,12 | b | 1,2 |
| GRUPO C, <i>S. cholerae suis</i> <i>S. montevideo</i> | 6,7 6,7 | c g,a,s | 1,5 - |
| GRUPO C, <i>S. mahattan</i> | 6,8 | d | 1,5 |
| GRUPO D, <i>S. typhi</i> <i>S. panama</i> | 9,12,VI 1,9,12 | d 1,v | - 1,5 |
| GRUPO D, <i>S. stasbourg</i> | 9,46 | d | 1,7 |
| GRUPO E, <i>S. anatum</i> | 3,10 | e,h | 1,6 |
| GRUPO E, <i>S. new-brunswick</i> | 3,15 | 1,v | 1,7 |
| GRUPO E, <i>S. minneapolis</i> | 3,15,34 | e,h | 1,6 |
| GRUPO H <i>S. florida</i> | 1,6,14,25 | d | 1,7 |

tomado (8)

2.3.4.- PATOGENICIDAD

Determinantes de patogenicidad: Las *Salmonellas* son microorganismo complejos que producen cierto número de factores de virulencia. (10)

- 1) Antígeno de superficie
- 2) Invasividad
- 3) Endotoxina
- 4) Enterotoxinas

Antígeno de superficie: La capacidad de las *Salmonellas* para adherirse a las células intestinales del huésped y sobrevivir intracelularmente puede deberse a los antígenos "O" de superficie o, en el caso de *S.typhi*, a la presencia de antígeno "Vi". Estudios en humanos voluntarios demuestran que aquellos microorganismos que contienen antígeno "Vi" son claramente más virulentos que aquellos que no poseen el antígeno. Las cepas sin antígeno "Vi" son capaces de producir enfermedad en voluntarios, aunque con una tasa menor. El antígeno "Vi" puede servir para proteger el antígeno no "O" de antisueros y prevenir la fagocitosis. (10)

Invasividad: Igual que *Shigella* invasora, la *Salmonella* virulenta atraviesa el revestimiento epitelial del intestino delgado. Pasa directamente a través de las células epiteliales hacia el tejido subepitelial. Se desconocen los mecanismos

bioquímicos de penetración, pero el proceso parece ser similar a la fagocitosis. A medida que las bacterias se acercan al epitelio las microvellosidades de las células comienzan a degenerar y las bacterias ingresan en las mismas. Luego son rodeadas por una membrana citoplasmática invertida, similares a las vacuolas fagocíticas. Atraviesan las células epiteliales hacia la lámina propia. Luego de la penetración los microorganismos se multiplican y pueden pasar hacia otros sitios del cuerpo. La destrucción epitelial se observa en los estadios tardíos de la enfermedad, se desconocen los mecanismos por los cuales ocurre esta destrucción. (10)

Endotoxinas: Puede desempeñar un papel en la patogenia de la infección por *Salmonella* especialmente durante los estadios bacteriémicos de la fiebre tifoidea y otras fiebres entericas, la endotoxina puede ser responsable de la fiebre.

La fiebre podría ser producida por la endotoxina actuando directamente o indirectamente, a través de la liberación de pirógenos leucocitarios endógenos. La activación de las propiedades quimiotácticas del sistema de complemento puede causar la localización de leucocitos en las clásicas lesiones entéricas observadas en la fiebre tifoidea. Sin embargo, el papel exacto de la endotoxinas no está claro porque voluntarios

tolerantes a la endotoxinas infectados con *S.typhi* presentan los síntomas clásicos de la fiebre tifoidea.(10)

Los mecanismo patogénicos de *Salmonella* aún no se han dilucidado, pero se acepta que no producen exotoxinas. En la infección se producen dos alteraciones gastrointestinales que aumenta la secreción de líquido y el desarrollo de lesiones en el epitelio intestinal es decir diarrea que algunas veces se acompaña de leucocitosis.

El mecanismo responsable de la secreción de líquidos no se ha establecidos, la respuesta inflamatoria consecutiva a la invasión bacteriana se produce por la liberación de prostaglandinas que estimulan la producción de AMPc que inhibe la absorción de Na^+ y de K^+ y aumento de la secreción de Cl^- y bicarbonato y agua.(Fig.3) (25)

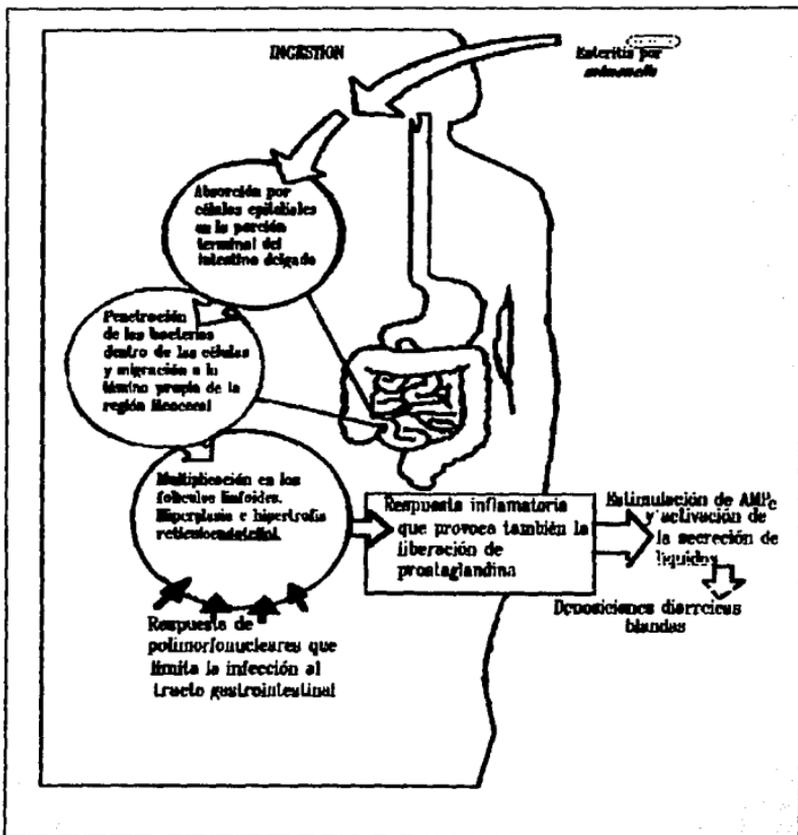
En relación con el desarrollo de las lesiones en el epitelio intestinal se sabe que la infección por *Salmonella* esta localizada en el ileon terminal y el colon. La cual se inicia con una invasión bacteriana de la mucosa, etapa que es crucial en el establecimiento de la infección.

Enterotoxinas: La actividad de enterotoxina ha sido informada en diversas especies de *Salmonella*. Esta enterotoxinas tienen las mismas propiedades de las eterotoxinas termoestable y termolábil de *E.coli*. La actividad enterotóxica parece estar muy

relacionada con la pared celular o la membrana externa de la célula bacteriana podría explicar por qué es necesaria la penetración hística para la inducción de la diarrea.(10)

Figura. 3 LA MANIFESTACIÓN MAS COMÚN DE LA INFECCIÓN POR *SALMONELLA* ES LA GASTROENTERITIS

tomada (11)



2.3.5.-EPIDEMIOLOGIA.

En 1974 fueron 23,838 aislamiento de *Salmonella* (excluyendo fiebre tifoidea), reportada por el Center For Disease Control en Atlanta. El primero , segundo y tercer serotípos mas comúnmente aislados fueron *S.enteritidis var typhimurium*, *S.enteritidis var newport* y *S.enteritidis var enteritidis*, respectivamente. Un total de 178 serotípos diferente de *Salmonella* fueron identificada y reportadas en 1974, esto representa cerca 11% de serotípos de *Salmonella*.(Tabla 5)(7)

Probablemente la salmonelosis representa hoy en día el mayor problema por enfermedades bacteriana transmisible en los EE.UU. Cada año se informan aproximadamente 30,000 casos de salmonelosis. Sin embargo, dado que muchas infecciones no se informan, se han estimado que la tasa real de infección es de 2 millones de casos por año.(10)

La fiebre tifoidea se encuentra distribuida en todo el mundo variando su frecuencia de un país a otro, adquiriendo importancia relevante en área que no han alcanzado las condiciones de saneamiento e higiene ni cuentan con medida de salud pública óptimas, afectan a todos los grupos de edad sin embargo se observa mayor daño en los extremos de la vida niños menores de 5 años y adultos mayores de 60 años de edad que constituyen a los grupos mas vulnerables de edad, sin embargo el indice mas alto se

reporta entre 15-45 años de edad. Ambas enfermedades infecciosas muestran claramente una incidencia estacional de tal forma que el canal endémico registra aumento de casos a partir de mayo o alcanzar el pico máximo en los meses de julio y agosto y la declinación se observa a partir de septiembre. (46)

En 1990 salmonelosis represento el 2.5%. (46)

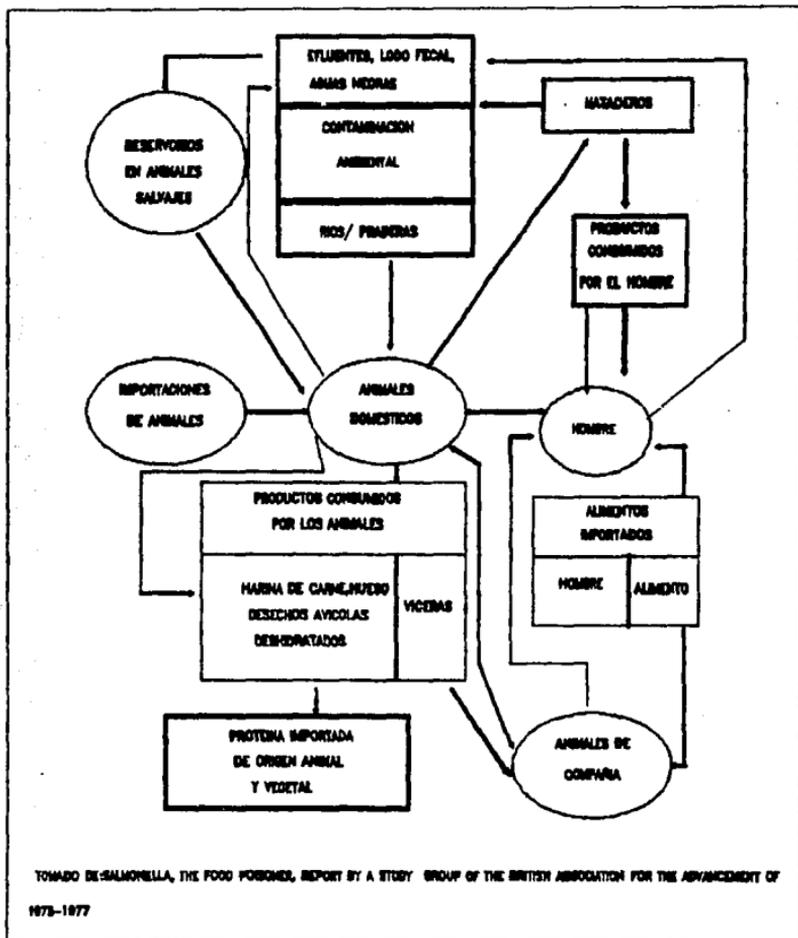
En México los serotipos más frecuente en casos y brotes son *S.typhimurium* y *S.enteritidis*. (46)

Tabla 5 ESPECIES Y SEROTIPOS DE SALMONELLA MAS FRECUENTES ENCONTRADAS EN INFECCIONES HUMANAS.

| GRUPOS | SEROTIPOS |
|----------------|---|
| A | <i>S. paratyphi A</i> |
| B | <i>S. derby</i> <i>S. agona</i> <i>S. typhimurium</i> <i>S. heidelberg</i> |
| C ₁ | <i>S. cholerae suis</i> <i>S. montevideo</i> |
| C ₂ | <i>S. muenchen</i> <i>S. newport</i> <i>S. duesseldorf</i> |
| D | <i>S. typhi</i> <i>S. enteritidis</i> <i>S. dublin</i> |
| E | <i>S. anatum</i> <i>S. giva</i> <i>S. senftenberg</i> |

tomada (51,52)

Figura.4 CICLO DE TRANSMISIÓN DE LAS SALMONELLAS



2.4.-YERSINIOSIS.

