



57.
2e
UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EXAMENES PROFESIONALES
FALLA DE ORIGEN

**Incidencia del Colera en
Derechohabientes del IMSS
del Estado de Tabasco**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A
ELMER JESUS LEON



MEXICO, D. F.

1995

FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	PROFRA. ELDA B. PENICHE QUINTANA
VOCAL	PROFRA. MARIA ELSA ESCUDERO GARCIA
SECRETARIO	PROFR. RAUL GARZA VELASCO
1er. SUPLENTE	PROFRA. MARTHA ALEJANDRA TAFOYA FERNANDEZ
2do. SUPLENTE	PROFRA. NORMA ANGELICA CASTELLANOS CHAVEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

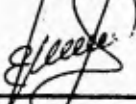
LABORATORIO DE ANALISIS CLINICOS DEL HOSPITAL GENERAL DE ZONA No.1
DEL I.M.S.S. VILLAHERMOSA, TABASCO.

ASESOR



Q.F.B. ELDA B. PENICHE QUINTANA

SUSTENTANTE



ELMER JESUS LEON

DEDICO ESTE TRABAJO

A

LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO,

A LA FACULTAD DE QUIMICA,

AL HONORABLE JURADO,

A MI ASESOR Q.F.B. ELDA B. PENICHE QUINTANA, CON INFINITO
AGRADECIMIENTO POR SU TIEMPO Y CONOCIMIENTOS QUE ME BRINDO.

A MIS PADRES

LORENZO ARTURO JESUS
MENDOZA Y GERTRUDIS
LEON DE JESUS CON
MUCHO AMOR POR SU
APOYO.

A MIS HERMANOS:

JUAN RAMON,
ARTURO Y
TEODOSIO
CON CARIÑO.

A MI ESPOSA LARISA INDIRA.

A MIS HIJOS, LARISA, ELMER Y

DAVID ARTURO

CON TODO MI AMOR.

FALLA DE ORIGEN

INDICE

INTRODUCCION	1
- OBJETIVOS	3
CAPITULO I - ASPECTOS GENERALES DEL COLERA	
- ANTECEDENTES	4
- JUSTIFICACION	7
- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
- TRASCENDENCIA DEL ESTUDIO	9
- LIMITACIONES DEL ESTUDIO	9
- AGENTE INFECCIOSO	9
- VIBRIONES DE IMPORTANCIA MEDICA	12
- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS	13
- FISIOPATOLOGIA	16
- MECANISMO DE ACCION DE LA TOXINA COLERICA	18
- RESISTENCIA DE <i>Vibrio cholerae</i>	21
- RESERVORIO Y FUENTE DE INFECCION	23
- PERIODO DE TRANSMISIÓN	23
- CUADRO CLINICO	26
- TOMA DE MUESTRA	29
- TRATAMIENTO	30
- ANTIBIOTICOS	32

- RECOMENDACION VIGENTE PARA LA VACUNA CONTRA EL CÓLERA	33
--	----

CAPITULO II PARTE EXPERIMENTAL

- DIAGRAMA DE ACTIVIDADES	35
- SUJETOS	36
- MATERIAL Y EQUIPO	37
- METODOLOGIA	39
- DIAGNOSTICO DIFERENCIAL	39
- TRANSPORTE DE LA MUESTRA	42
- PROCESAMIENTO EN EL LABORATORIO	42
- IDENTIFICACION DEL GENERO <u>VIBRIO</u>	43

CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSION

44

CONCLUSIONES	50
--------------------	----

BIBLIOGRAFIA	65
--------------------	----

INTRODUCCIÓN

El cólera es una enfermedad infecciosa intestinal aguda curable y prevenible, producida por Vibrio cholerae y caracterizado por la aparición brusca de diarrea abundante, seguida de vómito, con la consecuente pérdida de líquidos y electrolitos por el organismo, que puede derivar en deshidratación, choque hipovolémico y muerte en unas cuantas horas (2).

Esta enfermedad había desaparecido de nuestro país hace más de un siglo, y durante mucho tiempo tampoco se registraron casos en el Continente Americano. Desafortunadamente, en enero de 1991 reapareció en el área andina de Sudamérica y desde ahí se ha extendido lentamente a otros países de América.

En el mes de junio de 1991 se detectó la presencia de un pequeño brote en una localidad de la sierra sur del Estado de México, 19 casos confirmados de cólera y ninguna defunción, la localización inmediata del caso índice y su canalización a una unidad de segundo nivel, permitió iniciar el estudio epidemiológico y el control sanitario en forma oportuna, con lo que se logró el control total del brote.

La diseminación del cólera en México, en estos momentos, no depende de los factores que se sostenían hace dos siglos, puesto que la propagación básicamente era por caminos de herradura o a pie, lo que limitaba su avance en cuestión de meses o años. Actualmente, dados los medios de comunicación disponibles y la amplia variedad de actividades

FALLA DE ORIGEN

que se desarrollan, en particular en algunas zonas del país, el esquema ha cambiado. Los movimientos migratorios son intensos y amplos, colocando prácticamente a cualquier lugar del país como un área de riesgo, por la rapidez de diseminación.

Debido a los acontecimientos, las instituciones del Sistema Nacional de Salud se han dado a la tarea de contrarrestar el problema desde las perspectivas de un control inmediato, convocando a los servicios de salud para que actúen firme y profesionalmente ante una emergencia de esta naturaleza.

Por lo tanto, las autoridades de salud nacional se han interesado en difundir, en el menor tiempo posible, información integral y actualizada sobre los aspectos clínicos, epidemiológicos y de diagnóstico más relevantes, sobre las consideraciones más importantes acerca del padecimiento, como son los antecedentes históricos, los aspectos epidemiológicos, el agente infeccioso, los procedimientos que se van a llevar a cabo para una adecuada y oportuna vigilancia epidemiológica, el cuadro clínico, diagnóstico y tratamiento de los casos de cólera, las actividades necesarias para realizar el estudio de brotes, así como las medidas más determinantes para su prevención.

OBJETIVOS

- Realizar el aislamiento e identificación bioquímica de Vibrio cholerae en muestras provenientes de derechohabientes con síndrome diarreico, del I.M.S.S. en el Estado de Tabasco.
- Realizar la tipificación serológica empleando los sueros correspondientes.
- Determinar la incidencia del cólera en dicha población.

FALLA DE ORIGEN

CAPITULO I ASPECTO GENERALES DEL CÓLERA

ANTECEDENTES

En 1883, Robert Koch descubrió al agente causal del cólera, Vibrio cholerae, durante las epidemias que afectaron a Egipto y a la India, pero sus conclusiones fueron disputadas por otros bacteriólogos que habían encontrado Vibriones parecidos, pero aparentemente benignos en otras situaciones.

La especificidad de Vibrio cholerae se estableció 10 años más tarde, en que se observó que estas células se lisaban con rapidez en la cavidad peritoneal de cobayos previamente inmunizados (fenómeno de Pfeiffer). Poco después, Bodet publicó sus clásicos estudios sobre la bacteriotoxicidad inmune, en los que demostraba que una sustancia termolábil (ahora conocida como sistema del complemento) se hallaba íntimamente relacionada con estos procesos (6).

Casi un siglo después del último brote, el cólera ha penetrado de nuevo en territorio nacional; detectándose el primer caso en San Miguel Totolmayola municipio de Sultepec, Estado de México el 17 de junio de 1991. Hasta el 21 de julio de 1991 se habían detectado 413 casos en el país con seis provincias afectadas además de Sultepec, el Valle de Tula, Hidalgo, Las Huastecas (Hidalgo y Veracruz), Ciudad Hidalgo, Chiapas, Mlahuatlán y Tehucán, Puebla. Se cree que el bacilo pudo haber llegado a la cuenca de Sultepec a través de un portador que ingreso a la zona

4
FALLA DE ORIGEN

ciandestinamente por vía aérea, procedente de Centroamérica, ya que en el área se han detectado pistas utilizadas presumiblemente por narcotraficantes.

La introducción al Valle de Tula puede explicarse por un viajero que estando en la cuenca del Sultepec hubiera adquirido la infección y después la hubiera transmitido a otras personas en su lugar de procedencia. El origen posible del brote de las Huastecas es que se haya propagado a partir del brote de Tula. El brote de Cd. Hidalgo, en Chiapas pudo haberse originado a partir de un portador enfermo que ingresó por tierra a partir de Centroamérica o Sudamérica. El brote de Miahuatlán y Tehuacán, Puebla pudo haberse originado a través de un viajero procedente de las Huastecas o de Toluca (7, 9).

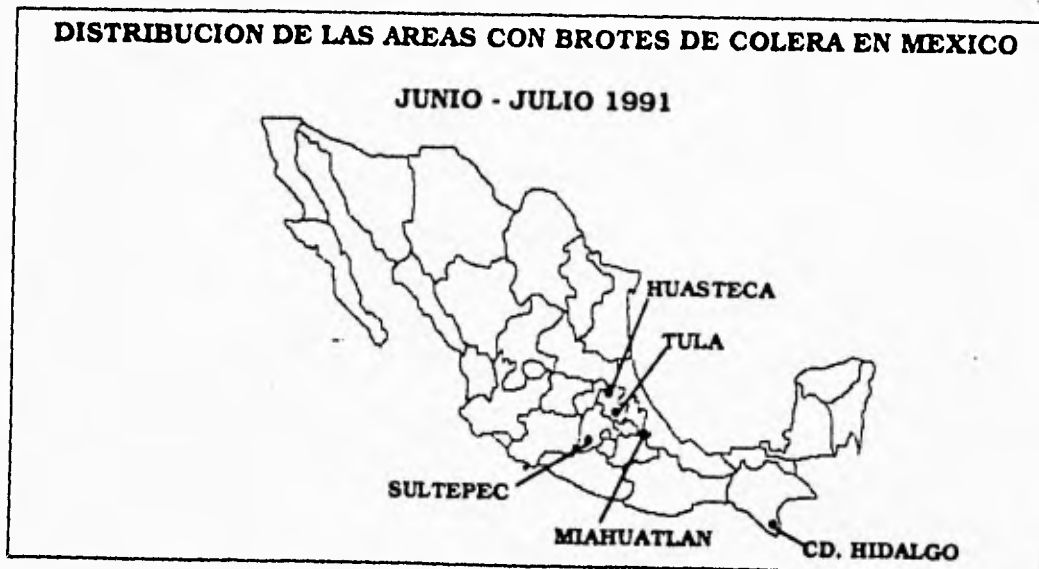


Fig. No. 1 (7)

FALLA DE ORIGEN

DISTRIBUCION DE INCIDENCIA POR COLERA EN LA REPUBLICA MEXICANA. HASTA EL 4 DE DICIEMBRE DE 1993

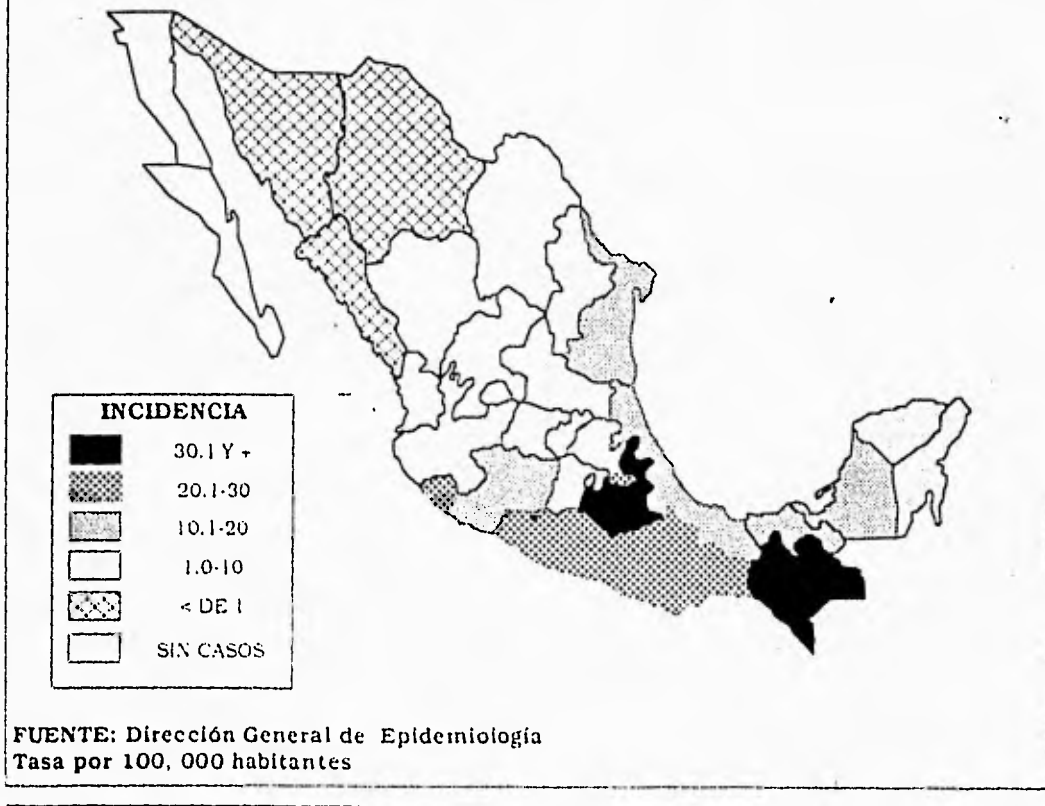


Fig. No. 2 (12)

FALLA DE ORIGEN

En la actualidad, el cólera afecta a gran parte de la República Mexicana y el Estado de Tabasco no escapa a esta problemática, siendo confirmado su primer caso el día 22 de agosto de 1991 por el Laboratorio Regional de Salud Estatal, proveniente del poblado de Chichicapa del Municipio de Comalcalco (22).

JUSTIFICACIÓN

Tabasco, por su situación geográfica, y su característico clima tropical, aunado a su nivel socioeconómico, presenta todas las condiciones propicias para el desarrollo y transmisión activa de las enfermedades diarreicas. En la actualidad, la población se ha visto afectada por una de estas enfermedades que, incluso, puede llegar a ser mortal si no se atiende oportunamente: el cólera, el cual se va extendiendo poco a poco por lo que el estudio del mismo se ha intensificado, creándose brigadas encargadas de detectar nuevos brotes e implantándose métodos de identificación y control. Para la vigilancia epidemiológica, diagnóstico y control de las enfermedades diarreicas, es indispensable contar con el apoyo de estudios de laboratorio, teniendo la seguridad de que se utilizarán las técnicas más adecuadas para la recolección y toma de las muestras y que los métodos microbiológicos son los idóneos para el aislamiento del microorganismo. Lo anterior permitirá proporcionar una óptima atención médica.

FALLA DE ORIGEN

Mediante la realización de la presente investigación se analizará el comportamiento del cólera en derechohabientes del I.M.S.S. del Estado de Tabasco desde su aparición en agosto de 1991, hasta junio de 1994.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La salud de los habitantes de una entidad o comunidad como Tabasco, es el resultado de un vasto conjunto de elementos, tales como los económicos, sociales y culturales. La aparición del cólera en nuestro Estado es preocupante por los estragos que puede causar y por ser una evidencia irrefutable de las condiciones de extrema pobreza que padecen algunos sectores de la población tabasqueña, ya que el cólera es una enfermedad cuya propagación se propicia por la insalubridad en que viven dichos sectores.

No parece razonable pensar que los estragos de una epidemia de cólera en nuestros días, tengan las mismas implicaciones que en el pasado, pues el saber acumulado sobre los diferentes aspectos, permite afrontar más exitosamente el problema aplicando las medidas de prevención adecuadas, el tratamiento de rehidratación oportuno y eficaz, así como un estricto programa de vigilancia epidemiológica. Sin embargo, mientras las verdaderas causas de propagación del mal (la miseria y la insalubridad) persistan, no será posible desterrarlo, al igual que el resto de enfermedades con ese mismo origen.

TRASCENDENCIA DEL ESTUDIO

Desde el punto de vista epidemiológico, el aporte del laboratorio en la identificación de portadores asintomáticos y la tipificación serológica contribuyen a dar información valiosa para descubrir las posibles fuentes de infección, controlar los brotes y descubrir oportunamente la aparición de cepas mutantes.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Aunque el número de muestras procesadas es elevado, es necesario aclarar que no puede considerarse representativo de todo el Estado de Tabasco ya que el estudio se limita sólo a derechohabientes del I.M.S.S.

AGENTE INFECCIOSO

El género Vibrio pertenece a la familia Vibrionaceae junto con otros tres géneros: Photobacterium, Aeromonas y Plesiomonas, el cual es filogenéticamente cercano a las enterobacterias. Vibrio, como género, consta de varias especies de las cuales, Vibrio cholerae es la más importante, tiene más de 72 serogrupos divididos en base a su antígeno somático O, que se denominan con números; (V. cholerae O1, V. cholerae

02, *V. cholerae* 72). El antígeno somático O es un polisacárido típico de las bacterias Gram negativas, componentes de la superficie de las células, las porciones lipídicas tienen actividad endotóxica y la especificidad antigénica depende de los polisacáridos (19, 20).

El antígeno somático O es importante en la prueba de diagnóstico, a diferencia del antígeno H que es compatible con muchos no patógenos. Debido a que *Vibrio cholerae* correspondiente a otros serotipos también causa diarrea parecida al cólera, se debe identificar al grupo O1 de *Vibrio cholerae* para tener el diagnóstico específico del cólera (8, 16).

Regularmente, a todos los serogrupos diferentes de *Vibrio cholerae* O1 se hace referencia como *Vibrio cholerae* NO O1, pues sólo el primero mencionado, O1, puede causar el cólera e incluye a dos clases de biotipos; el clásico y la variante El tor (Fig. No. 3)(8, 16, 19).

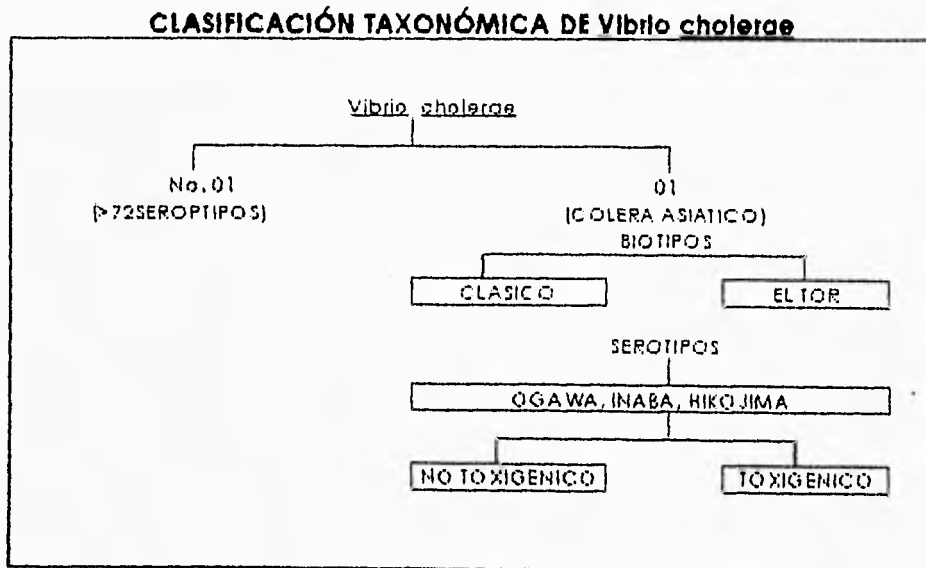


Fig. No. 3 (8)

FALLA DE ORIGEN

Los dos biotipos elaboran la misma enterotoxina; el colerágeno, que es termolábil (se destruye a 56 °C). Desde el punto de vista serológico son indistinguibles se emplean tres factores antigénicos para subdividir el serotipo O1, A, B, C, en los serotipos Ogawa, Inaba e Hikojima (cuadro No. 1).

SEROTIPO O1 SUBTIPO	ANTIGENO PRESENTE	AGLUTINACION	
		OGAWA	INABA
Ogawa	AB	+	-
Inaba	AC	-	+
Hikojima	ABC	+	+

Cuadro No. 1 Serotipos de V. cholerae (19)

Todos los serotipos producen enterotoxinas similares y también el cuadro clínico es semejante. El biotipo El Tor se ha relacionado con las últimas epidemias, excepto en Bangladesh, donde volvió a aparecer el biotipo clásico (16, 19).

Los vibrios tienen amplia distribución en la naturaleza, son comunes en ambientes marinos, algunas especies se encuentran sobre la superficie y en el contenido intestinal de animales marinos. En forma saprofita se hallan en el aparato digestivo del hombre y animales (16 y 19).

VIBRIONES DE IMPORTANCIA MEDICA

Las especies de vibrios que causan infecciones humanas pueden clasificarse como causantes de infecciones intestinales o extraintestinales. Dentro de las infecciones del tracto intestinal, cinco especies se ha demostrado que causan o están asociadas con diarrea. Vibrio cholerae es bien conocido como causante de cólera y Vibrio parahemolyticus produce gastroenteritis aguda. Más recientemente, Vibrio fluvialis, Vibrio holisae y Vibrio mimicus han sido implicados como productores de diarreas; Vibrio furnissii se ha aislado de unos pocos casos de diarrea, pero no hay evidencia real de que pueda causarla.

Anteriormente se creía que Vibrio mimicus era una variante de Vibrio cholerae, sin embargo, se diferencia de éste en que necesita la presencia de NaCl para desarrollarse (10, 19, 22).

FALLA DE ORIGEN

TIPOS	Enfermedades en humanos
<i>V. cholerae</i> subgrupo 01	Cólera epidémica y pandémica
<i>V. cholerae</i> serogrupo No. 01	Diarrea del tipo del cólera; diarrea leve; rara vez infección extraintestinal.
<i>V. parahemolyticus</i>	Gastroenteritis, posible infección extraintestinal.
Otros vibriones: <i>V. mimicus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. holisae</i> , <i>V. fluvialis</i> , <i>V. damsela</i> , <i>metchnikovii</i>	Infecciones de oídos, heridas, tejidos blandos y otros sitios extraintestinales.

Cuadro No. 2 Especies de vibriones asociados a infecciones humanas (19)

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Vibrio cholerae es un bacilo curvo Gram negativo, facultativo, con aspecto de coma, que mide de 1.5 a 3 micras de longitud por 0.5 a 0.8 micras de diámetro, se mueve mediante un único flagelo polar, no forma endosporas ni microquistes y posee cápsula, se presenta solo, en parejas o en cadenas cortas que semejan espirillos (1, 2, 17).