Y. enterocolitica produce una enteritis aguda. Se caracteriza por diarrea, fiebre y dolor abdominal que dura 1-2 semanas. La enfermedad afecta al íleon terminal, con inflamación de los ganglios linfáticos mesentericos, simulando un cuadro de apendicitis aguda. (11,33,37)

2.4.1.- ANTECEDENTES.

En 1933 Gilbert identifico *Y. enterocolitica* por primera vez, no se considero una causa importante la propagación del padecimiento humano hasta que se apreciaron algunos casos humanos en Europa a principio de las décadas de 1960. Durante la década siguiente se reconoció un aumento en el número de infección humana en EE.UU. y Canada. (37,47)

2.4.2.- AGENTE INFECCIOSO.

Yersinia es el agente causal que generalmente produce gastroenteritis y la especie responsable es *Y. enterocolitica* .

Yersiniae tribu IV de la familia enterobacteriaceae al género yersinia y especies *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* (46,47)

Y. enterocolitica son bacilos 0.5-1.0µm por 1-2µm, gram negativos son inmóviles a 37°C sin embargo a temperatura de 22C

son móviles por flagelos peritricos, se caracterizan por la producción de ureasa, no son capsulados, no fermentan lactosa y presentan actividad de β galactosidasa. (10,11,33,37)

Se conocen varios serotipos de los cuales el 3,8 y 9 son los más comunes en el hombre. (12,48)

2.4.3.- TAXONOMÍA.

Todavía no se ha definido claramente el estado taxonómico de los microorganismos actualmente definido como *Y. enterocolitica*. El género contiene microorganismo que son bastantes variables bioquímicamente, en especial en cuanto la sacarosa, ramnosa, indol y trehalosa. Algunos autores se refieren a los aislamientos no humanos que son bioquímicamente diferentes a las cepas humanas. Se han definidos cuatro grupos diferentes con ADN relacionado (biogrupo 1-4) correspondiendo las cepas típicas de *Y. enterocolitica* sacarosa positivas y ramnosa negativas al biogrupo 1. Algunos autores han propuesto una nueva especie incluyendo *Y. intermedia*, *Y. frederiksonii* y *Yersinia kristensenii*, para cepas bioquímicamente diferentes a las cepas humanas. (10,46,47)

Los microorganismos actualmente considerados como *Y. enterocolitica* son serológicamente heterogéneos. Se han identificados 27 serotipos en base a sus antígenos "O" y "H".

Ciertos tipos serológicos se asocian consistentemente con infecciones humanas.(11)

Y. enterocolitica tiene poca relación antigénica con las otras *yersinias*, pero presenta reacción con *Brucella*, muchas especies de *Brucella* muestran reacción cruzada completa con *Y. enterocolitica* serotipo 0:9, también hay similitud antigénica entre algunas cepas de *Y. enterocolitica* y *Vibrio cholerae* serotipo Inaba.(11)

2.4.4.- PATOGENIA

La lesión primaria es resultado de invasión de la pared del intestino delgado, habitualmente en el área de íleon. Pueden desarrollarse úlceras en la mucosa intestinal a nivel del tejido linfático y llevara a una extensa pérdida de sangre y líquido.

Aunque por lo común limitada al tracto gastrointestinal(53) puede haber invasión del sistema porta con compromiso hepático y septicemia generalizada con colonización en otras partes del cuerpo.(11)

2.4.5.- EPIDEMIOLOGIA.

Y. enterocolitica es una causa habitual de enterocolitis en Escandinavia y en otros países de Europa y en las áreas más frías, Canadá, EE.UU.(4), Hungría, Noruega, Dinamarca, en contraste con regiones cuya temperatura media es más alta, Guatemala y Africa Occidental. Donde la incidencia es o son más frecuente durante los meses de fríos del año, no todos los investigadores han corroborado esta observación. La teoría según la cual Y. enterocolitica es clínicamente más activa en los climas fríos.

En Bélgica fue aislada en 1963, y el porcentaje de aislamiento se ha incrementado en los últimos años. Los serotipos O:3 y O:9 se consideran en 4% de los aislamientos de rutina en cultivos de heces en años recientes. La alta frecuencia de enfermedad en Bélgica es en niños 1 a 4 años de edad, con un máximo de 2 casos por 1000 en niños entre 1 y 2 años.(11)

En 1971 Mollaret describe 642 casos de Yersiniosis en el Instituto Pasteur en París. En 1974 designan al Instituto Centro de Referencia Internacional para Y. enterocolitica y en 1976 fueron aisladas 5,800 casos. (47)

En México, Peniche Quintero y Col. en 1991 analizaron raspados rectales en pacientes pediátrico con diarrea, entre Octubre 1988 a Febrero de 1989, cada mes se eligieron 40

pacientes y de las 200 muestras, se aislaron 14 cepas de Yersinia lo que da un 7% de participación en los padecimientos intestinales.(46)

La virulencia de estos microorganismos también se ha asociado a serotipos específicos O:3 y O:9 en Europa, Africa, Japón, Canadá, y O:8 en EE.UU.(11,37)

La mayoría de las infecciones humanas ocurren en el invierno y comienzos de la primavera. La incidencia de infección es igual para hombres y mujeres. *Y. enterocolitica* produce enfermedad sobre todo en niños pequeños.(37)

2.4.6.MECANISMO DE TRANSMISIÓN

La diseminación fecal-oral es la principal forma de transmisión. La difusión se produce de persona a personas principalmente dentro de las familias escuelas y hospitales. (37)

2.5.-DIARREA DEL VIAJERO

Algunas veces denominada "Venganza de Moctezuma" o "Venganza del turista", es una infección entérica muy común en los que viajan de América del Norte, Europa a México y otros países de América Central y del Sur.(8,43)

2.5.1.- ANTECEDENTES

Bacteria Coli fue considerada como posible agente etiológico de enfermedades diarreicas a fines de 1800.(4)

Escherichia coli fue aislada por primera vez por Theodor Escherich, en Inglaterra en 1885.(9)

John Brayn en Inglaterra 1945, evidencio que la cepa de *E.coli* es la causante de la diarrea de verano en niños.(9)

La cepa descrita fue una *E.coli enteropatogenica* (EPEC).

En 1977 fue identificada por vez primera *E.coli enterohemorrágica*. Los primeros casos en humanos fueron reportados en 1983.(4)

2.5.2.-AGENTE INFECCIOSO

El agente causal primario es una *E.coli enteropatogenica*(EPEC), aunque se hace referencia que la causante de la diarrea del viajero es la *E.coli enterotoxigenica*(ETEC), y

que *Salmonella* y *Shigella* están involucradas en algunas ocasiones. (4)

E.coli son bacilos gram negativos, aerobios, anaerobios o facultativos, fermentan una gran cantidad de azúcares con producción o no de gas, algunos son móviles y otros carecen de flagelos, muchos forman indol, no son capaces de producir H_2S . (11)

El género *E.coli* que producen gastroenteritis se han dividido en cuatro grupos. (11)

- 1) *E.coli enterotóxigenica* (ETEC)
- 2) *E.coli enteropatógena* (EPEC)
- 3) *E.coli enteroinvasiva* (EIEC)
- 4) *E.coli enterohemorrágica* (EHEC)

2.5.3.- TAXONOMÍA

Tribu I Escherichiae de la familia enterobacteriaceae al género *Escherichia*.

E.coli fueron originalmente diferenciado por el esquema de Kauffmann en 1940. (4)

El esquema es basado en Antígeno "O" (lipopolisacaridos), Antígeno "H" (flagelar) y Antígeno "K" (polisacaridos). (4)

En la clasificación de Bergey 1974 solo se reconoce una especie de *Escherichia*, la *E.coli*.

Tienen una estructura antigénica compleja y poseen tres clases de antígenos: Somático u "O"(endotoxinas), capsulares o "K" y flagelar o "H". El antígeno somático "O" determina el grupo, siendo los serotipos caracterizados por los antígeno "K" cuando el germen es inmóvil o por la combinación de los antígenos "K" y "H" cuando son móviles. Las tres variedades de antígenos se designan por numeración arábica progresiva y el nombre del serotipo comprende los números o fórmula que corresponde a su estructura antigénica, llevando en el mismo implícitos el grupo y tipo serológico.(11)

Composición antigénica, 170 antígenos "O" son termoestables, 56 antígenos H son termolábiles y antígenos K son termolábiles y se han descrito cerca de 100 serológicamente diferentes. Existen tres tipos diferentes de antígeno "K", que se denominan con las letras L,A y B. La mayor parte de las cepas enteropatógenas tienen el antígeno K de la variedad B. (Tabla 6): Se anotan, con su fórmula antigénica completa, los principales serotipos que hasta ahora se han descrito como causantes de diarrea.(11)

Tabla 6 SEROTIPOS DE E. COLI CAUSANTES DE DIARREA

| ANTIGENO O | ANTIGENO K | ANTIGENO H* |
|------------|------------|-------------|
| 26 | 40 (B 6) | 11,32 |
| 55 | 59 (B 5) | 6,7 |
| 86 | 61 (B 7) | 11,34 |
| 111 | 58 (B 4) | 2,4,12,21 |
| 112 | 66 (B 11) | ---- |
| 119 | 89 (B 14) | 6 |
| 124 | 72 (B 17) | 30 |
| 125 | 70 (B 15) | 15,19,21 |
| 126 | 71 (B 16) | 2,27 |
| 127 | 63 (B 8) | ---- |
| 128 | 67 (B 12) | 2,7,8,9,12 |
| 142 | 86 | 6 |

tomada (9)

* Algunas cepas no son móviles y por lo tanto no tienen antígenos flagelares.

2.5.4.- PATOGENICIDAD

Característica que participan en la virulencia son:

1) La capacidad de los microorganismos para unirse y colonizar sitios específicos en el huésped.

2) La formación de toxinas que producen daño al huésped. En la actualidad es bien claro que al menos en algunos tipo de patogenicidad debido a *E.coli* cada una de estas características de virulencia presenta en los plásmidos.

La *E.coli* enteropatógena se caracteriza por una capacidad para colonizar el intestino delgado y producir una toxina que causa los síntomas de la diarrea.(9)

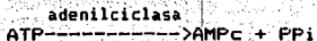
La colonización requiere la presencia de una proteína de la superficie celular llamada antígeno "K", que confiere a las células la capacidad de adherirse a las células epiteliales del intestino. Se conoce cuando menos dos toxinas en *E.coli* enteropatógena que son producidas por un plásmido.(40)

La hemolisina que lisa los eritrocitos.

Enterotoxina que induce una gran secreción de aguas y sales en el intestino responsable de la diarrea.

E.coli toxigénicas. Ciertas cepas de *E.coli* son capaces de producir por lo menos dos enterotoxinas distintas. La primera es termolábil (LT), antigénica de naturaleza proteínica, PM. 95,000, al igual que la colérica, su acción se expresa a través del

sistema Adenil ciclasa-ATP-Adenosin monofosfato cíclico más pirofosfato inorgánico (PPi). (4,8,11,12)



El AMPc induce la secreción de Cl^- inhibiendo la absorción de Na^+ creando un desequilibrio a través de la mucosa intestinal originando grandes pérdidas de estas sustancia del intestino. (8,11,12)

La segunda toxina termorresistente (ST) (35). Aparentemente esta constituida por un péptido no antigénico "per se" de PM. de 4,400 a 5,100. Su modo de acción es diferente a la LT y CT, no siendo un activador de Adenilciclasa, pero si de la Guanidilciclasa en células epiteliales del intestino. Esta enzima forma Guanosin monofosfato cíclico (GMPc), de guanosin trifosfato en una reacción análoga a la que se describe la formación de AMPc. ST no altera AMPc a este nivel que la GMPc actúa como un mediador intracelular por los cambios en el transporte de iones e inhibiendo la absorción de Cl^- resultando la pérdida de fluido del intestino. (8,12)

La producción de ambas toxinas es mediada por plasmidos, la virulencia máxima se asocia a un pilus adhesivo K:88 en lechones, K:99 en terneras y los factores CFA I y CFA II en el hombre. La enfermedad causada por ECET se produce tras un período de incubación de 1-2 días y persiste durante 3-4 días. (4,11)

Los síntomas suelen ser leves, con náuseas y vómitos asociados.

E.coli enteroinvasiva (EIEC) invade y destruye el epitelio del colon, produciendo una enfermedad que se caracteriza por fiebre y dolor abdominal, con sangre y leucocitos en heces.

La enfermedad se ha asociado a serotipos O específicos de *E.coli*. La capacidad invasiva debe confirmarse con la prueba de Sereny, en el que EIEC se inocula en el ojo del cobayo, dando lugar a queratoconjuntivitis. (11)

E.coli enterohemorrágica (EHEC), este organismo causa colitis hemorrágica (inflamación, sangrado en el colon). Se caracteriza por dolor abdominal y abundante diarrea sanguinolenta. La EHEC posee fimbrias adhesiva que permite adherirse a células epiteliales del intestino donde se produce una de las dos toxinas antigénicamente distintas (Parecida toxina I y II de Shiga). Ambas toxinas producen muerte de células epiteliales por alteración de la subunidad ribosomal 60S, resultando un cese de la síntesis de proteínas al deshacerse de las células muertas y diarrea sanguinolenta. Siendo el principal serotipo de este grupo de *E.coli* es O157:H7. (6,11)

2.5.5.- EPIDEMIOLOGIA

No se comprende totalmente el papel de *E.coli* en la enfermedad diarreica en los EE.UU. una estimación habla de una incidencia de 4% de diarrea por *E.coli* en niños. No se cuenta con estimaciones para la población adulta. Sin embargo, está claro que la *E.coli enteropatógenas* son causas importantes de diarrea en niños de países no desarrollados donde la higiene y salud pública son deficientes, y epidemias en recién nacidos.(4,9)

La *E.coli enterotoxigenica* son un causa principal de la diarrea del viajero que ocurre cuando personas de países desarrollados viajan a una región endémica. Un estudio prospectivo de 73 médicos y 48 familiares asistentes a un congreso médico en México demostró que se produjo diarrea del viajero en el 49%. La *E.coli* enterotóxica fue la causa más común. Otro informe de estudiantes de EE.UU. que habían llegado recientemente de México indico que 40% de los casos de diarrea se debió a *E.coli* enterotoxigenica.(9)

E.coli enterotoxigenica son la causa principal de diarrea en el adulto en particular la llamada "diarrea del viajero" o "turista".(54) Diversos estudios realizados en México señalan una incidencia de *coli* toxigenica es del 46 al 72%, o de 50 a 65% muy superior a la de los agentes clásicos como *Salmonella* y *Shigella* que es 10 a 20%(4,6)

En el caso de *E.coli* invasora , hasta el momento sólo se han descrito unos cuantos brotes de diarrea.

E diversos estudios realizados en México se han encontrado prácticamente todos los serotipos enteropatógenos descritos. Aunque con predominio de *E.coli* O111: K 58 (B4), *E.coli* O127: K 63 (B8), *E.coli* O126: K 71 (B6) y *E.coli* O142: K 86 : H6 (32).(9)

2.5.6.- MECANISMO DE TRANSMISIÓN

En los casos de EIEC, EPEC, EHEC la diseminación es usualmente fecal-oral, por contaminación con materia fecal de alimentos y agua al igual para ETEC pero además la transmisión puede producirse también de persona a persona.(4)

2.6.- SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS POR EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER.

A fines de la década de 1950, las determinaciones de susceptibilidad a los antimicrobianos en los laboratorios de microbiología de todo el mundo se efectuaban en medio del caos general, principalmente debido a la falta de un método estándar aceptable. Con el objeto de investigar este problema, se formó un comité de la Organización Mundial de la Salud cuyas deliberaciones proporcionaron los principios fundamentales que condujeron al desarrollo de las técnicas estándares de Anderson primero y Kirby-Bauer después. (20)

EL NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) hace referencia de que se pueden obtener resultados más confiables con las pruebas de difusión en disco cuando se usa una metodología estandarizada y la medición del diámetro de la zona se correlaciona con la concentración inhibitoria mínima y la conducta de las cepas entre las especies conocidas como clínicamente susceptible y resistentes.

El método estandarizado recomendado por el Subcomité en Pruebas de Susceptibilidad por Difusión en Disco del NCCLS, está basado en el descrito por Bauer et al. Este método se considera el más ampliamente descrito ya que está sustentado por estándares interpretativos basados en investigaciones clínicas y la

recopilación de los datos de laboratorio. El método se acepta para las bacterias patógenas de crecimiento rápido, tales como *Staphylococcus aureus*, miembros de las Enterobacteriaceae y *Pseudomona aeruginosa*.(19)

La amplia utilización y la importancia que tienen en la actualidad las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos han hecho necesario el control de la metodología empleada, material, así como los reactivos utilizados, por lo tanto es recomendable tener estandarizada una metodología como la de Kirby-Bauer.

Para implementar un control de calidad de la metodología de Kirby-Bauer y de los discos de antibióticos es necesario contar con las tablas de referencia y con los microorganismos cuya susceptibilidad a los antibióticos este bien determinada.

Se recomienda el uso de las cepas controles de American Type Collections Culture (ATCC[®]): *E.coli* (ATCC[®] 25922), *S.aureus* (ATCC[®] 25923), *P.aeruginosa* (ATCC[®] 27853) empleadas como control de la técnica de Kirby-Bauer y de los discos con Antibióticos y de las que se cuenta con un patrón de susceptibilidad para cada antibiótico.(19)

Tabla 7 LIMITES PARA EL CONTROL DE CALIDAD DE LAS PRUEBAS DE SENSIBILIDAD CON DISCO. DIÁMETRO DE LA ZONA (mm). LIMITES PARA LAS PRUEBAS INDIVIDUALES CON EL MEDIO DE CULTIVO MUELLER HINTON.

| AGENTES ANTIMICROBIANO | CONTENIDO DEL DISCO EN µg. | <i>S. coli</i> (ATCC 25922) | <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27852) | <i>S. aureus</i> (ATCC 33219) |
|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Amitocina | 30 | 19-30 | 18-24 | 20-26 |
| Ampicilina | 10 | 14-22 | - | 27-35 |
| Ampicilina/Sulbactam | 10/10 | 20-24 | - | 19-27 |
| Azoxilol | 75 | - | 24-30 | - |
| Acetaminofen | 30 | 20-26 | 22-29 | - |
| Carbenicilina | 100 | 22-29 | 18-24 | - |
| Cefadroxil | 30 | 24-32 | - | 24-34 |
| Cefazolin | 30 | 22-29 | - | 29-38 |
| Cefepime | 30 | 28-29 | - | 22-28 |
| Cefuroxima | 75 | 20-26 | 22-29 | 24-32 |
| Cefotaxim | 30 | 29-38 | 18-22 | 28-31 |
| Cefotetan | 30 | 28-29 | - | 17-22 |
| Cefositin | 30 | 22-29 | - | 22-29 |
| Ceftazidim | 30 | 22-32 | 22-29 | 14-20 |
| Ceftioxit | 30 | 20-24 | 12-17 | 27-35 |
| Ceftriaxona | 30 | 29-35 | 17-22 | 22-28 |
| Cefuroxima | 30 | 20-26 | - | 27-35 |
| Cefalotina | 30 | 17-22 | - | 20-27 |
| Diamorfonicol | 30 | 17-21 | - | 19-24 |
| Cinoxazina | 100 | 24-32 | - | - |
| Cilindacina | 2 | - | - | 24-30 |
| Dexicilina | 30 | 18-24 | - | 22-29 |
| Eritromicina | 15 | - | - | 22-30 |
| Sulfatoxina | 10 | 19-24 | 14-21 | 19-27 |
| Isoxano | 10 | 24-32 | 20-28 | - |
| Kanamicina | 30 | 17-22 | - | 19-24 |
| Melicilina | 5 | - | - | 17-22 |
| Melicilina | 75 | 22-29 | 19-25 | - |
| Minoxilina | 30 | 19-25 | - | 20-30 |
| Neomicina | 30 | 28-30 | 17-22 | 18-24 |
| Neomicina | 1 | - | - | 14-22 |
| Acido Nalidixico | 30 | 22-28 | - | - |
| Nalidixina | 30 | 22-30 | 17-22 | 22-31 |
| Nitrofurantoina | 300 | 20-25 | - | 18-22 |
| Norfloxacina | 10 | 28-32 | 22-29 | 17-22 |
| Oxacilina | 1 | - | - | 18-24 |
| Penicilina G | 10 unites. | - | - | 24-37 |
| Piperacilina | 100 | 24-30 | 20-25 | - |
| Estreptomicina | 10 | 12-20 | - | 14-22 |
| Sulfanilamida | 250 a 300 | 18-24 | - | 24-34 |
| Tetraciclina | 30 | 18-25 | - | 19-28 |
| Ticarcilina | 75 | 24-30 | 22-28 | - |
| Trimetoprima | 10 | 18-24 | 19-25 | 19-29 |
| Trimetoprima | 5 | 21-28 | - | 19-24 |
| Trimetoprima/Sulfametoxazol | 1.25/23.75 | 24-32 | - | 24-32 |
| Vaccina | 30 | - | - | - |

tomada (19)

III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a los altos índice de las enfermedades diarreicas aguda como es la *Salmonelosis*, *Shigelosis* (Disenteria bacilar), *Yersiniosis*, y actualmente el ingreso del *Cólera* a nuestro país y en los malos hábitos higiénicos ha traído consigo la implementación de técnicas de aislamientos de los agentes etiológicos causante de este problema de salud pública y para la confirmación de: *Salmonella*, *Shigella*, *Y. enterocolitica*, y *V. cholerae* O1, en Adultos con diarrea aguda.

IV.- OBJETIVOS

1.- Conocer la frecuencia del aislamiento de los agentes etiológicos que causan diarrea invasiva como son: *Salmonella*, *Shigella* y *Y. enterocolitica*, así como los que producen diarrea no invasiva como es el *V. cholerae* O1. En adultos con diarrea aguda.

2.- Confirmar el aislamiento e identificación por medio de pruebas bioquímicas y pruebas serológicas.

3.- Realizar pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por el método de Kirby-Bauer.

V.- MATERIAL Y METODOLOGÍA

Material el común utilizado en el Laboratorio de Bacteriología.