FALLA DE ORIGEN

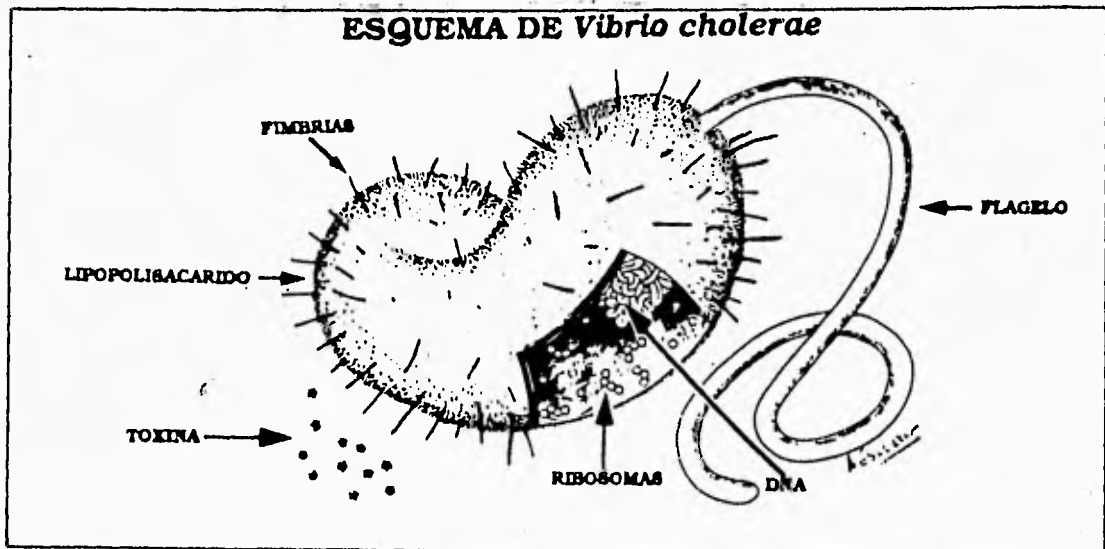


Fig. No. 4 (10)

Durante el cultivo prolongado, los vibriones pueden convertirse en bastoncillos rectos que se parecen a las bacterias intestinales Gram negativas (3, 19).

La temperatura óptima para su desarrollo es de 37°C en medios de cultivos alcalinos (pH de 7.6 a 9), líquidos o sólidos. En medios sólidos produce colonias características; traslúcidas, discretamente opalescentes o colonias granulosas de color azul-grisáceo. En el medio selectivo de TCBS las colonias son de color amarillo con vire del medio de verde a amarillo, bajo condiciones adversas las colonias lisas se convierten en rugosas. El vibrio crece fácilmente en medios de cultivos ordinarios (19, 20).

FALLA DE ORIGEN

Vibrio cholerae posee una serie de enzimas que permiten fluidificar la gelatina y la sangre coagulada, la variante clásica no produce hemólisis, lo cual sí sucede cuando se trata del biotipo El Tor (3, 19).

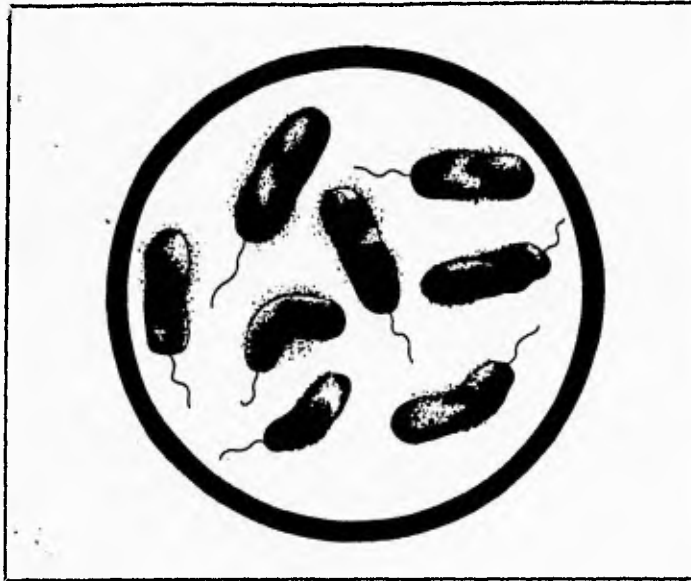


Fig. No. 5 Aspecto de los bacilos del colera al microscopio (19)

CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

Los vibrios poseen ambos metabolismos: respiratorio y fermentativo, no fijan ni desnitrifican el nitrógeno, sólo unas cuantas cepas necesitan de factores orgánicos de crecimiento. Los iones sodio estimulan el crecimiento de todas las cepas y son un requerimiento para la mayoría. Muchas especies crecen bien en medios conteniendo una base de agua de mar. Fermentan la D-glucosa dando como resultado la producción de ácido pero no de gas. Todos utilizan D-glucosa, maltosa, D-fructuosa y glicerol, la mayoría de las especies crecen a 30°C de 18 a 24 horas.

FISIOPATOLOGIA

El cólera no es una infección invasiva, la bacteria nunca llega al torrente circulatorio y permanece en el tracto intestinal adherida al epitelio superficial sin atravesar la mucosa y, en consecuencia, el epitelio permanece intacto, de ahí que la apariencia de "agua de arroz" de las evacuaciones de los enfermos se debe al aumento de la secreción de las células mucóides del epitelio intestinal, después de colonizar el duodeno continúa hacia el íleo y ya establecida comienza a producir una enterotoxina, el colerágeno, que provoca infiltración masiva de líquidos isotónicos de la mucosa intestinal, la acción es exclusiva en las células epiteliales del intestino delgado.

La enteroxina del cólera, en contraste con otras, se fija perfectamente a los gangliósidos de las membranas celulares, ocurrida la fijación, el efecto persiste durante 20 a 24 horas y es irreversible, luego de un período de latencia de 15 a 20 minutos después de la fijación, se inicia un incremento en los niveles de adenilato ciclasa - la enzima que cataliza la transformación de ATP a AMPc entre las células de la mucosa- ocasionando vasodilatación y secreción activa de cloruros y bicarbonatos de las células de la mucosa hacia la luz intestinal, que arrastra grandes volúmenes de agua y potasio. Se provoca así una deshidratación severa que se evidencia por la alta concentración de proteínas plasmáticas y del hematocrito. La pérdida de electrolitos básicos provoca acidosis que clínicamente se manifiesta por hiperventilación, vómito, depresión y alteraciones del Sistema Nervioso Central. Puede presentarse necrosis isquémica tubular renal debida al

prolongado colapso circulatorio, cuando el tratamiento se inicia tardamente o fue inadecuado.

Vibrio cholerae coloniza la porción superior del intestino delgado y en este proceso participan factores quimiotácticos, flagelos relacionados con la movilidad y mucinasas o enzimas mucolíticas (neuraminidasas y proteasas) que pueden favorecer la penetración a través del moco. Además, participan otras estructuras como las "adhesinas", componentes de la superficie bacteriana, las cuales permiten a la bacteria establecerse y multiplicarse en el superficie de la célula intestinal, y se conocen como "hemaglutininas" (11, 19).

Evidencias recientes sugieren que quizá las prostaglandinas jueguen un papel importante en los efectos secretores de la enterotoxina del cólera.

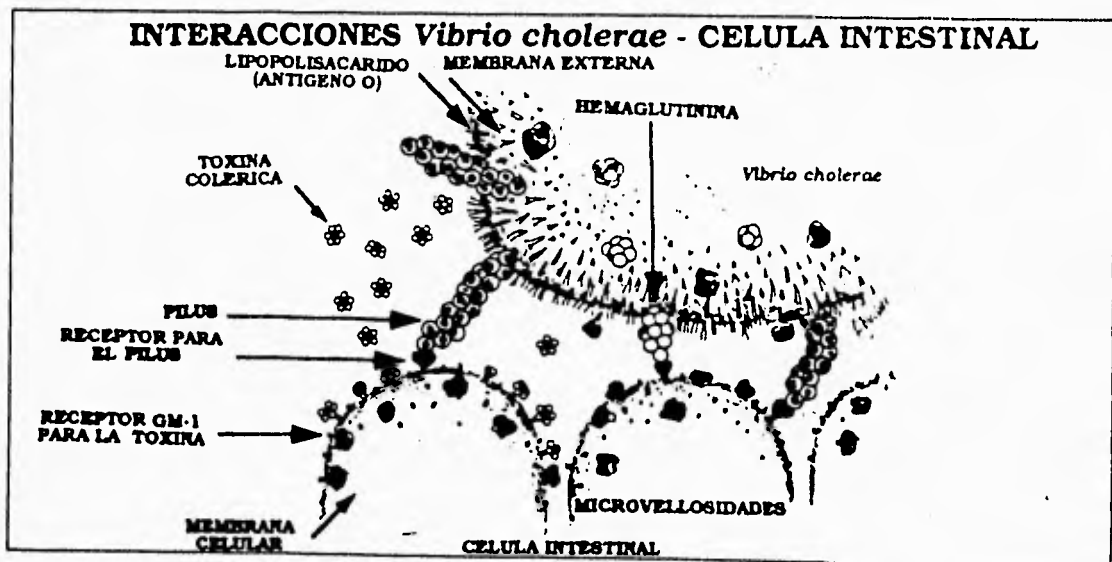


Fig. No. 6 (11)

FALLA DE ORIGEN

Microscópicamente, los intestinos se ven ligeramente edematosos, pero histológicamente su aspecto es normal; aunque ocasionalmente se observen células inflamatorias, la respuesta celular no es significativa ni en la mucosa ni en la luz intestinal.

MECANISMO DE ACCIÓN DE LA TOXINA COLÉRICA

En la actualidad, se sabe que la enterotoxina de Vibrio cholerae es una exotoxina, aunque gran parte de ella se encuentra en el espacio periplásmico de la bacteria, como lo sugiere el hecho de que al tratar a la bacteria con polimixina B, ocurre una rápida liberación de la toxina; ésta es de naturaleza proteica con un contenido muy pobre en lípidos y carbohidratos; es termosensible, tiene un peso molecular aproximado de 95KD aunque otros autores consideran valores diferentes dependiendo de los métodos utilizados en su obtención.

La toxina colérica tiene dos tipos de subunidades numéricas, una de peso molecular de 11.6KD (subunidad B) y una subunidad grande de peso molecular de 28KD (subunidad A) que pueden ser separadas por electroforesis en un gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio.

La subunidad B oligomérica, está formada por las cinco subunidades monoméricas agregadas en un anillo, ya que ésta es la única forma geométrica estable de agregación.

La subunidad A, al parecer, está formada por dos fragmentos, uno grande A₁ (de 23KD) y uno pequeño A₂ (de 5KD), los cuales tienen la porción activa de la molécula.

Se considera que la subunidad A está unida e insertada parcialmente en el anillo B por la porción A₂. La subunidad B no es tóxica para la molécula y no posee actividad estimulante sobre la adenilato ciclasa. La subunidad B es la responsable de la unión específica a las células, ya que puede competir con la toxina completa por los sitios de unión (gangliósidos GM1) sobre las células susceptibles.

La subunidad A purificada no es capaz, por ella misma, de unirse a la molécula ni es tóxica, mientras que si las fracciones conteniendo A y B se unen, tienen actividad tóxica, lo que sugiere que la subunidad A es la fracción efectora, la subunidad B es, por lo tanto, la responsable de la activación de la adenilato ciclasa, cuando se adiciona a estromas de eritrocitos de pichón, en donde se demostró que ésta es capaz de activar la adenilato ciclasa y que no era indispensable la subunidad B (4, 10).

FALLA DE ORIGEN

MECANISMO DE ACCION DE LA TOXINA COLERICA

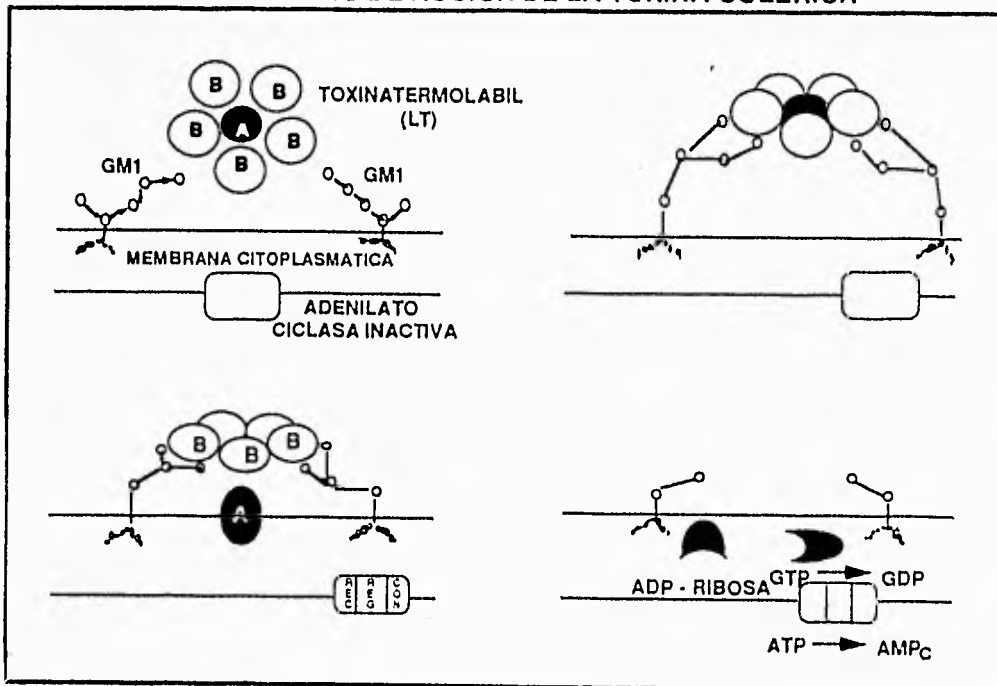


Fig. No. 7 (10)

FALLA DE ORIGEN

RESISTENCIA DE Vibrio cholerae

El Vibrio del cólera puede sobrevivir por períodos hasta de siete días fuera del organismo, especialmente en ambientes húmedos y templados, en el agua sobrevive unas cuantas horas, o hasta semanas si está contaminada con materia orgánica y tiene un pH entre seis y nueve, es susceptible a la desecación, la ebullición, el cloro y otros desinfectantes, así como al cloramfenicol, las tetraciclinas y, en menor grado, a las estreptomicinas y a las sulfamidas (6).

En extendidos sobre portaobjetos muere por desecación en dos horas. A temperaturas de 55 °C se destruye en media hora; el ácido fénico al dos por ciento lo aniquila en cinco minutos. La sobrevivencia de Vibrio cholerae depende de las características del ambiente y de la temperatura.

En agua de mar a temperatura de 5 y 10°C, puede sobrevivir 60 días, y cuando ésta es mayor (30 - 32°C) sobrevive de 10 a 13 días. En aguas de cisterna se conserva vivo 18 días a temperaturas bajas y de 7 a 13 días a temperaturas más altas. En lácteos, la sobrevivencia es mayor de dos semanas a temperaturas bajas, de 7 a 14 días a temperaturas de 5 - 10°C y de 2 a 5 días entre 30 y 32°C. En vegetales y frutas frescas su sobrevivencia es de 7 a 10 días entre 5 y 10°C, mientras que a temperaturas altas es de 1 a 7 días (3).

La resistencia a las condiciones del medio ambiente depende del tipo de Vibrio cholerae de que se trate. El biotipo El Tor es resistente y sobrevive durante más tiempo en el ambiente, en agua y en los alimentos (3).

ARTICULOS	Tiempo de supervivencia en días	
	(30-32°C)	(5-10°C)
Alimentos cocinados	3-5	2-5
Hortalizas frescas	1-7	7-10
Pescados y mariscos	2-5	4-14
Frutas	1-3	3-5
Frutos secos	1-3	-
Bebidas	1	1
Leche y productos lácteos	7-14	14 ó más
Cereales	1-3	3-5
Espicias	1-5	-
Dulces	1-2	-
Varlos:		
Café molido, hojas de té	1	-
Arroz (Con una noche de remojo)	1 hora	-
Agua de cisterna o pozo	7-14	18
Agua de mar	10-13	60
Fornites:		
Aluminio laminado, monedas,		
papel carbón, minerales,	1-2	-
Algodón, seda, cemento.	3-7	-

Cuadro No. 3 Viabilidad de V. cholerae biotipo El Tor, en los alimentos, agua y fomites. (3)

RESERVORIO Y FUENTE DE INFECCIÓN

El hombre es el único reservorio natural conocido, aunque investigaciones recientes sugieren la existencia de reservorios ambientales, no se conoce ninguna otra especie regularmente infectada, pero inyectando microorganismos suspendidos en mucina a ratones, por vía intraperitoneal, éstos pueden morir. El cólera se mantiene siguiendo un ciclo de transmisión hombre-medio ambiente-hombre; se ignora cómo sobrevive el bacilo durante los períodos interepidémicos y se sospecha que pudiera ser por los casos no reconocidos o subclínicos; muchos pacientes eliminan vibriones durante unos días después de haber recibido antibióticos y sin tratamiento los eliminan durante una o dos semanas; también se han descubierto portadores convalecientes de cepas endémicas; los estudios más cuidadosos no han podido descubrir portadores del biotipo Clásico.

Las heces y los vómitos de los enfermos y contactos con portadores son las principales fuentes de infección (20).

PERIODO DE TRANSMISIÓN

La transmisión ocurre normalmente por la ingestión de agua o alimentos contaminados con vómitos o heces del paciente y en menor grado de persona a persona, por contacto directo, las manos sucias o las moscas. Los microorganismos El Tor pueden persistir en el agua por períodos prolongados. En Guam, Portugal y Kiribati, los mariscos crudos o mal

cocidos procedentes de aguas contaminadas causaron epidemias. El origen de un brote en Louisiana se localizó en cangrejos de preparación casera procedentes de aguas del lago y de un estuario contaminadas con Vibrio cholerae, serotipo Inaba.

FACTORES DE TRANSMISIÓN

Existen tres factores que determinan la transmisión del cólera; ambientales, del agente y del hospedero.

FACTORES AMBIENTALES

En estos, es importante enfatizar que la adquisición del vibrio en un individuo o en una comunidad, se asocia con la falta de abastecimiento de agua potable, mala higiene de los alimentos, medidas higiénicas generales deficientes e inadecuada disposición sanitaria de las excreta.

FACTORES DEL AGENTE

Con respecto al agente, la cantidad del inóculo es importante, lo cual se refiere al número de bacterias que se necesitan para producir la

enfermedad. Se ha determinado que este número es de un millón a cien millones de bacilos de Vibrio cholerae, si se compara esta cantidad con la de otros microorganismos que causan diarrea, como Shigella, es cien veces mayor, o bien, con Salmonella, que sería mil veces más grande.

La virulencia de la bacteria es importante en su capacidad de producir enfermedad, la cual depende del biotipo, el biotipo El Tor es más benigno desde el punto de vista clínico que el biotipo Clásico. Desde el punto de vista epidemiológico, se ha demostrado que pueden existir cuatro o cinco infecciones asintomáticas por cada episodio de diarrea por Vibrio cholerae Clásico, en tanto que con el biotipo El Tor, esta relación pueden ser tan alta como de 40:1.

FACTORES DEL HOSPEDERO

Los factores del hospedero que determinan el desarrollo de la enfermedad incluyen nivel socioeconómico, disponibilidad y acceso a medidas sanitarias básicas, estado nutricional, embarazo, inmunidad natural y acidez gástrica. Esta última representa una barrera de defensa frente al ingreso del microorganismo por vía oral, de tal manera que cuando dicha defensa se encuentra disminuida, la bacteria prolifera más fácilmente. En este sentido la ingestión simultánea de alimentos capaces de neutralizar el jugo gástrico, permite la infección con dosis mucho menores, de sólo 10,000 bacilos; esto se ha demostrado en voluntarios jóvenes y sanos; lo mismo sucede cuando existe aclorhidria.

Una vez que se ha ingerido la bacteria es necesario que sobreviva a la acidez gástrica; llega a la parte superior del Intestino delgado, penetra la membrana mucosa y coloniza el epitelio. A partir de este sitio, los microorganismos se multiplican y producen la toxina que causa la diarrea.

CUADRO CLÍNICO

El aspecto clínico del cólera es muy amplio, puede ir desde cuadros asintomáticos hasta manifestaciones clínicas más severas como son el choque hipovolémico y coma que llevan a la muerte si no se trata en forma oportuna. Una persona previamente sana puede presentar hipotensión dentro de la primera hora del inicio de los síntomas y puede morir en dos o tres horas si no recibe el tratamiento adecuado. Lo más común es que la enfermedad progrese desde la primera evacuación líquida a choque hipovolémico, dentro de las primeras 12 horas.

La sintomatología se atribuye a los efectos de la toxina, los cuales llevan a pérdidas importantes de agua y electrolitos de los espacios intravasculares y extracelulares en el lumen intestinal (4, 19, 20).

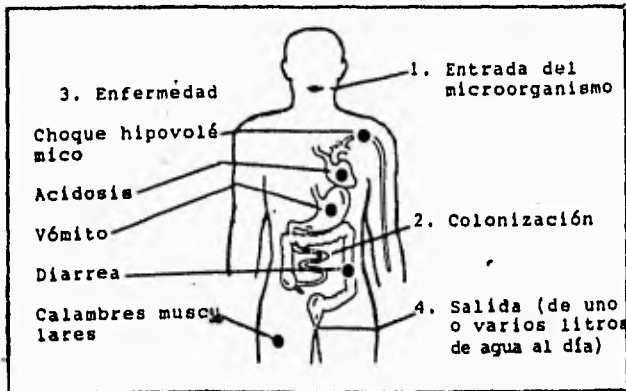


Fig. No. 8 Cuadro clínico del cólera (19)

Al ingresar Vibrio cholerae en el organismo humano puede ocurrir una de las siguientes posibilidades; molestias leves, síntomas moderados o cuadro clínico grave (4, 20, 21)

BIOTIPO	MANIFESTACIONES CLÍNICAS		
	ASINTOMÁTICO	MODERADO	GRAVE
CLÁSICO	59%	15%	11%
EL TOR	75%	23%	2%

Cuadro No. 4 Manifestaciones clínicas de los biotipos de V. cholerae 01 (20)

Después de un período corto de incubación de 12 horas a cinco días, en promedio de dos o tres días, aparece súbitamente diarrea acuosa y abundante, la diarrea acuosa constituye la principal manifestación clínica

en todos los grupos de edad. Puede existir sintomatología previa como, irritabilidad y malestar abdominal (20).

En los casos graves, las evacuaciones pueden ser de color verde o café, con algo de materia fecal, pero de inmediato toman la apariencia clásica de "agua de arroz" (líquido claro con trazas visibles de moco y con leve olor a pescado), en casos moderados las heces son de aspecto más amarillo. El número de evacuaciones varía de 4 a 20 ó 50 en 24 horas, dependiendo de la gravedad de las manifestaciones.