Reactivos y Medios de Cultivos

Medio de Cultivos

Cary Blair

Agua Peptonada alcalina (APA)

Caldo de Tetracionato

Agar Mac-Conkey

Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)

Agar Salmonella Shigella (SS)

Agar Sulfito de Bismuto (ASB)

Agar Verde Brillante (AVB)

Agar Tiosulfato, Citrato, Bilis, Sacarosa (TCBS)

Kliger o Triple Azúcar Hierro agar (TSI)

Medio de Lisina Hierro agar (LIA)

Urea

Medio de Movilidad, Indol, Ornitina (MIO)

Citrato de Simmons

Arginina

Agar de Mueller Hinton

Agar Nutritivo

Caldo de soya triticaseína (CST)

Reactivos:

Solución salina

Agua destilada

Hidróxido de Sodio 1N

Reactivo de Erlich o de Kovacs

Discos de papel filtro impregnado de N,N,N,N-tetrametil p-feniléndiamina

Solución yodada

Unidiscos para Antibiograma: Tetraciclina

Cloranfenicol

Ampicilina

Sulfametoxazol

Trimetoprim

Antisuero polivalente para *Salmonella* (A-E), Antisuero somáticos del Grupo (A,B,C,D y E)

Antisueros para *Shigella*

Polivalente del Grupo A (*S. dysenteriae*)

Grupo B (*S. flexneri*)

Grupo C (*S. boydii*)

Grupo D (*S. sonnei*)

Antisuero polivalente para *V. cholerae* O1

Metodología

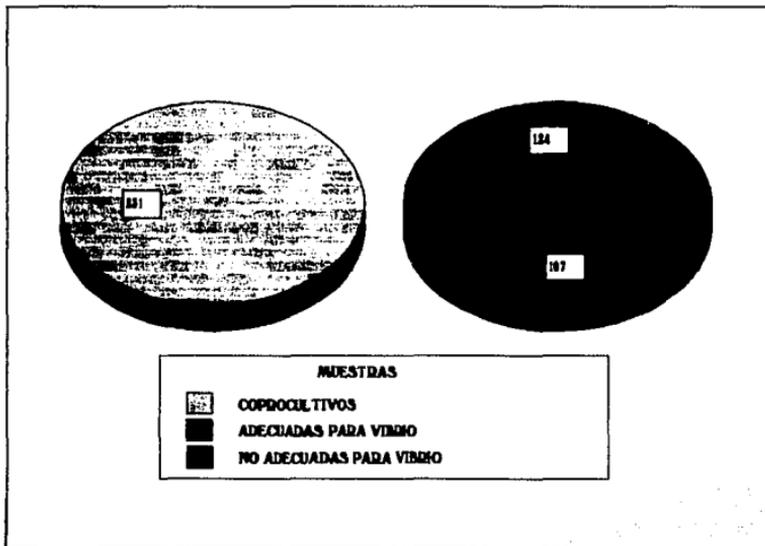
Se trato de un estudio Experimental Prospectivo en el cual se usaron los siguientes Criterio de Inclusión a 231 pacientes con diarrea aguda, 218 años, y Criterio de Exclusión a 85 pacientes que no presentaron las características mencionadas.

En el presente estudio se incluyeron 231 pacientes adultos que cursaron con diarrea aguda de Mayo 1993 a Mayo de 1994 en el HOSPITAL GENERAL "DR. MIGUEL SILVA" En Morelia Michoacan.

Las muestras se obtuvieron en Hisopo rectal en medio de transporte Cary-Blair, procedente de los servicios: Urgencias, Consulta Externa y Medicina interna.

Se practicaron 231 Coprocultivo para la búsqueda de *Salmonella*, *Y. enterocolitica* y *Shigella* y de estas 231 muestras solamente a 124 se le practico búsqueda de *V. cholerae* y las 107 restante no fueron muestras adecuadas para *Vibrio*. (Gráfica 1)

GRAFICA 1. MUESTRAS PROCESADAS PARA AISLAMIENTO DE ENTEROPATOGENOS EN ADULTOS CON DIARREA AGUDA



5.1.- Aislamiento de *Salmonella*, *Y. enterocolitica* y *Shigella*.

1.- El Hisopo rectal en medio de Cary-Blair se siembra directamente en medios de baja selectividad MC, EMB, y SS, por el método de estría cruzada, se incuban de 18-24hr. a 37°C, en el caso del MC está se incuba de 24 a 48hr. a 22-25°C.

2.- El caldo de enriquecimiento Tetrationato se inoculó colocando del Hisopo dentro del tubo adicionando dos gotas de soln. yodada se incuba de 18-24hr. a 37°C. Y se resiembran en AVB y ASB y se incuban la primera 18-24hr. y la segunda a 48hr. a 37°C. (52) Pasado en tiempo de incubación se revisaron las cajas de SS, MC, EMB en esta se seleccionaron colonias lactosas negativas, en ASB colonias centro negro translúcido, halo negro alrededor de la colonia brillo metálico, en AVB colonias blancas rosadas. (Tabla B) (2)

A las colonias sugerentes de *Salmonella*, *Y. enterocolitica* y *Shigella* se procede a realizar pruebas bioquímicas: Kliger o TSI, MID, LIA, CIT. UREA. y se incuban 18-24hr. a 37°C y para *Y. enterocolitica* una serie de bioquímica se incuba a 22-25°C.

5.2.- Aislamiento de *V.cholerae* O1

1.- Hisopo rectal en medio de transporte Cary-Blair se inocula directamente en TCBS se incuba 18-24hr. a 37°C.

2.- En el enriquecimiento APA se inoculó colocando el hisopo dentro del tubo se incuba de 6-8hr. a 37°C. El APA debe ser subcultivado después de no más de 8hr. en TCBS se incuba de 18-24hr. a 37°C.

3.- Después de la incubación en el TCBS se pueden observar colonias amarillas lisas brillantes (Tabla B).

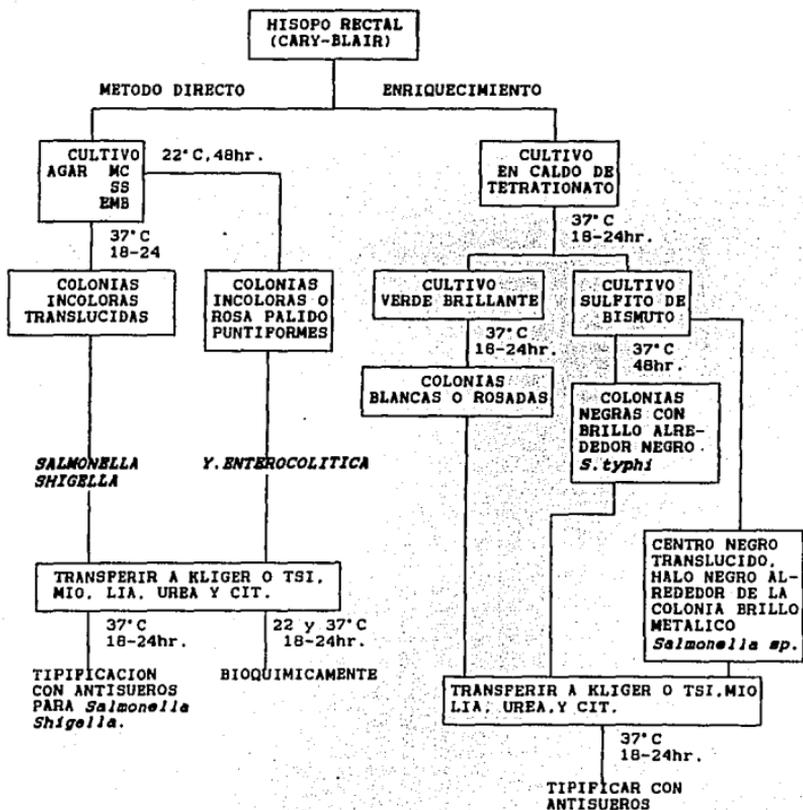
A las colonias sugerentes de *V.cholerae* se le realiza pruebas de bioquímicas: Kliger o TSI, MIO, UREA, CIT., LIA, Arg., se realiza un aislamiento en M.H para realizar la prueba de la oxidasa.

Tabla 8 MEDIOS DE CULTIVO SELECTIVOS Y DIFERENCIALES

| ORGANISMOS | AGAR MAC-CONKEY | AGAR S.S. | AGAR SULFITO DE BISMUTO | AGAR VERDE BRILLANTE | AGAR TCBS |
|----------------------------|---|------------------------------------|--|--------------------------------|---------------------------------|
| TIPOS DE COLONIAS | | | | | |
| <i>Shigella</i> | Convexa, Incolora, 2-3 mm | Incolora Translúcida, 1-2 mm | ---- | ---- | ---- |
| <i>Salmonella</i> | Idem. | Incolora Translúcida, 1-2 mm | Centro negro borde translúcida, halo negro, alrededor de la colonia, brillo metálico a 48 hrs. | Bianca rosada opaca, 1-3 mm | ---- |
| <i>Y. enterocolitica</i> | Incolora o rosa pálido 2 mm (48 hrs) | ---- | ---- | ---- | ---- |
| <i>V. cholerae</i> | ---- | ---- | ---- | ---- | Amarilla brillante 2-3 mm |
| <i>V. parahaemolyticus</i> | ---- | ---- | ---- | ---- | Azul verdosa |

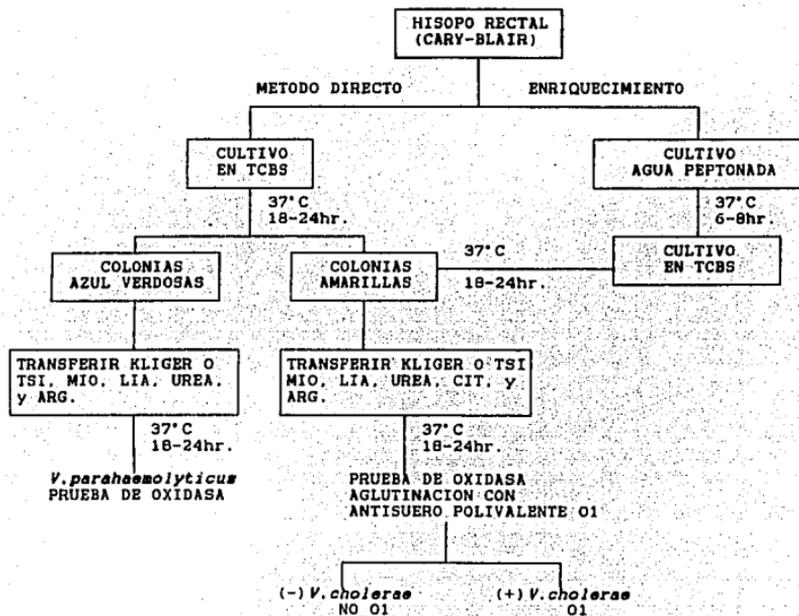
tomada (2)

FIGURA. 5 ESQUEMA DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACION PARA SALMONELLA, Y. ENTEROCOLITICA Y SHIGELLA



tomada (2, 52)

FIGURA. 6 ESQUEMA DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACION PARA *V. CHOLERAE*.



tomada(17)

5.3.- Se realiza confirmación Serológica.

5.3.1.- Para *Salmonella*

1.- Del TSI o Kligler se siembra en M.H o AN en forma masiva se incuba de 18-24hr.a 37°C.

2.- Se realiza una suspensión de las colonias de *Salmonella* en solución salina (0.2ml).

3.- En un porta objeto limpio se coloca una gota de suspensión y una gota del Polivalente de *Salmonella* (A-E). En los casos de que la cepa no aglutine con el polivalente y es bioquímicamente sugerente de *Salmonella*. Se procede a calentar a ebullición colocando 0.5ml de la suspensión concentrada en un tubo con tapón de rosca en baño maría de 15-30 min. o hasta una hr. Se enfría y se vuelve a probar el Polivante como se indica en el paso 3. Entonces se mezclan las dos gotas con un aplicador y se oscila el porta objeto suavemente con la mano durante un min. colocando la placa sobre una lámpara y se observa si hay o no aglutinación.

4.- Si hay aglutinación se procede a probar los antisueros somáticos de los Grupo(A,B,C, ,C, D y E). como se indica en el paso 3.

5.- Se coloca el porta objeto sobre una lámpara y se observa si hay o no aglutinación.

5.3.2.- Para *Shigella*.