Las evacuaciones son isotónicas, con grandes cantidades de potasio y bicarbonato, por lo cual al perderse agua rápidamente se produce deshidratación; ésta última constituye la complicación más frecuente y puede causar estado de choque.

La concentración de los electrolitos (mmol/litro) en las evacuaciones de los pacientes adultos y niños con cólera, se presenta en el cuadro No. 5

PACIENTE	Na+	K+	Cl-	HCO₃⁻
Adultos	135	15	100	45
Niños	105	25	90	30

Cuadro No. 5 (19)

Se presenta dolor abdominal de tipo cólico en el área umbilical en casi el 50 por ciento de los casos. No hay tenesmo y los vómitos son frecuentes en los casos graves, sobre todo pocas horas después del inicio de la diarrea. El pico mayor de pérdida de líquidos por heces ocurre dentro de las primeras 24 horas. En el 25 por ciento de los niños, la temperatura rectal está ligeramente elevada al ingreso o en las primeras 24 horas de hospitalización.

Debido a que la toxina de Vibrio cholerae sólo actúa a nivel de enterocitos sin destruirlos, generalmente no hay infección sistémica ni manifestaciones diferentes a las causadas por la pérdida de líquidos.

TOMA DE MUESTRA

El aislamiento de V. cholerae O1 se puede hacer a partir de materia fecal o bien de vómito del enfermo. La toma de la muestra se realiza con un hisopo estéril con punta de algodón pudiendo ser hisopo fecal (obtenido directamente de la muestra), o bien, mediante un hisopo rectal, el cual se obtiene introduciendo el hisopo en el esfínter anal más de un cm y girándolo, el cual debe salir manchado con heces. Cuando se trata de un cuadro característico de cólera, la muestra se toma de las heces en forma de "agua de arroz". El hisopo se introduce en el tubo de Cary-Blair hasta el fondo, tapando bien el tubo, dejándolo en posición vertical, en ambiente fresco y seco, sin refrigerar; de esa manera se puede conservar hasta cuatro semanas (19, 20).

La toma de muestras con hisopo es altamente indicada durante la fase aguda de la enfermedad; sin embargo, es inadecuada en convalecientes o personas asintomáticas infectadas de manera transitoria. En estos casos se ha sugerido que la administración de laxantes incrementa la detección de individuos que excretan vibrios en pequeñas cantidades.

También es posible recuperar microorganismos de vómitos durante la fase aguda de la enfermedad. Debido a que Vibrio cholerae es muy sensible a la desecación, luz solar y condiciones ácidas y, a que se inhibe por el desarrollo de otros microorganismos, las muestras deben cultivarse rápidamente. Si no es posible su procesamiento de inmediato, las muestras deben de colocarse en un medio de transporte adecuado el cual no necesito refrigeración, a menos que su llegada al laboratorio requiera más de dos días (22).

TRATAMIENTO

Los signos y síntomas de los casos de cólera, así como las complicaciones, dependen básicamente del estado de hidratación, por lo que su manejo debe valorarse desde varios puntos de vista, como la edad del paciente, su estado de salud previo, el grado de deshidratación, la presencia de complicaciones, etcétera.

En general, la deshidratación aparece unas horas después del inicio de la enfermedad, y dependiendo del número y cantidad de deposiciones, puede establecerse como un caso grave en unas cuantas horas.

Los casos de cólera sin manifestaciones de deshidratación o con deshidratación leve pueden ser manejados en forma ambulatoria, básicamente con sales de rehidratación oral (SRO). En los casos de deshidratación severa es necesaria la aplicación de soluciones parentales en forma urgente, hasta que el paciente recupere el estado de hidratación normal y pueda continuar su manejo con SRO.

El uso de antibióticos puede disminuir la duración de la diarrea y el tiempo de excreción de la bacteria, sin embargo, su uso se restringe a los casos graves o con complicaciones.

La valoración del estado de hidratación requiere la observación constante de signos y síntomas, que permitan determinar la evolución del cuadro. La diarrea, por lo general, se autolimita en el curso de 24 a 48 horas, y durante este período el médico debe estar atento para mantener el equilibrio hidroelectrolítico del paciente.

En la práctica, se puede utilizar el siguiente esquema con el propósito de determinar el estado de hidratación y seleccionar el plan de tratamiento.

La mayoría de los pacientes con cólera pueden manejarse correctamente mediante la administración por vía oral de la solución de Vida Suero Oral, cuyo contenido de agua y electrolitos debe aproximarse a las de las heces diarreicas. Las soluciones para uso endovenoso que contienen sales de potasio y una base, por lo general sólo se requieren para la rehidratación inicial de pacientes gravemente deshidratados, en estado de choque o incapaces de beber.

La deshidratación, la acidosis y la reducción del potasio en los enfermos de cólera son causadas por la pérdida de agua y sales a través de las heces y los vómitos. El tratamiento consiste en restituir el agua y los electrolitos en las porciones perdidas. La solución de Ringer lactato (sol. Hartmann para inyección), es el suero recomendado para la rehidratación endovenosa ya que, por lo general, está disponible en el comercio y su composición es apropiada para el tratamiento de todas las diarreas agudas en pacientes de todas las edades (4, 5).

ANTIBIÓTICOS

En algunos casos de cólera, los antibióticos pueden reducir el volumen y duración de la diarrea, y acortar el período durante el cual se excreta Vibrio cholerae.

Los antibióticos deberán administrarse por vía oral tan pronto como el paciente deje de vomitar, lo cual ocurre, generalmente, a las pocas horas de iniciarse la rehidratación. (No existe ventaja alguna cuando se utilizan antibióticos inyectables, los cuales además son costosos.)

La tetraciclina es el antibiótico de elección, que por su acción bacteriostática al inhibir la síntesis proteica, es selectiva contra Vibrio cholerae. Su vida media es de aproximadamente 8 horas, obteniéndose concentraciones terapéuticas a las 4 horas de ser administrada por vía oral. Se elimina por vía renal, atraviesa la barrera placentaria y se excreta

por la leche materna. La dosis para niños es de 250mg/día; para los adultos son 500mg cuatro veces al día, durante 3 días. La doxiciclina, un tipo de tetraciclina de acción prolongada que se administra en una sola ocasión, se prefiere por las ventajas considerables del tratamiento con una sola dosis, de 300mg, y exclusivamente se administra a mayores de cinco años.

Cuando las cepas de Vibrio cholerae son resistentes a la tetraciclina, puede utilizarse furazolidona, cuya dosis para niños es de 1.25mg/kg y para los adultos, de 100mg, cuatro veces al día durante 3 días; o el trimetoprim, cuya dosis para niños es de 25mg/kg y para adultos de 800mg, dos veces al día durante 3 días.

Otras opciones son la eritromicina y el cloramfenicol. Para los niños de corta edad, cuando no se dispone de jarabe de tetraciclina, pueden utilizarse suspensiones de trimetoprim-sulfametoxazol (16).

RECOMENDACIÓN VIGENTE PARA LA VACUNA CONTRA EL CÓLERA

La vacuna contra el cólera actualmente disponible en forma comercial, está compuesta de bacterias muertas enteras y se administra por vía parenteral, confiere una protección moderada y de duración breve, no previene la infección asintomática y sólo se ha sometido a prueba bajo condiciones endémicas, donde también se encuentra inmunidad adquirida naturalmente. Desde 1973, la OMSS ha advertido que la vacuna

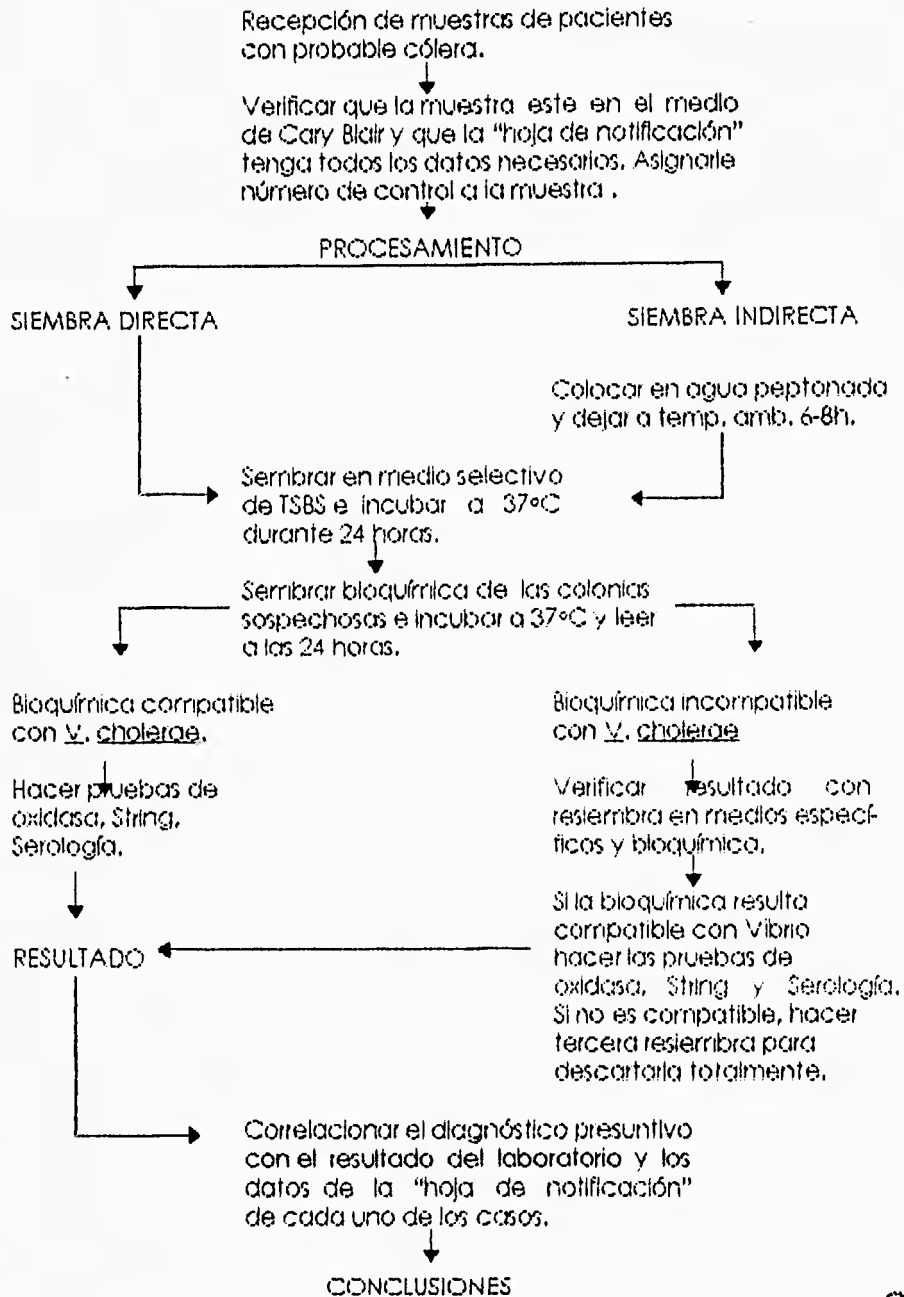
es ineficaz para prevenir la propagación del cólera y ha recomendado que no se exija por los países como condición para permitir la entrada de las personas que llegan desde un área endémica. También se ha desalentado el uso de la vacunación para prevenir la enfermedad durante una epidemia, porque su eficacia es baja (aproximadamente de 30-60% de protección), deben administrarse dos dosis y la protección se desarrolla sólo después de varias semanas.

Las perspectivas de desarrollar una vacuna eficaz contra el cólera han mejorado en los últimos años. Esto se debe a una mejor comprensión del sistema inmunológico de las mucosas, que protege contra las infecciones entéricas y a la evidencia de que los voluntarios que se recuperan de cólera están considerablemente protegidos contra la reinfección durante varios años. La vacuna ideal tendría que ser de bajo costo, inocua, fácil de administrarse y eficaz después de una sola dosis, además de proteger de la enfermedad durante un período prolongado y posiblemente reducir los riesgos de infección asintomática.

FALLA DE ORIGEN

CAPITULO II. PARTE EXPERIMENTAL

DIAGRAMA DE ACTIVIDADES



SUJETOS

La selección de los sujetos para el estudio se efectuó mediante la recepción y procesamiento de todas las muestras de materia fecal procedentes de pacientes con diarrea y cuadro clínico característico de cólera, durante el período de enero a junio de 1994.

A los individuos que tuvieron trato directo con un caso positivo de cólera también se les realizó la determinación de Vibrio en heces, por lo que también entraron dentro del grupo en estudio.

Todas las muestras se recibieron junto con la "hoja de notificación inmediata de caso probable de cólera" de la Jefatura Delegacional de Servicios Médicos.

Se excluyeron a los pacientes cuya muestra no se hubiera transportado adecuadamente, esto es, que no se encuentra en el medio de transporte correcto, que el hisopo estuviera fuera del medio, o que éste estuviera derramado hasta la tapa del tubo. También se excluyeron a los sujetos cuya "hoja de notificación inmediata de caso probable de cólera" no tuviera todos los datos necesarios. Se menciona solo como referencia los casos que hayan resultado negativos a cólera.

Para fines prácticos, se llevó a cabo un estudio retrospectivo de todos los casos probables de cólera, desde que se detectaron los primeros brotes en el Estado de Tabasco. Este estudio comprendió los meses de agosto a diciembre de 1993, tomando en consideración solamente los resultados

positivos y negativos a cólera, así como el sexo del paciente y procedencia de los casos, ya que no se pudieron obtener los datos de la "hoja de notificación del caso" de los casos positivos a cólera, debido a que inicialmente no se recababan los datos de dicha hoja.

El instrumento de medición que se utilizó fue una "hoja de notificación inmediata de caso probable de cólera" distribuida por la Jefatura Delegacional de Servicios Médicos.

MATERIAL Y EQUIPO

El material empleado durante el desarrollo del presente trabajo fue el que se emplea comúnmente en el laboratorio de Bacteriología.

Material:

- Asa bacteriológica
- Algodón
- Aplicadores
- Cajas de Petri
- Gradillas
- Guantes
- Hisopos estériles
- Libreta
- Marcador

FALLA DE ORIGEN

- Masking - tape
- Papel filtro
- Pinza recta
- Porta objetos
- Tubos de ensayo de 16 X 150mm y 13 X 100 mm.

Equipo:

- Encendedor
- Incubadora a 37°C
- Mechero de Bunsen
- Microscopio
- Refrigerador

MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

- Agua peptonada alcalina.
- Suero polivalente anti Vibrio cholerae.
- Medio de transporte de Cary-Blair.
- Medio TCBS (Agar tiosulfato, citrato, bills, sacarosa).
- Medio de Mc Conkey.
- Medios para pruebas bioquímicas (Kligler, MIO, LIA, citrato, urea).
- Reactivo de Erlich.
- Reactivo para oxidasa (para la detección de citocromo oxidasa producida por Neisseria, Pseudomonas, Vibrio).
- Reactivo prueba string (desoxicolato de sodio al 0.5%)

METODOLOGÍA

El estudio se llevó a cabo en el Departamento de Bacteriología, área donde se realizan todos los exámenes microbiológicos para determinar la presencia de Vibrio cholerae en las muestras enviadas a este laboratorio.

Se recibió cada muestra verificando que estuviera bien tomada y que se encontrará en el medio de transporte adecuado, asignándole un número a la hoja de notificación del caso, la cual debe contener los datos.

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

La sintomatología del cólera puede confundirse con la de otras enfermedades gastrointestinales; el diagnóstico de un caso severo de cólera en presencia de una epidemia no debe ofrecer mayor dificultad, pero los casos benignos o esporádicos no son fácilmente diferenciables de otras enfermedades diarreicas (20).

La posibilidad de diagnosticar cólera está siempre presente en regiones o países en que este padecimiento es endémico. Su reciente aparición y diseminación en algunos países de América obliga a pensar en tal entidad etiológica para incluirla como parte del diagnóstico diferencial del paciente con diarrea (16, 19).

FALLA DE ORIGEN

Otras enfermedades que ocasionalmente se han confundido con el cólera son las siguientes; Intoxicación alimentaria por compuestos organofosforados y metálicos, agotamiento por calor, paludismo, neoplasmas pancreáticos y obstrucción intestinal mecánica.

En ocasiones el cólera puede presentarse en forma de infección mixta; por ejemplo, los vómitos coléricos con Shigella o Salmonella y con otros parásitos.

FALLA DE ORIGEN

ENFERMEDAD	CARACTERISTICAS CLINICA
Salmonelosis	Presenta fiebre característica.
Intoxicación por alimentos con estilococos	En este caso los vómitos pueden preceder a la diarrea
Disentería bacilar aguda y amibiana.	Rara vez causan diarrea masiva y cursan con tenesmo, fiebre y evacuaciones con sangre y pus.
<u>Vibrio cholerae</u> 01.	En este caso las diarreas preceden al vómito, las heces muy pocas veces presentan sangre y pus.
<u>Vibrio cholerae</u> No. 01	En algunos casos resultan diferencias de <u>Vibrio cholerae</u> 01, casi siempre presenta un cuadro clínico más leve.
Gastroenteritis esporádicas y la forma epidémica.	Pueden simular cólera, pero el período de incubación suele durar de 24 a 48 horas.
<u>E. coli</u> enteropatógena o virales.	Causan diarrea infantil, pueden presentarse con deshidratación profunda, choque y muerte.

Cuadro No. 6 Diferenciación de Vibrio cholerae y otras enfermedades que cursan con diarrea (3)

FAJTA DE OBIEN?

TRANSPORTE DE MUESTRA

El medio de transporte más adecuado es el Cary-Blair. Una vez tomada la muestra, puede almacenarse a temperatura ambiente hasta por tres semanas, sin embargo, es importante hacerla llegar al laboratorio lo más pronto posible. En caso de que no se disponga del medio de transporte Cary-Blair, se puede utilizar agua peptonada alcalina como medio de transporte (siempre y cuando su transportación sea lo más rápido posible, ya que hay que recordar que el agua peptonada alcalina es un caldo de enriquecimiento).

Como última opción, puede utilizarse un hisopo de algodón, o bien un pedazo de papel higiénico empapado en la muestra, introduciéndolo en una bolsa de polietileno bien sellada para evitar la desecación. Estas muestras se transportan lo más pronto posible al laboratorio para su procesamiento.

PROCESAMIENTO EN EL LABORATORIO

SIEMBRA Y AISLAMIENTO

1. Hacer la primera siembra en el medio selectivo de TCBS, incubarlo a 37°C durante 24 horas (siembra directa).

2. Introducir el hisopo con la muestra en agua peptonada dejándola a temperatura ambiente durante 6-8 horas, hacer una siembra indirecta en el medio selectivo de TCBS, tomando para esto dos o tres asadas de la superficie del agua peptonada, incubar a 37°C durante 24 hrs.
3. Transcurrido el período de incubación de ambas siembras, realizar la lectura de las cajas haciendo la diferenciación morfológica de las colonias presentes. Para la identificación de las colonias, seleccionar las características de Vibrio cholerae (colonias que viran el medio verde a amarillo, son amarillas, planas, ligeramente convexas, de aproximadamente 2 mm de diámetro, presentan un aspecto viscoso cuando se les levanta del medio).
4. Realizar la siembra en el medio de TCBS con la técnica adecuada, tratando de obtener colonias perfectamente aisladas, con el objeto de separar y diferenciar la flora mixta presente.

La siembra indirecta se hace con la finalidad de inhibir el desarrollo de microorganismos indeseables ya que el agua peptonada es un caldo de enriquecimiento que permite la proliferación de los vibrios.

IDENTIFICACIÓN DEL GENERO VIBRIO

Las cepas de Vibrio pueden crecer en el medio de Mac-Conkey como colonias pálidas no fermentadoras de lactosa, pero usualmente requieren

de un medio de cultivo especial como es el TCBS, el cual no debe utilizarse si tiene más de 24 hrs de haberse preparado. En el agar TCBS las colonias típicas de Vibrio cholerae son amarillas, planas, un poco convexas, de aproximadamente 2 mm de diámetro mientras que las colonias verde-azuladas, grandes y planas, son típicas de V. parahaemolyticus. Sin embargo, no todas las colonias amarillas en medio TCBS son de Vibrio cholerae; dan también colonias amarillas, V. alginolyticus, V. cincinnatiensis, V. fluvialis, V. fumiisii, V. metschnikovi (que además es el único Vibrio oxidasa negativo) y algunos biotipos de V. vulnificus debido a que todos ellos fermentan la sacarosa.

Las colonias de Vibrio cholerae en TCBS generalmente son muy pegajosas, lo que dificulta la aglutinación directa de las que crecen en ese medio. Las colonias de V. cholerae O1 no pueden diferenciarse de las de V. cholerae No. O1 (3).

FALLA DE ORIGEN

CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante 1991 el cólera en el Estado de Tabasco presentó a nivel Nacional la mayor actividad epidémica. El número acumulado de casos de cólera es de 667 y a éstos se asocian 7 defunciones. Con estos datos se ve que el Estado de Tabasco tiene la tasa de incidencia más alta de todo el país con un 23,9%.

Durante 1992 se registraron en dicho estado 346 casos, lo cual representa una tasa de 24,5% a nivel nacional, con una defunción por cólera.

Durante este año de 1992, en las 22 delegaciones del IMSS se notificaron 508 casos confirmados de cólera con tasas de incidencia que van de 0,06 (Jalisco) a 26,9 (Tabasco) por cada 100,000 habitantes.

A nivel nacional, la tasa de incidencia institucional es de 1,3 para el total de la población derechohabiente. Las delegaciones que resaltan por tener tasas de incidencia altas son: Tabasco (26,9), Yucatán (25,4) y Campeche (12,9) entidades federativas que son colindantes y comparten similares situaciones en la presentación de factores de riesgo.

Durante el año de 1993, en Tabasco se presentaron 238 casos de cólera con 1 defunción, correspondiendo a una tasa de incidencia del 17,1

Del mes de Enero al mes de Junio de 1994 se presentaron 232 casos de cólera y una defunción provocada por esta enfermedad en el Estado de Tabasco (Cuadro No. 7)

Año	Casos de cólera
1991	667
1992	347
1993	238
(Ene-Jun) 1994	232

Cuadro No. 7 Casos de cólera en el Estado de Tabasco
(Secretaría de Salud)

Con los datos anteriores podemos determinar que Vibrio cholerae continúa presente en el Estado de Tabasco. Siendo en el año de 1991 (667 casos) cuando más estragos causó el cólera entre la población tabasqueña, para disminuir en 1992 (346 casos) y en 1993 (238 casos). Según datos estadísticos de 1994 (enero a junio), se tienen 232 casos de cólera.