1.- Del TSI o Kligler se hace una suspensión de las colonias de *Shigella* en solución salina y en un porta objeto limpio se coloca una gota de la suspensión y una gota de los antisueros para *Shigella* como es el Polivante Grupo A *S.dysenteriae*, Grupo B *S.flexneri*, Grupo C *S.boydii*, Grupo D *S.sonnei*.

2.- Se mezclan las dos gotas con un aplicador y se oscila el porta objeto por un minuto.

3.- Se coloca el porta objeto sobre una lámpara y se observa si hay o no aglutinación con cada uno de los grupos.

5.3.3.- Para *V.cholerae*.

1.- De el Aislamiento realizado en M.H o AN se le realiza la prueba de oxidasa en discos de N,N,N,N-tretametil p-feniléndi-amina, esta se realiza tomando una colonia de *V.cholerae*, con un aplicador de madera y se coloca sobre el disco para oxidasa.

2.- Del TSI o Kligler o del aislamiento en el paso 1, se realiza una suspensión en solución salina del las colonias de *V.cholerae*.

3.- En un porta objeto limpio se colocan una gota de la suspensión y una gota del polivalente para *V.cholerae* O1.

4.- Se mezclan las dos gotas con un aplicador y se oscila el porta objeto por un min.

5.- Se coloca el porta objeto sobre una lámpara y se observa si hay o no aglutinación con el polivalente para *V.cholerae* O1.

5.4.- Antibiograma

Susceptibilidad a los antimicrobianos por el método de Kirby-Bauer.

1.- Con una asa se toman 3 a 4 colonias puras de *Salmonella*, *Shigella* y *V.cholerae* O1.

2.- Se transfieren a tubo con 3 a 6 ml (CST).

3.- Se incuban de 3 a 4hrs. Hasta alcanzar la turbidez del estándar de referencia.

El estándar de referencia equivalente al estándar Núm. 0,5 de Mac-Farland, esto equivale aproximadamente 10^8 organismo/ml.

El estándar se prepara de la siguiente manera 0.5ml de BaCl₂ 0.048M y completando un volumen de 10ml con una solución de H₂SO₄ 0.3N.

4.- La comparación de turbidez entre el estándar y el caldo con el organismo de *Salmonella*, *Shigella* y *V.cholerae* O1, se efectúa mirándolos contra una cartulina blanca con líneas negras horizontales.

Si es necesario ajustar porque sea menor al estándar, se vuelve a incubar, si la turbidez de la suspensión es mayor que la del estándar agregar más caldo estéril.

5.- Lista la suspensión bacteriana se sumerge un hisopo y antes de retirarlo eliminar el exceso del líquido haciendo rotar el hisopo contra la pared interna del tubo.

6.- Inocular con este hisopo la superficie del medio de M.H a temperatura ambiente con cada uno de los microorganismos antes mencionados, esta inoculación se hace estriado con el hisopo en por lo menos en tres direcciones, dando vuelta a la placa en ángulos de aproximadamente de 60° luego de cada estria.

7.- Se deja secar la placa unos segundos después de descargar y se colocan los discos de antibiograma, con una pinza y presionarlos.

8.- Se incuban las placas a 37°C a 18 a 24hrs.

9.- Se mide el diámetro del halo de inhibición y reportar de acuerdo a las consideraciones de interpretación estandarizadas.

VI. - RESULTADOS.

En la tabla 9 se representa la distribución de las muestras con respecto a los servicios, observando el mayor porcentaje de pacientes en el Servicio de Urgencias, siguiendo el de Consulta Externa y por último fué el de Medicina Interna.

Tabla 10 se representa la distribución de las muestras de acuerdo a la edad, observando el mayor porcentaje en el rango de 20-50 años de edad, siguiendo los de 51-80, y observandose un marcado decremento en el rango de edad >81 años.

Tabla 11 se representa la distribución de las muestras de acuerdo al sexo, observando el mayor porcentaje en el sexo femenino y menor porcentaje al sexo masculino.

Tabla 12 se representa la distribución de las muestras de acuerdo a tipo de evacuaciones, observando el mayor porcentaje en las evacuaciones sin moco y sangre, siguiendo las evacuaciones con moco y sangre y finalmente las evacuaciones blanquecinas.

Y también se representa a los tipos de evacuaciones que se excluyeron como fué intoxicación por alimentos, diarrea crónica y por último a la de previo antibiótico.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla 13 se representa la distribución de las muestras de acuerdo a los signos, observando que el mayor porcentaje fué el vómito, siguiendo dolor abdominal, náusea, deshidratación, fiebre, meteorismo, cefalea y calambre y en menor porcentaje tenesmo, mareo y flatulencia

Tabla 9 DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS DE ACUERDO A LOS SERVICIOS DE MAYO 93 A MAYO DEL 94.

| | NÓM. | % |
|------------------|------|------|
| CONSULTA EXTERNA | 75 | 32.5 |
| URGENCIAS | 105 | 45.4 |
| MEDICINA INTERNA | 51 | 22.1 |
| TOTAL | 231 | 100 |

Tabla 10 DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS DE ACUERDO A LA EDAD DE MAYO 93 A MAYO DEL 94.

| EDAD (AÑOS) | NÚM. | % |
|-------------|------|------|
| ≥ 18 | 10 | 4.3 |
| 20 - 30 | 40 | 17.3 |
| 31 - 40 | 51 | 22.1 |
| 41 - 50 | 48 | 21.0 |
| 51 - 60 | 35 | 15.1 |
| 61 - 70 | 24 | 10.4 |
| 71 - 80 | 15 | 6.5 |
| 81 - 90 | 6 | 2.6 |
| ≥ 91 | 2 | 0.9 |
| TOTAL | 231 | 100 |

Tabla 11 DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS DE ACUERDO AL SEXO DE MAYO 93 A MAYO DEL 94.

| | NÚM. | % |
|-----------|------|------|
| MASCULINO | 89 | 38.5 |
| FEMENINO | 142 | 61.5 |
| TOTAL | 231 | 100 |

Tabla 12 DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS DE ACUERDO AL TIPO DE EVACUACIONES DE MAYO 93 A MAYO DEL 94.

| | NÚM. | % |
|------------------------|------|------|
| BLANQUECINAS | 20 | 6.3 |
| CON MOCO Y SANGRE | 27 | 8.5 |
| SIN MOCO Y SANGRE | 184 | 58.2 |
| CON PREVIO ANTIBIÓTICO | 25 | 8.0 |
| INTOXICACIÓN ALIMENTOS | 30 | 9.5 |
| CRÓNICA | 30 | 9.5 |
| TOTAL | 316 | 100 |

Tabla 13 DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS DE ACUERDOS A LOS SIGNOS DE MAYO 93 A MAYO DEL 94.

| | NÚM. | % |
|-----------------|------|------|
| CEFALEA | 18 | 5.6 |
| CALAMBRE | 17 | 5.3 |
| DESHIDRATACION | 30 | 9.3 |
| DOLOR ABDOMINAL | 55 | 17.1 |
| FIEBRE | 23 | 7.2 |
| FLATUENCIA | 2 | 0.6 |
| MAREO | 5 | 1.5 |
| NAUSEA | 31 | 9.6 |
| METEORISMO | 22 | 7.0 |
| TENESMO | 6 | 2.0 |
| VOMITO | 112 | 34.8 |
| TOTAL | 321 | 100 |

Tabla 14 se representan los resultados obtenidos de las pruebas de bioquímicas realizadas a los agentes etiológicos - aislados como fue *Salmonella*, *Shigella*, *V.cholerae* y *E.coli*.

También se representa la bioquímica de *V.enterocolitica*, que fue aislada en una muestra de Control de calidad de la Asociación de Bioquímica Clínica en el D.F.

Tabla 15 y Grafica 2 observamos que *V.cholerae O1* es que se se confirmo en mayor porcentaje, siguiendo *Shigellas* y por último *Salmonella*.

Grafica 3 se representa los números de casos por mes observando para *V.cholerae O1* los meses de Junio a Agosto, para *Shigella* fueron los meses de Julio a Septiembre, Noviembre a Enero y Marzo, para *Salmonella* fueron los meses de Junio a Noviembre y Marzo a Abril.

Tabla 14 DIFERENCIACION DE LOS AGENTES ETIOLOGICO AISLADOS MEDIANTE PRUEBAS BIOQUIMICAS EN EL PERIODO DE MAYO 93 A MAYO DEL 94.

| | KLIGER | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|--------|-----|------------------|------|-----|---|---|---|-----|------|-----|-----|
| | GRAD | FON | H ₂ S | GAS | LIA | M | I | O | CIT | UREA | ARG | OXI |
| <i>SALMONELLA</i> | K | A | +(d) | +(d) | K/K | + | - | + | + | - | - | - |
| <i>S.dysenteriae</i> | K | A | - | - | K/A | - | d | - | - | - | - | - |
| <i>S.flexneri</i> | K | A | - | ** | K/A | - | d | - | - | - | - | - |
| <i>S.boydii</i> | K | A | - | *** | K/A | - | d | - | - | - | - | - |
| <i>S.sonnei</i> | K | A | - | - | K/A | - | d | - | - | - | - | - |
| <i>Y.enterocolitica</i> | K | A | - | - | K/K | v | d | + | - | + | - | - |
| <i>V.cholerae</i> | K | A | - | - | K/K | + | + | + | + | - | - | + |
| <i>E.coli</i> | (A)K | A | - | + | K/K | v | d | + | - | - | - | - |

*Símbolos: K=Reacción alcalina (roja); A=reacción ácida (amarilla); + = reacción positiva; - = reacción negativa; d = tipos bioquímicos diferentes y v = reacción variable (*Y.enterocolitica* es móvil a 25° C pero no a 37° C).

** Algunas *S.flexneri* serotipo 6 producen gas.

*** Los serotipos 13 y 14 gas positivos.

Bioquímicamente se aislaron las siguientes cepas:

13 *Shigellas sp.*, 10 *Salmonellas sp* y 31 *V.cholerae*

Y serológicamente : de las 13 *Shigella*, 2 *S. dysenteriae*, 8 *S.flexneri*, y 3 *S.sonnei*.

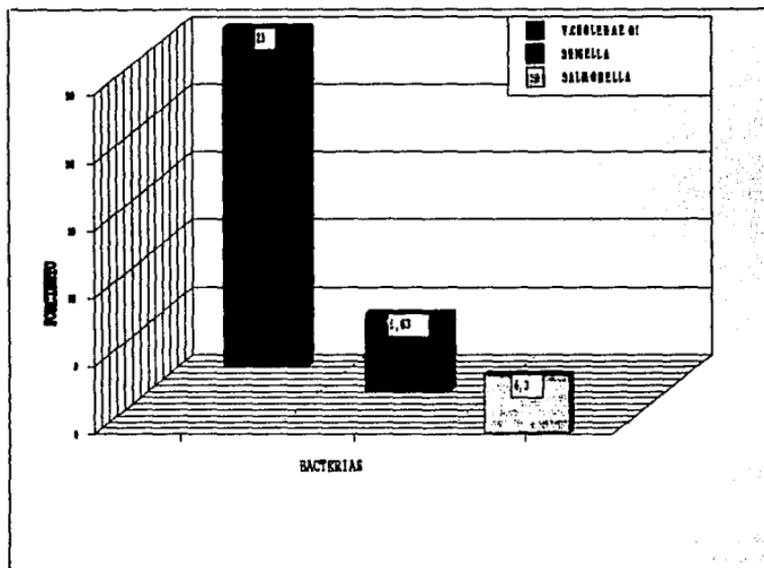
De las 10 *Salmonellas*, 2 correspondieron al Grupo A, 1 al Grupo C₁, 3 al Grupo D y 4 como *Salmonella sp.*

De las 31 cepas de *V.cholerae* estas todas correspondieron a *V.cholerae O1*.