Entre los derechohabientes del IMSS.

Los casos positivos para Vibrio cholerae son: Cuadro No. 8

Año	No. de casos
1991	118
1992	132
1993	55
(Ene-Jun) 1994	19

Cuadro No. 8

Con la finalidad de tener un panorama más amplio de la situación que prevalece, desde que se presentaron los primeros casos de cólera en el Estado de Tabasco se llevó a cabo un estudio de todos los casos probables de cólera presentados durante los meses de Enero a Junio de 1994 (Cuadro No. 9).

Casos	MESES						
	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	
POSITIVOS	2	3	5	3	6	0	19
NEGATIVOS	36	35	74	27	45	48	265
TOTAL	38	38	79	30	51	48	284

Cuadro No. 9

Se obtuvo información acerca del sexo de los pacientes ; así como el municipio de procedencia de los mismos y otros contemplados en las hojas de notificación de casos de cólera como son: edad, número de evacuaciones, presencia de vómitos, presencia o ausencia de deshidratación, presencia de fiebre, calambres, si fue o no hospitalizado, la evolución del paciente y su estado de salud actual.

Durante los meses de Enero a Junio de 1994 se procesaron 284 muestras, de las cuales 19 fueron positivas y 265 resultaron negativas.

De los casos positivos, 13 fueron masculinos correspondiendo a un 68.42% y 6 casos femeninos para un 31.57%.

Los meses en los que se presento mayor incidencia de cólera fueron marzo con 5 y mayo con 6 casos positivos.

La distribución de los casos positivos en los municipios del Estado de Tabasco afectados por el cólera fue la siguiente:

MUNICIPIO	CASOS
Centla	1
Centro	2
Cunduacan	1
Jalapa	2
Nacajuca	1
Tacotalpa	2
Teapa	9

Cuadro No. 10 Número de casos positivos por municipios
(Enero-Junio 1994)

El 15.7 por ciento (n=3) presentaron menos de 5 evacuaciones en 24 horas y el 84.2 por ciento (n=16) presentaron más de 5 evacuaciones; teniéndose un mínimo de 2 y un máximo de 16 evacuaciones.

El 100% de las evacuaciones fueron líquidas diarréicas, de las cuales el 73.68 por ciento (n=14) presentaron aspecto de "agua de arroz" y el 26.31 por ciento no lo presentaron.

En cuanto a la situación de la sintomatología que cursó el paciente se observó lo siguiente.

De los pacientes que cursaron con situación satisfactoria, 11 de ellos (57.89%) requirieron servicios de urgencias con menos de 24 horas de estancia; los que tenían situación delicada, 6 pacientes (32.57%), permanecieron en urgencias de 24 a 48 horas y los que estaban graves (2 pacientes 10.5%) permanecieron más de 48 horas.

No se notificó ninguna defunción por cólera en la población derechohabientes del I.M.S.S. Tabasco en el periodo Enero - Julio de 1994.

FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

En la distribución por grupos de edad y sexo se observa que de 25 a 44 años fueron los grupos más afectados; considerando que es la población económicamente activa, lo cual reditúa en la economía del Estado, se concluye que el cólera afecta directamente a la economía del país ya que son muchos los estados que actualmente se encuentran afectados.

Durante todo el estudio se concluye que los hombres fueron los más afectados debido al tipo de actividades que desempeñan, ya que generalmente pasan la mayor parte del día fuera del hogar y, por lo mismo ingieren comidas callejeras que indiscutiblemente poseen dudosa calidad en cuanto a la higiene de su preparación.

De las personas afectadas, el 84.2 por ciento tuvieron entre 5 y 18 evacuaciones en 24 horas lo cual nos da un porcentaje elevado de deshidratación.

El aspecto de "agua de arroz" de las evacuaciones también fue significativo, ya que el 73.68 por ciento lo presentaron, por lo que se concluye que es un dato diagnóstico presuntivo de cólera.

De los pacientes hospitalizados, sólo un pequeño porcentaje requirió de más de 48 horas de hospitalización, lo que nos da una idea de lo conveniente que es tratar oportuna y eficazmente este mal.

FALLA DE ORIGEN

Cabe recordar que las cifras antes mencionadas no son representativas de la magnitud del problema suscitado en el Estado de Tabasco con la aparición del cólera, ya que sólo se trabajó con la población derechohabiente del I.M.S.S. Tabasco.

La gran campaña de concientización y las medidas de seguridad, han hecho posible que el número de personas afectadas por el cólera disminuya considerablemente. Dicha campaña se difundió a la población en general por los medios de comunicación masiva e incluye una medida de prevención básica como es la higiene.

FALLA DE ORIGEN

ANEXO

Caracterización bioquímica y serológica.

Los medios y pruebas que fueron creados con la finalidad de identificar cultivos de la familia Enterobacteriaceae funcionan bien para Vibrio cholerae, debido a que dicha especie tiene sólo requerimientos de sodio ligeramente aumentados, los cuales se satisfacen con la cantidad de NaCl que contienen la mayoría de los medios utilizados.

Vibrio cholerae utiliza la glucosa por la vía fermentativa, lo cual produce acidificación del medio en el fondo del tubo del agar hierro de Kilgler (KIA). Fermenta la sacarosa causando una reacción fondo ácido/pico ácido en el agar hierro triple azúcar (TSI). En el agar hierro lisina (LIA), provoca un pico alcalino al descarboxilar la lisina; produce indol, no utiliza citrato de Simmons y no produce ureasa (1).

La batería de bioquímicas que se utiliza es la siguiente:

Caldo de UREA	agitando el asa de platino
Agar MIO	con picadura hasta el fondo.
Agar LIA	con picadura y estría en el pico de flauta.
CITRATO	con estría en el pico de flauta.
KILGLER	con picadura y estría en el pico de flauta.

Después de inocular los tubos colocar a 37°C durante 24 horas.

Leer las bioquímicas después de la incubación, seleccionando las que presenten las características específicas de Vibrio: Lactosa (-), glucosa (+), Ure (-), movilidad (+), Ornitina (+), Indol (+), citrato (+), Lía (+), producción de H₂S (-).

Tomar las colonias del tubo Kligler para realizar las pruebas siguientes:

- A) PRUEBA DE LA OXIDASA, si es positiva hace) (B)
- B) PRUEBA DEL HILO MUCOSO (String).

Hacer la prueba de aglutinación con el suero polivalente para Vibrio, para determinar el serogrupo (O1 y No. O1), así como el subtipo (Inaba y Ogawa).

1. REACCIÓN DE LA UREASA.

La prueba de la ureasa ayuda a identificar a los microorganismos del género Proteus que dan la prueba positiva, de los géneros Salmonella, Arizona, Citrobacter, Shigella y Vibrio que la dan negativa.

La enzima ureasa hidroliza la urea en amoníaco y anhídrido carbónico, ante la variación de pH por la alcalinización, el indicador de fenolftaleína vira de incoloro o ligeramente color canela a rosa mexicano.

Lectura:

Urea negativo	incoloro
Urea positivo	color rosa mexicano

2. MEDIO MIO. Es un medio semisólido, se siembra por picadura hasta el fondo del tubo, sirve para determinar la movilidad, la producción de Indol y la descarboxilación de la ornitina.

Movilidad positiva	El medio se enturbia y se observa crecimiento en todo el tubo.
Movilidad negativa	El crecimiento es sólo a lo largo de la picadura.

Para llevar a cabo la prueba del indol, el cual es un producto del triptofano, se agregan 5 gotas del reactivo de Ehrlich al medio.

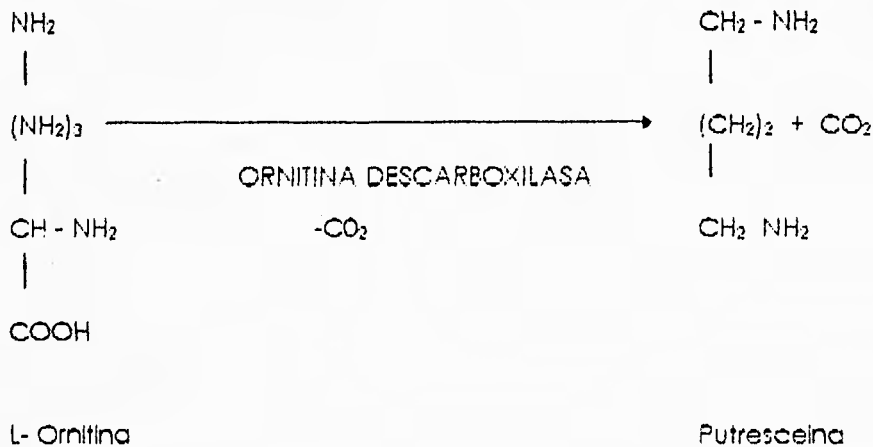
Indol positivo	Formación de un anillo de color rojo en la superficie del medio.
Indol negativo	Formación de un anillo ámbar en la superficie del medio.

La descarboxilación de la ornitina se lleva a cabo en anaerobiosis, por lo que la prueba se lee en el fondo del tubo. Para esta interpretación se emplea el indicador de púrpura de bromocresol.

Ornitina positiva	El fondo del tubo debe alcalinizarse y presentar un color púrpura o morado.
Ornitina negativa	El fondo del tubo vira a amarillo con un pH ácido.

La prueba se basa en la facultad de los microorganismos de descarboxilar el aminoácido ornitina, en la amina putresceína, liberando CO₂.

Mecanismo de la reacción:



3. AGAR DE HIERRO Y LISINA (LIA). Este medio se solidifica inclinado. Sirve para determinar la descarboxilación de la lisina que se lleva a cabo en anaerobiosis y la desaminación de la lisina que se lleva a cabo en aerobiosis.

DESCARBOXILACION DE LA LISINA. Esta prueba es de gran utilidad para la identificación de algunas enterobacterias, el 95 por ciento o más de cepas de Edwardiella y Salmonella dan la prueba positiva. Los microorganismos que dan la prueba negativa pertenecen al género Shigella, Citrobacter, E. cloacae y el grupo Proteus-Providencia.

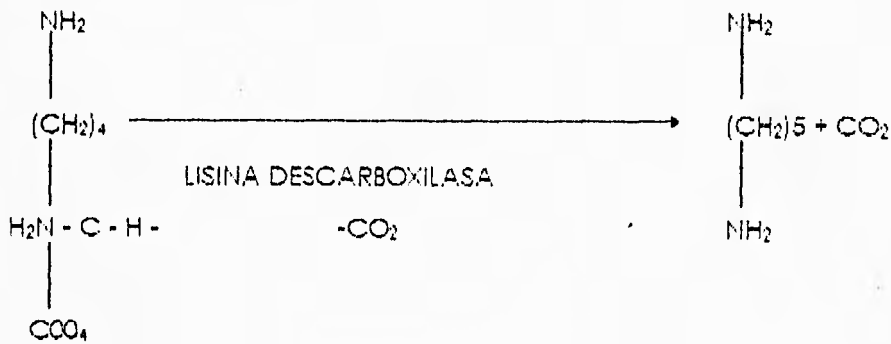
FALLA DE ORIGEN

En este medio también se puede observar la fermentación de la glucosa y la producción del ácido sulfhídrico.