Tabla 15 AGENTES ETIOLOGICOS AISLADOS Y CONFIRMADOS EN ADULTOS CON DIARREA AGUDA, EN EL HOSPITAL GENERAL "DR.MIGUEL SILVA" DE MORELIA MICHOACAN EN EL PERIODO DE MAYO 93 A MAYO DEL 94.

| BACTERIAS | NÚM. AISLAMIENTOS | % |
|----------------------|----------------------|-------|
| <i>SALMONELLA</i> | 10 (231) | 4.3 |
| <i>SHIGELLA</i> | 13 (231) | 5.63 |
| <i>V.CHOLERAЕ O1</i> | 31 (124) | 25.0 |
| TOTAL | 54 (231) | 34.93 |

GRAFICA 2. PORCIENTOS DE LOS AGENTES ETIOLOGICOS AISLADOS EN ADULTOS CON DIARREAS AGUDAS DE MAYO 93 A MAYO DEL 94



GRAFICA 3. CASOS AISLADOS POR MES, EN ADULTOS CON DIARREA AGUDA DE MAYO 93 A MAYO DEL 94.

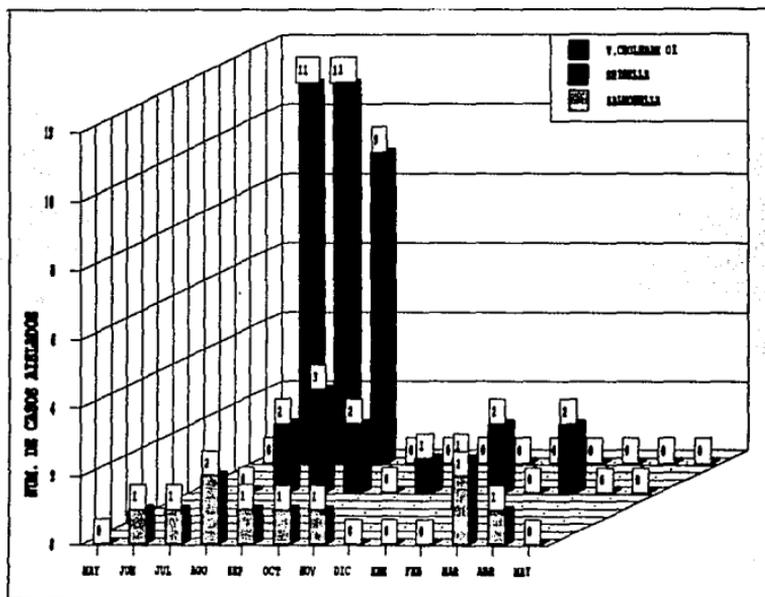


Tabla 16 se representa el porcentaje de los agentes etiológicos aislados y confirmados, observando el mayor porcentaje para *V.cholerae O1* siguiendo *Shigella* y por último *Salmonella*, también se representan otros agentes etiológicos no confirmados observando el mayor porcentaje en *E.coli*, siguiendo en orden decreciente los siguientes agentes etiológicos *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Citrobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Edwardsiella*, *Arizona*, y *Pseudomona sp.*

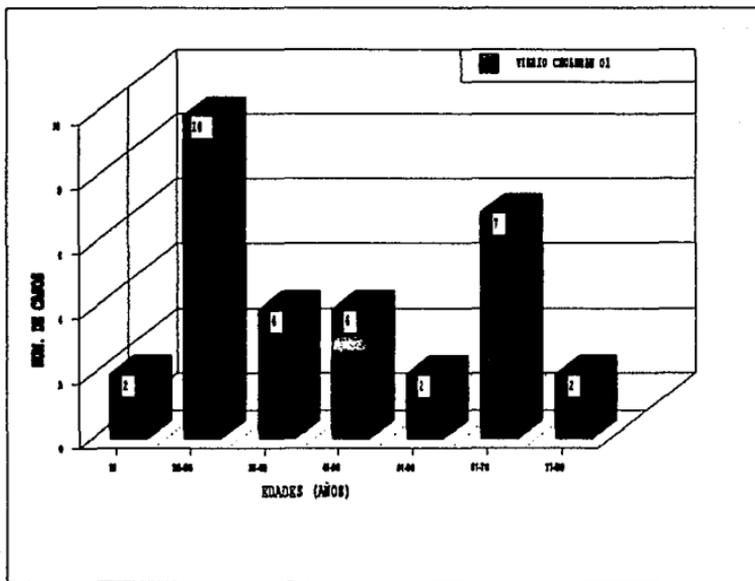
Grafica 4 se representa la edad de presentación de *V.cholerae O1* con respecto a número de casos, observando en mayor números de casos en el rango de 20-30 años, siguiendo 61-70, y en igual números de casos los rango de 31-50 y finalmente los rangos de 19, 51-60 y 71-80 años.

Grafica 5 se representa la edad de presentación de *Shigella* con respecto a números de casos, observando el mayor números de casos en el rango de edad de 41-50 años, siguiendo en igual números de casos los rangos de 20-30 y 61-70 años.

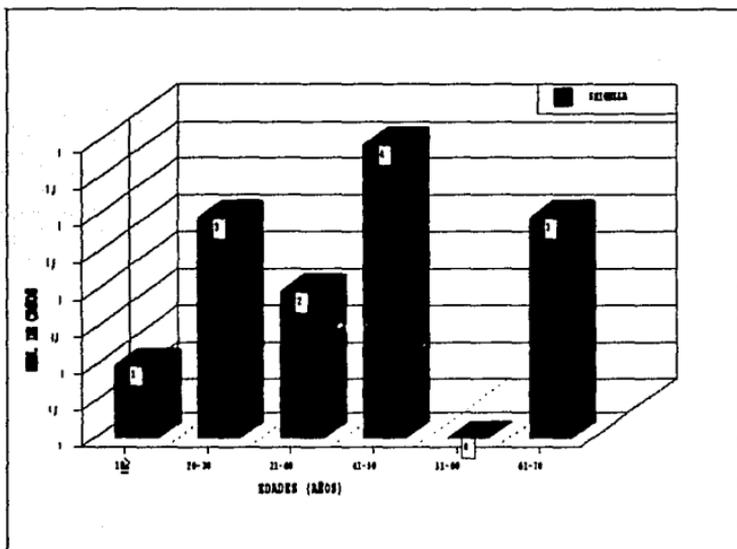
Tabla 16 AGENTES ETIOLÓGICOS AISLADOS Y CONFIRMADOS EN ADULTOS CON DIARREA AGUDA Y OTROS ENTEROPATÓGENOS, EN MAYO 93 A MAYO DEL 94.

| BACTERIAS | NÚM. AISLAMIENTOS | % |
|--------------------------|----------------------|------|
| <i>SALMONELLA</i> | 10 | 4.3 |
| <i>SHIGELLA</i> | 13 | 5.63 |
| <i>V.CHOLERAЕ 01</i> | 31 | 25.0 |
| <i>Y. ENTEROCOLITICA</i> | 0 | 0.0 |
| <i>E. COLI</i> | 116 | 50.2 |
| <i>PROTEUS SP</i> | 33 | 14.3 |
| <i>KLEBSIELLA SP</i> | 22 | 9.5 |
| <i>CITROBACTER SP</i> | 4 | 1.7 |
| <i>ENTEROBACTER SP</i> | 4 | 1.7 |
| <i>SERRATIA SP</i> | 2 | 0.9 |
| <i>EDWARSIELA</i> | 2 | 0.9 |
| <i>ARIZONA</i> | 1 | 0.4 |
| <i>PSEUDOMONA SP</i> | 1 | 0.4 |

GRAFICA 4. EDAD DE PRESENTACION DE V.CHOLERAE 01.



GRAFICA 5. EDAD DE PRESENTACION DE SHIGELLA.



Grafica 6 se representa la edad de presentación de *Salmonella* con respecto al números de casos, observando el mayor números de casos en los rangos de edad de 31-40 años siguiendo en igual números de casos los rangos de 41-50 y 72-80, y finalmente y en igual números de casos los rangos de 20-30 y 51-60 años.

Tabla 17 se representa los grupos de *Salmonella*, observando el mayor porcentaje en los de otros grupos o como *Salmonella sp.* siguiendo el Grupo D, Grupo B y en menor porcentaje el Grupo C .

Tabla 18 se representa los grupos de *Shigella* , observando el mayor porcentaje en el Grupo B (*S.flexneri*), siguiendo del Grupo C (*S.sonnei*), y menor porcentaje el Grupo A (*S.dysenteriae*).

GRAFICA 6. EDAD DE PRESENTACION DE SALMONELLA

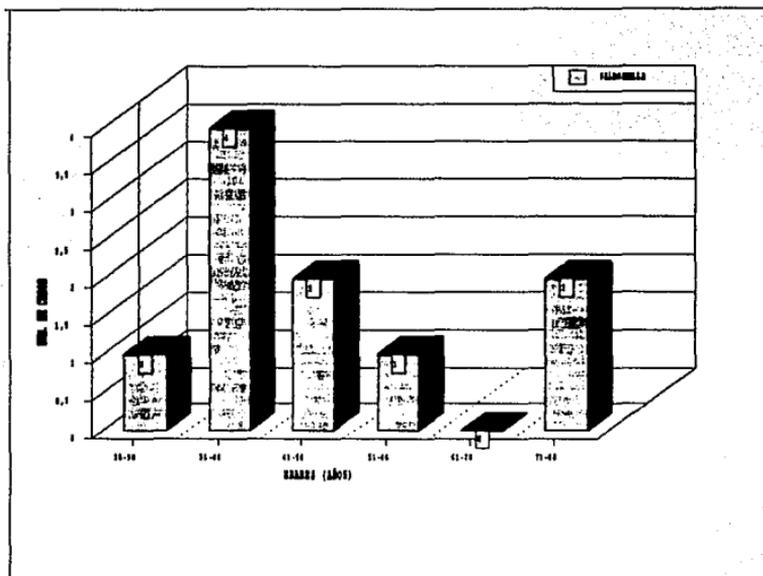


Tabla 17 GRUPOS MAS FRECUENTES DE *SALMONELLA* EN EL HOSPITAL GENERAL "DR.MIGUEL SILVA DE MORELIA MICHOACAN DE MAYO 93 A MAYO 94.

| <i>SALMONELLA</i> | NÚM. | % |
|--------------------------------|------|------|
| GRUPO B | 2 | 0.86 |
| GRUPO C ₁ | 1 | 0.43 |
| GRUPO D | 3 | 1.29 |
| OTRAS <i>SALMONELLA SP.</i> | 4 | 1.73 |
| TOTAL | 10 | 4.33 |

Tabla 18 GRUPOS MAS FRECUENTES DE SHIGELLA, EN EL HOSPITAL GENERAL "DR.MIGUEL SILVA" DE MORELIA MICHOACAN DE MAYO 93 A MAYO DEL 94.

| <i>SHIGELLAS</i> | NÚM. | % |
|---------------------------------|------|------|
| GRUPO A <i>S.DYSENTERIAE</i> | 2 | 0.86 |
| GRUPO B <i>S.FLEXNERI</i> | 8 | 3.46 |
| GRUPO C <i>S.SONNEI</i> | 3 | 1.29 |
| TOTAL | 13 | 5.63 |

Tabla 19 se representa a *Salmonella* con respecto al sexo, observando que tanto para el sexo masculino como el femenino se encuentran en igual porcentaje (2.16%).

**Tabla 19 SALMONELLA AISLADAS
CON RESPECTO AL SEXO.**

| | NÚM. | % |
|-----------|--------|------|
| MASCULINO | 5 | 2.16 |
| FEMENINO | 5 | 2.16 |
| TOTAL | 10/231 | 4.3 |

Tabla 20 se representa a *Shigella* con respecto al sexo, observando que el mayor porcentaje de aislamiento fué en el sexo femenino y en menor porcentaje el sexo masculino.