La prueba se basa en que los microorganismos que tienen la enzima lisina descarboxilasa, descarboxilan el aminoácido lisina cadaverina (amina primaria) liberando CO₂, debido a la alcalinidad de la cadaverina el pH de la reacción se modifica.

Mecanismo de la reacción:

A)



L- lisina

cadaverina

B) Púrpura de bromocresol (amarillo) CADEVERINA

Púrpura de bromocresol (violeta púrpura)

pH = 5.2

pH = 5.2

FALLA DE ORIGEN

INTERPRETACIÓN

Descarboxilación positiva	Fondo del tubo de color púrpura
Descarboxilación negativa	Fondo del tubo color amarillo.

pH ácido; vire del indicador a amarillo.

pH alcalino; vire del indicador a púrpura.

Desaminación positiva	Superficie del tubo rojo vino.
Desaminación negativa	Superficie del tubo púrpura o sin cambio.

4. AGAR CITRATO DE SIMMONS. Tiene un pH= 6,9, es una modificación del medio original de Koser con el agregado de 1,5 por ciento de agar y un indicador de pH, azul de bromotimol. Puede incorporarse al medio como fuente de carbono, citrato de sodio o citrato de potasio. Este medio nos sirve para determinar si un microorganismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono para el metabolismo, provocando alcalinidad.

Algunas bacterias pueden suministrar energía en ausencia de fermentación o producción de ácido láctico empleando el citrato como única fuente de carbono y producen la siguiente lecturas:

Prueba positiva	Crecimiento con un color azul intenso en el pico de flauta.
Prueba negativa	No se observa crecimiento ni cambio de color.

5. AGAR DE HIERRO DE KLIGLER (KIA O AHK). El agar de hierro de Kligler es un medio que está diseñado para la fermentación de hidratos de carbono para diferenciación entre varios grupos, géneros y especies de las enterobacterias, así como para otro grupo de metabolismo oxidativo. Este medio nos sirve para determinar la capacidad de un microorganismo para atacar un hidrato de carbono específico incorporado al medio, con producción o no de gases, junto con la producción de ácido sulfhídrico y/o las formas de fermentación que son generalmente características de los grupos, géneros o especies bacterianos específicos, sobre todo entre las enterobacterias (7, 11).

REACCIÓN ALCALINA/ÁCIDA. (Únicamente fermentación de la glucosa). La reacción alcalina se debe a que el microorganismo en estudio consumió toda la glucosa del medio utilizando después las peptonas a partir de las que libera amoníaco, virando el pH a la alcalinidad.

REACCIÓN ÁCIDA/ÁCIDA. (Fermentación de la glucosa y de la lactosa). Esta reacción resulta de la utilización fermentativa tanto de la glucosa como de la lactosa, ésta última desdoblada por la actividad de la galactosidasa, originando así una fuente adicional de glucosa que evita el consumo prematura de las peptonas.

La producción de ácido sulfhídrico se evalúa por la presencia o no de un precipitado insoluble de color negro en el medio de cultivo, las fuentes de azufre son dos: Las suplementadas por las proteínas con sus aminoácidos azufrados y el tiosulfato de sodio en un medio ácido como fuente inorgánica de azufre, la reducción de tiosulfato en un medio ácido permite

que el azufre actúe como receptor de electrones, generándose así H_2S , gas incoloro que en presencia de hierro precipita en forma insoluble como un precipitado de color negro.

INTERPRETACIÓN

A) UTILIZACIÓN DEL HIDRATO DE CARBONO

1. Fermentación de la glucosa solamente.

- a) Pico de flauta; reacción alcalina; color rojo (K)
- b) Capa profunda; reacción ácida; color amarillo (A).

Si también se produce gas y H_2S , el precipitado negro puede ocultar la acidez.

2. Fermentación tanto de la glucosa como de la lactosa

- a) Pico de flauta; reacción ácida color amarillo (A).
- b) Capa profunda; reacción ácida; color amarillo (A).

Citrobacter freundii produce también H_2S , además de fermentar ambos hidratos de carbono.

Sin embargo, existe una condición ácida en la capa profunda, que se registra como tal aunque no se observe.

3. No fermentación de la glucosa ni de la lactosa (no entéricos).

- a) Pico de flauta; reacción alcalina; color rojo (K).

b) Capa profunda.

- Organismos aeróbicos. No se observa crecimiento, no hay cambio de color.

El color es el mismo que en el tubo no inoculado, color anaranjado-rojizo. Si no hay seguridad, compararlo.

- Organismo facultativo; reacción alcalina, color rojo.

4. No fermenta ni la glucosa ni la lactosa.

a) Pico de flauta.

b) Crecimiento solamente.

No hay cambio de color; el mismo del tubo sin inocular.

B) PRODUCCIÓN DE GAS.

1. Aerogénico.

a) Producción de gases CO_2 y H_2 .

b) Se manifiesta por lo siguiente:

Una sola burbuja de gas.

Burbujas en el medio.

Desdoblamiento del medio.

Desplazamiento completo del medio del fondo del tubo.

Ligera muesca del medio en un costado del tubo.

2. Anaerogénico: No hay producción de gases.

C) PRODUCCIÓN DE ÁCIDO SULFHDIRICO (H_2S).

La presencia de un precipitado negro (sulfato ferroso) se manifiesta por:

Un color negro distribuido por toda la capa profunda y que enmascara la acidez; puede haber una ligera evidencia en el pico de flauta.

Un anillo cerca de la parte superior de la capa profunda.

Un precipitado negro distribuido por la capa profunda, pero que se oculta totalmente por la acidez (11).

SUSTRATO	PRUEBA	INTERPRETACION	RESULTADO.
Ureasa	Urea	Ligeramente amarillo	Negativo
	Movilidad	Con turbidez en el tubo	Positivo
MIO	Indol	Con reactivo de Ehrlich, anillo rosa mexicano en la superficie	Positivo
	Ornitina	Color púrpura fondo del tubo	Positivo
Citrato	Citrato	Color azul intenso en el pico de flauta	Positivo
LIA	Lisina descar- boxilasa	Con color púrpura fondo del tubo	Positivo
	Glucosa	Con color amarillo capa profunda	Positivo
KLIGLER	Lactosa	Con color rojo en pico de flauta.	Negativo
	H ₂ S	Sin precipitado negro	Negativo
	CO ₂	Sin formación de burbujas	Negativo

Cuadro No. 9 REACCIONES BIOQUÍMICAS DE V. Cholerae

PRUEBA DE OXIDASA

La prueba de oxidasa debe realizarse con crecimiento fresco procedente de un cultivo en Kligler, el cual es alcalino, (no usar cultivos de TCBS).

En una tira de papel filtro colocado sobre una caja de petri colocar 2 a 3 gotas de reactivo de oxidasa, (N, N, N, N, Tetrametil parafenilén diamina).

PRUEBA DEL HILO MUCOSO (STRING TEST)

Esta prueba se lleva a cabo en un portaobjetos, suspendiendo un inóculo de un cultivo de 18 - 24 h del medio de Kligler, en una gota de suspensión acuosa de desoxicolato de sodio al 0.5 por ciento.

Cuando la reacción es positiva, como en el caso de los vibrios, la suspensión pierde inmediatamente su turbiedad y adquiere una consistencia mucolde, formándose un "hilo mucoso" o "collar" que se observa al levantar y alejar el asa lentamente de la suspensión.

DIFERENCIACIÓN SEROLOGICA

Prueba de aglutinación con suero anti V. cholerae O1.

1. En un portaobjetos limpio y desengrasado colocar con una pipeta una gota de solución salina al 0.85 por ciento.

2. Del crecimiento en base de agar sangre (BAB) o de un tubo de Kligler de la cepa a confirmar, tomar una asada y hacer una suspensión homogénea en la solución salina.
3. Mezclar ambas gotas con un aplicador y observar si hay aglutinación microscópica.
4. Se considera V. cholerae 01 si la aglutinación es positiva y V. cholerae No 01 si es negativa.
5. Si ocurre aglutinación positiva, proceder a la determinación de los serotipos Inaba, y Ogawa con sueros monovalentes.

FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFIA

1. Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons
BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATE BACTERIOLOGY
Editorial The Williams and Wilkins Co.
U.S.A.
2. Davis B. P., Dulbecco R., Elsen H. Nand
Ginsbérq H. S.
Microbiology
Forurth Edition J. B. Lippinco co.
Philladelphia, Pennsylvania 1990.
3. Glono C. S. Gutiérrez C. L.; Hinojosa A. A.
MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA AISLAMIENTOS Y
CARACTERIZACION DE Vibrio cholerae 01
Publicación Técnica del INDRE # 10
Secretaría de Salud
México, D. F. (1991)
4. Instituto Mexicano del Seguro Social
CURSO AGENTES ENTEROPATOGENOS DE LA DIARREA INFECCIOSA CON
ENFASIS EN Vibrio cholerae.
Subdirección General Médica
Jefatura de Atención Primaria de la Salud (1991).

FALLA DE ORIGEN

5. Instituto Mexicano del Seguro Social
DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO PARA LA IDENTIFICACION DE Vibrio cholerae.
Subdirección General Médica
Jefatura de Atención Primaria de la Salud (1991).

6. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud, México.
Vol. 1 No. 3 (1991)

7. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud, México
Vol. No. 6 (1991).

8. Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud, México.
Vol. 1 No. 7 (1991).

9. Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud, México
Vol. 1 No. 8 (1991).

10. Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud.- México
Vol. 1 No. 12 (1991).
11. Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud. México
Vol. 1 No. 13 (1991).
12. Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud. México
Vol. 3 No. 12 (1993).
13. Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud. México
Vol. 4 No. 1 (1994).
14. Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud. México
Vol. 4 No. 2 (1994).
15. Instituto Nacional de Diagnóstico y referencia Epidemiológicos.
BOLETIN QUINCENAL, COLERA/DIARREAS INFECCIOSAS.
Secretaría de Salud. México
Vol. 4 No. 3 (1994).

16. Kumate J, Sepúlveda S, Gutiérrez G.
EL CÓLERA EPIDEMIAS, ENDEMIAS Y PANDEMIAS.
Editorial Interamericana.
México (1993).
17. Lennette, E. H.; Balows A; Hausler W. J.; Shadomy H. J.
MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA
Editorial Médica - Panamericana.
Edición 4a (1991)
Argentina (1991).
18. Manual de Bacteriología Médica.
Academia de Profesores de bacteriología Médica
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
Edición 4a.
México, 1983.
19. Saltigerat S. P. y González S. N.
CÓLERA CONCEPTOS ACTUALES
Editorial Interamericana S. A. DE C.V.
México 1992.
20. Secretaría de Salud
CUADERNO DE CAPACITACION EN SALUD
México 1991.

21. Secretaría de Salud

AGENTES ENTEROPATOGENOS DE LA DIARREA INFECCIOSA CON ENFASIS
EN Vibrio cholerae.

Jefatura de Atención Primaria a la Salud.

México, 1991.

22. Secretaría de Salud

DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO DEL CÓLERA

Laboratorio Regional de Salud Pública

Villahermosa, Tabasco (1992).

23. Valdespino G. J. L.; García G. M. L.; Gutiérrez C. L.; Glano C. S.; Morales;

R. A.; Sepúlveda A. J.

MANUAL SOBRE CÓLERA PARA PERSONAL DE SALUD. 85 PREGUNTAS Y
RESPUESTAS.

Publicación Técnica del INDRE # 11.

México, D. F. 1991.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**