**Tabla 20 SHIGELLA AISLADAS
CON RESPECTO AL SEXO.**

| | NÚM. | % |
|-----------|--------|------|
| MASCULINO | 4 | 1.73 |
| FEMENINO | 9 | 3.90 |
| TOTAL | 13/231 | 5.63 |

Tabla 21 se representa a *V.cholerae O1* con respecto al sexo, observando que el mayor porcentaje correspondio al sexo masculino y en menor en el sexo femenino.

Tabla 21 V. CHOLERAЕ O1 CON RESPECTO AL SEXO.

| | NÚM. | % |
|-----------|--------|-------|
| MASCULINO | 20 | 16.13 |
| FEMENINO | 11 | 9.87 |
| TOTAL | 31/124 | 25.0 |

Tabla 22 se representa a *Salmonella*, *Shigella* y *V.cholerae* O1 con respecto al sexo observando que el mayor porcentaje corresponde al sexo masculino y el menor porcentaje al sexo femenino.

Tabla 22 SALMONELLA, SHIGELLA Y V. CHOLERAЕ O1 CON RESPECTO AL SEXO.

| | SHIGELLA | SALMONELLA | V. CHOLERAЕ O1 | NÚM. | % |
|-----------|----------|------------|----------------|------|-------|
| MASCULINO | 4 | 5 | 20 | 29 | 20.0 |
| FEMENINO | 9 | 5 | 11 | 25 | 14.93 |
| TOTAL | 13 | 10 | 31 | 54 | 34.93 |

La respuesta a los 5 antibióticos probados en 13 cepas de *Shigella* se observa más del 50% de las cepas presentaron resistencia a Ampicilina y Cloranfenicol, mientras que la respuesta a Sulfametoxazol, Trimetoprim fue en más del 90% y Tetraciclina en 100% de las cepas sensibles . (Tabla 23)

Tabla 23 SENSIBILIDAD DE LOS ANTIMICROBIANOS DE 13 CEPAS DE SHIGELLAS POR EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER.

| ANTIMICROBIANOS | NÚM. DE CEPAS | % |
|-----------------|---------------|-------|
| AMPICILINA | 10 | 46.1 |
| CLORANFENICOL | 5 | 38.5 |
| TETRACICLINA | 13 | 100.0 |
| SULFAMETOXAZOL | 12 | 92.3 |
| TRIMETOPRIM | 12 | 92.3 |

Con respecto a las 10 cepas de *Salmonella*, se observa más del 50% de resistencia a Tetraciclina y Cloranfenicol, mientras que la respuesta a Ampicilina, Sulfametoxazol y Trimetoprim es de 100% de las cepas sensibles a ambos antibióticos. (Tabla 24)

Tabla 24 SENSIBILIDAD DE LOS ANTIMICROBIANOS DE 10 CEPAS DE SALMONELLA POR EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER.

| ANTIMICROBIANOS | NÚM.DE CEPAS | % |
|-----------------|--------------|-------|
| AMPICILINA | 10 | 100.0 |
| CLORANFENICOL | 6 | 60.0 |
| TETRACICLINA | 7 | 70.0 |
| SULFAMETOXAZOL | 10 | 100.0 |
| TRIMETOPRIM | 10 | 100.0 |

Con respecto a las 31 cepas de *V.cholerae* O1 estas muestran que la respuesta a Ampicilina, Cloranfenicol, Tetraciclina, Sulfametoxazol y Trimetoprim es del 100 % de las cepas sensibles a todos los antibióticos. (Tabla 25)

Tabla 25 SENSIBILIDAD DE LOS ANTIMICROBIANOS DE 31 CEPAS DE V.CHOLERAЕ O1 POR EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER.

| ANTIMICROBIANOS | NÚM. DE CEPAS | % |
|--|---------------|-------|
| AMPICILINA CLORANFENICOL TETRACICLINA SULFAMETOXAZOL TRIMETOPRIM | 31 | 100.0 |

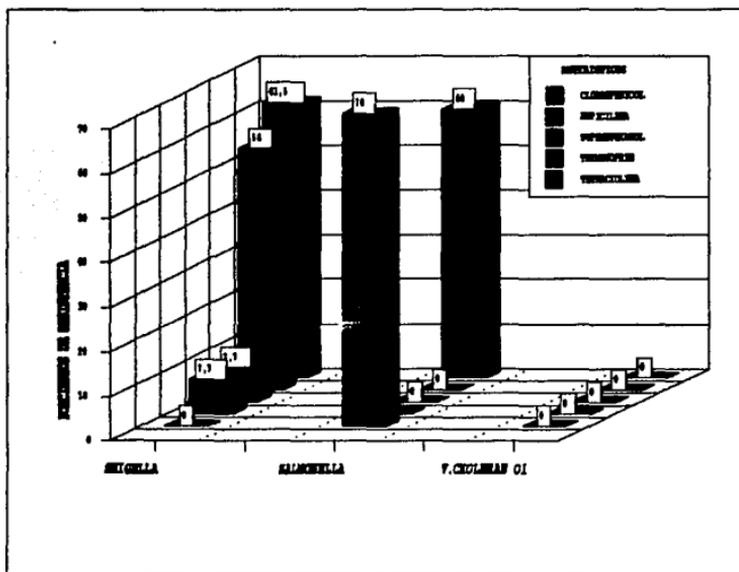
En cuanto a la frecuencia de las cepas resistentes a 2 o más de los 5 antimicrobianos probados, se observa que en los casos de *Shigella* se observa una multirresistencia de 34.7% y de 26.5% para *Salmonella* en este caso solamente se presentó resistencia a dos de los antimicrobianos como fue Cloranfenicol y Tetraciclinas. (Tabla 26)

Tabla 26 FRECUENCIA DE CEPAS MULTIRRESISTENTES EN 23 CEPAS, DE SHIGELLA Y SALMONELLA.

| MICROORGANISMO | NÚM. | % |
|-------------------|------|------|
| <i>SHIGELLA</i> | 8 | 34.7 |
| <i>SALMONELLA</i> | 6 | 26.1 |
| TOTAL | 14 | 60.8 |

En cuanto a la resistencia a los 5 antimicrobianos probados para *Salmonella*, *Shigella* y *V.cholerae O1* se observa que para *Salmonella* se presento una resistencia a Cloranfenicol de 60% y 70% a Tetraciclina, para *Shigella* se presento una resistencia a Cloranfenicol de 61.5%, Ampicilina de 54%, Sulfametoxazol y Trimetoprim de 7.7%, y para *V.cholerae O1* no se presento resistencia a los antimicrobianos usados. (Grafica 7)

GRAFICA 7. PORCIENTOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS



VIII.- DISCUSIÓN

Durante los 13 meses de duración de este estudio con respecto a la frecuencia de enteritis y disentería bacteriana que cursaron con diarrea aguda en Adultos, son muy variables los datos reportados en la literatura y esto depende de muchos factores como es la edad, el área geográfica la etapa clínica del padecimiento a la ausencia o presencia de los antimicrobianos.

La enteritis y la disentería bacteriana afecta tanto a los hombres como a las mujeres a cualquier edad, así mismo la disentería causada por *Salmonella* de acuerdo a los resultados obtenidos se observa que se presenta en igual porcentaje en el sexo masculino como en el femenino (2.16) (Tabla 19). Con respecto a la literatura el número de casos o el porcentaje es más alto en el sexo masculino que en el femenino.

Estos resultados obtenidos se deben a que el número de muestras trabajadas fueron mayor en el sexo femenino.

La disentería producida por *Shigella* no se comportó de igual manera, ya que en ésta el sexo que presentó mayor porcentajes es el sexo femenino con 3.90% (Tabla 20). Con respecto a *Shigella*

el sexo puede ser indistinto, y que se han observado incremento de *Shigella* en el sexo femenino. (47)

En la enteritis producida por *V.cholerae O1* el sexo que se ve afectado con mayor porcentaje es el sexo masculino con 16.13% (Tabla 21), lo anterior citado coincide con los reportados en la literatura, ya que el sexo masculino han estado involucrado en los tres periodos. (28)

Involucrando a *Salmonella*, *Shigella* y *V.cholerae O1*, se observa que el sexo masculino es el más afectado (Tabla 22).

Las edades involucradas en dicho estudio con respecto a *Salmonella* se encuentra un mayor números de casos en el rango de 31-40 años, siguiendo en menor números de casos 41-50 y 71-80 años (Gráfica 6).

Las edades involucradas con respecto a *Shigella* nos indica que se observa un mayor número de casos en los rangos de edades de 41-50 años, siguiendo 20-70 años (Gráfica 5).

En *V.cholerae O1* se observa que el mayor números de casos se encuentran entre las edades de 20-30 años, siguiendo la de 61-70 ,31-50 y los otros rangos de edades se encuentran en igual números de casos (Gráfica 4), lo cual coincide con lo citado. En

los estudios realizados (en el aislamiento de *V.cholerae* 0139) Blangladesh el sexo masculino es el más afectado, y las edades involucrada es >15 años (35). Coincide con los estudios realizados en México por el INDRE.SSA. (45)

En búsqueda de *Vibrio* el grupo confirmado fué del Grupo O1.

El Grupo perteneciente al género *Shigella* que presentó mayor frecuencia es el B (*S.flexneri*) y esto se puede explicar ya que el Hospital General "DR. Miguel Silva" es un nosocomio de segundo nivel y a el acuden personas de muy bajos recursos económicos y malos hábitos higiénicos, siguiendo el Grupo C (*S.sonnei*) y por último del Grupo A (*S.dysenteriae*). (Tabla 18)

Los Grupos correspondientes a *Salmonella* encontrados son los Grupos D, B, C, y otras (*Salmonella sp.*). (Tabla 17)

Solamente en un caso se encontraron involucrados dos agentes etiológicos como fué *Salmonella* y *V.cholerae*.

La frecuencia de *Salmonella* en la enfermedades diarréicas humanas es menor con respecto a *Shigella*. Sin embargo en estudios realizado en Moroni en 1987-1988, con 329 muestras fecales en niños entre 5 años se encuentran *Salmonella* (6.4%) y *Shigella* (2.4%). (42)

Los estudios hechos en México en general se encuentra *Shigella* (4-12%) y (5-20%) y *Salmonella* (4 o 5 -12%) en niños con diarrea aguda. (12)

Con respecto al alto porcentaje de *V. cholerae O1* se debió a que en 1993 la actividad epidemiológica se observa en el Altiplano Central donde se ve involucrada Morelia Michoacán. Y Junio, Julio y Agosto del 93, se aislaron cepas y éstos son los meses involucrados también en otros estudios realizados en México, (a Mayo del 94, no se habían confirmado ninguno más.)

Tanto *Salmonella* como *Shigella* muestran variaciones estacional de acuerdo a los resultados obtenidos para *Salmonella* es el verano, otoño y primavera del 94. Para *Shigella* verano, otoño, diciembre enero y principio de la primavera del 94.

La respuesta a los antimicrobianos por el método de Kirby-Bauer que mostraron las diferentes cepas indican, que *Shigella* del Grupo B (*S. flexneri*) es la que presenta más del 50% de las cepas resistentes a Ampicilina y Cloranfenicol y de 7.7% a Sulfametoxazol y Trimetoprim, Tetraciclina fue sensible en el 100% de las cepas probadas. (Tabla 23)

Con respecto a las 10 cepas de *Salmonellas*, se observa más del 50% resistente a Tetraciclina y Cloranfenicol, mientras que

la respuesta a Ampicilina, Sulfametoxazol y Trimetoprim es del 100% de las cepas sensible a ambos antibióticos. (Tabla 24)

Los que concuerdan con los reportados en estudios previos hechos en nuestro país. (32)

Las 31 cepas de *V. cholerae* O1 resultaron el 100% sensibles a los antimicrobianos estudiados.

En cuanto a la frecuencia de las cepas resistentes a 2 o más de los 5 antimicrobianos probados, se observa que en los Casos de *Shigella* se observa una multirresistencia de 34.7% y de *Salmonella* en este caso solamente es resistente a dos de los antimicrobianos usados. (Tabla 26)

IX.- CONCLUSIONES

V.cholerae O1 fue el agente etiológico encontrado con mayor frecuencia en Adultos con diarrea aguda no invasiva.

Siguiendo en frecuencia el agente etiológico *Shigella* y por último el agente etiológico *Salmonella*, en adultos con diarrea aguda invasiva.

Confirmándose por pruebas bioquímicas y serológicas

V.cholerae O1 (25%), *Shigellas* (5.63%) y *Salmonella* (4.3%).

Respecto a la alta resistencia que se presentó para *Salmonella* a Tetraciclina 70% y Cloranfenicol 60% y *Shigella* a Cloranfenicol 61.5%, Ampicilina 54%, Trimetoprim y Sulfametoxazol 7.5% se puede atribuir al uso indiscriminado de los antimicrobianos.

Una buena respuesta a los antimicrobianos vs *V.cholerae* O1.

El método de Kirby-Bauer es un método confiable práctico y rápido.

X.-COMENTARIOS

No se pudo llegar a la confirmación de los grupos de *E.coli* como son *ETEC*, *EPEC*, *EIEC* y *EHEC*, por no contar con los antisueros, además no fue la finalidad del trabajo realizado.

El control y la Prevención de Cólera Asiático, Disentería Bacilar y Salmonelosis, son importante para la salud humana, el desecho de excretas de forma higiénica para evitar la contaminación de agua y alimentos y mantener un control de los portadores. Resaltando la necesidad del saneamiento ambiental y mejorar la higiene de la población.

I.- BIBLIOGRAFÍAS

- 1.- Revista promeco Sinergia Manejo del síndrome diarreico agudo Volumen VI No. 22, mayo 1993, pg.20-22
- 2.- Manual de técnicas y procedimientos para el estudio de microorganismo enteropatógenos, por la Secretaria de Salud, México 1987.
- 3.- DR. Horacio Jinich, Síntomas y signos cardinales de las enfermedades, ed. manual moderno, México 1987, pg. 122
- 4.- Gastroenterology Clinics of North America Volumen 22 Núm.3 September 1993 pg. 483-496,499-504,517-522,549-558,609-620, 639-656.
- 5.- M.Gurgi Ferrer Disenteria Bacilar Unitat de Malalties Infeccioses Hospital de Santa Creu San Pau. Barcelona, pg.2487-2491
- 6.- Gerard J. Tortora Microbiology An Introduction Fourth Edition, pg.614-617

7.- Fezzcar Rein, Anchyan Microbiology Fourt Edition, MC Graw Hill, 1977, pg.605-607,609-611

8.- Wesley A. Volk. Basic Microbiology Seventh Edition, Harper Collins Publishers 1992, pg. 412-413, 419

9.- Francisco Mendez Dteo Microbiología Médica Tomo I, México 1981, pg. 498, 520-523

10.- Zinsser Bacteriología 18^{ma} Edición, Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires 1993, pg.699-715,744-745

11.- P. Murray, W.Drew, G.Kobagasi,J,Thompson Microbiología Médica Primera edición 1992, pg.107-110

12.- Oriarte J. Papel de los Agentes Infecciosos en la Etiología de las Diarreas pg.46-51, 88-90

13.- Kumate J. Patogenia Enfermedades Diarréicas en el niño. México Ediciones del Hospital Infantil 1981, pg.62-64

14.- Benson AS(Editor) El Control de las Enfermedades Transmisibles en el Hombre 15^{va} Edición Washigton OPS 1992 pg.471-472

15.- Manual de Investigación de Laboratorio de Infecciones Agudas por la Organización Mundial de la Salud, Edición en Español, Octubre 1983.

16.- E.J. Threlfail & J.A. Frost. The identification, tyuping and finger printing of *Salmonella* laboratory y aspects and epidemiological applications. Journal of applied Bacterology 1990. Vol. 68 pg. 5-16

17.- Manual de Procedimiento para el Aislamiento y Caracterización de *Vibrio Cholerae O1*, Instituto Nacional de Diagnostico y Referencia Epidemiologica, Secretaria de Salud, México D.F: 1991.

18.- Craig W. Hedberg, Michael, J. David, Karen E.White, Kristine L. MacDonald, and Michael T. Osterholm Role of Egg Consumption in Sporadic Salmonella enteritidis and Salmonella typhimurium in Minnesota The Journal of Infections Diseaseas 1993 ;168:107-111

19.- Avances y Perpectivas Microbiologica Prueba de Susceptibilidad a Antimicrobianos Tecnica de Kirby-Bauer (DIPROMI) pg.2-11

20.- Elmesr W. Koneman Diagnostico Microbiologico Ed. Médico Panamericana, México 1989, pg. 266, 377, 392-393

21.- D.Brock, David W. Smith Microbiología Cuarta Edición México 1987, pg. 532, 538, 541

22.- Nomenclature of *Salmonella* Journal.Med. Vol.37(1992), 361-363

23.- Instituto Nacional de Diagnostico y Referencia Epidemiologica Serotipificación de Especies de *Salmonella* aisladas en México de 1982-1992.

24.- Rowe B. Global Aspects of Sallmonelosis International Symposium on *Salmonella* GH Snoyebons (Ed) 1985.

25.- Wehrle Pf. Topfh, Communicable And Enfectious Diseases, Ninth Edition Philadelphia CV Mosby Company, 1981 pg.559-565

- 26.- Valdespino J.L. Garcia M.L. Hinojosa M. Sarti E. y Sepulveda J. Epidemia del Colera en América Ciencia y Desarrollo 17, pg. 55-64
- 27.- Baumann P, Schubert RHW Bergey's "Manual of Systematic Bacteriology" Baltimore: Williams Wilkins, 1984.
- 28.- Situación de Colera Mayo de 1993, Boletín mensual de Colera Diarreas Infecciosas 1993 3: 293-296
- 29.- Ewing W.H. Edward and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae New York: El Sevier Science publishing Co 1986, pg. 15-172
- 30.- Mata L.J. Gangorosa EJ. Caseres A, Perera, Mejicanos ML. Epidemic Shiga Bacillus dysentery in Central America I. Etiologic investigation in Guatemala 1969. J.Infect Dis: 122-170
- 31.- Understanding Microbes a Laboratory Textbook for Microbiology A. William Claus Copyright 1989 by W.H Freeman and company, pg. 400-410

32.- Susceptibilidad de *Salmonella* y *Shigella* a los antimicrobianos en el Hospital Infantil de México 1979-1980, Bol. Med. Hosp. Infant. México, Volumen 42 Núm.8 Agosto 1985, pg.488-493

33.- P.H. Williams, M. Roberts & G. Hinson Stages in bacterial Invasion Journal of applied Bacteriology Symposium, suplemente Vol. 65 Núm.17, 1315-1475

34.- Epidemiologic Aspecty of Shigellosis and other causes of Dysentery in Thailand, Reviews of Infectious Diseases 1991; 13(suppl 4): pg. 226-230, 639-656

35.- Large Epidemic of Cholera-Like Diseases en Bangladsh caused by *Vibrio Cholerae O139* Synonym Bengal. Lancet 1993 342: 387-390

36.- Robert. E. Black, MD. MPH, and Sally Slome, MD *Yersinia enterocolitica* Infectious Disease Clinics of North America Vol. 2 No. 3 September 1988 pg. 625-637

37.- Antimicrobial Resistance of *Shigella* Isolates in Bangladesh, 1983-1990: Increasing Frequency of Strains Multiply Resisten to Ampicillin, Trimethoprim-Sulfamethoxazole, an Nalidixic Acid. Michael L. Bennish Mohammed Abdus Salam, Mohammed Anowar Hossain, Jacques Myaux, Eradul Hoy Khan, J yotsnamoy Chakraborty Fitzzoy Henry, and Carine Ronsmans. Clinical Infectious Disease 1992; 14:1055-1060

38.- Manfred S. Green, Colin Block, Dani Cohen, and Paul E. Slater. Four Decades of Shigellosis in Israel: Epidemiology of a Growing Public Health. Problem, Reviews of Infectious Diseases 1991; 13: 248-253

39.- Peter Echeverria Orntipa Sethabutr, and Chittima Pitarangs; Microbiology and Diagnosis of Infection with *Shigella* and Enteroinvasive *Escherichia Coli* Reviews of Diseases 1991; 13(suppl 4):S220-225

40.- H. Smith the Biochemical Challeng of Microbial Pathogenicity Journal of Appited Bacteriology 1984 : 47 , 395-404

41.- Thomas Larry Hale Genetic Basis of Virulence in *Shigella* species, Microbiological Reviews, June 1991, Vol. 55, Num. 2
pg. 206-224

42.- E.A. Petat, F. Martinet, P. Lemmens, G. Ghy Sels, J. Verhaegen R.J. Vandepitie. Human *Salmonella* y *Shigella* Infections in Moroni the Capital of Grear Comoro Island (1987-1988) Ann. Soc. Beige Med. Trop. 1990, 70 : 297-302

43.- I. Edward Alcamo "Fundamentals of Microbiology" Thirty Edition the Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, 1990
pg. 264-270

44.- Ernest Jawetz, Joseph L. Melnick, Edward A. Adelberg.
"Microbiología Médica" Decimo tercera edición, Ed. Manual Moderno México 1990, pg. 210, 211-214, 220-222, 234

45.- Tesis "Detección de Toxina Colerica en cepas *Vibrio Cholerae* O1 y no O1", 1993

46.- Manual de Diagnostico de Laboratorio de Infecciones Gastrointestinales, Secretaria de Salud, Subsecretaria de Coordinación y Desarrollo INDRE III, México D.F. 1993.

47.- Bacterial Infections of Humans Epidemiology and Control Edited by Alfred S. Evans Second Edition 1991. pp. 207-212, 239-243, 573-577, 593-595, 819-821

48.- R.M. Robins-Browne, A.M. Bourdun and K.J. Slee. Serological response of sheep to plasmid-encoded proteins of *Yersinia* species following natural infection with *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis*. Journal. Med. Microbiol Vol. 39(1993), 268-272

49.- Organizacion Mundial de la Salud Control de la Salmonelosis Importancia de la Higiene Veterinaria y de los Productos de Origen Animal Informe Técnico 774 Ginebra OMS 1988.

50.- Rowe B. Global Aspects of Salmonellosis, International Symposium on *Salmonella* GH Snoyebons (ed) 1985.

51.- Celia González Bonilla, Pola Becerril Montes, Pablo Mendoza Hernández y David Bessudo. Serotipos de *Salmonellas* identificados en México entre 1974 y 1981, Bol of Sanit Panam. 99(1), 1985 pg. 34-40

52.- Pola Becerril, David Bessudo y Abel González Cortés Búsqueda de Portadores de *Salmonella* en diferentes grupos de población de la Ciudad de México Rev. Lat. amer. Microbiol. 21,115-119,1979.

53.- Jeffrey C. Pepe and Virginia L. Miller *Yersinia enterocolitica* invasiv: A primary role in the iniation of infection Proc. Natl. Acad. Sci. USA Microbiology ,July 1993, Vol. 90,pg.6473-6477

54.- Louis Andre Lortie, J.Daniel , and José Harel Characterization of *Escherichia Coli* Strains Producing Heat-Stable Enterotina b (stb) Isolated from Humans with Diarrhea. Journal of Clinical Microbiology Mar.1991, Vol. 29 No.3, 656-659

55.- Drobnie, J. Torné y P. Sablís Salmonelosis Tifoparatificas Ciba-Geigy pg. 2475-2485

56.- Subacute Diarrhea To treat or to Wait? Hospital Practice March 30,1989,pg.111-118