

33
2eg.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

ETIOPATOGENIA DE LA DIARREA
AGUDA EN ADULTOS

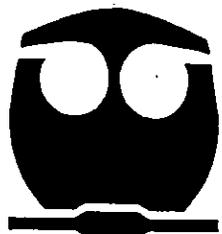
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A:

JOSEFINA ESCOBAR SERRANO



MEXICO, D. F.

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

266289



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 : PROF. ELDA BEATRIZ PENICHE QUINTANA

VOCAL : PROF. MARISOL LOPEZ LOPEZ

SECRETARIO : PROF. CECILIA XIMENEZ GARCIA

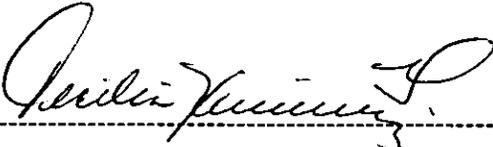
1er. SUPLENTE : PROF. MAITE ASTIGARRAGA ZAVALETA

2o. SUPLENTE : PROF. FERNANDO GARCIA TAMAYO

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

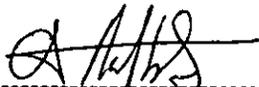
DEPARTAMENTO DE MEDICINA EXPERIMENTAL, FACULTAD DE
MEDICINA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA



DRA. CECILIA XIMENEZ GARCIA

SUPERVISOR TÉCNICO



DR. CARLOS ESQUIVA CAMPOS

SUSTENTANTE



JOSEFINA ESCOBAR SERRANO

AGRADECIMIENTOS.

A LA DRA. CECILIA XIMENEZ POR SU APOYO EN LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

AL DR. CARLOS ESLAVA CAMPOS POR SU APOYO Y ASESORIA.

AL BIOL. ARMANDO NAVARRO OCAÑA POR SU ASESORIA EN LA REALIZACION DEL TRABAJO DE LABORATORIO.

A LA MAESTRA ELDA BEATRIZ PENICHE POR SU ASESORIA.

A TODOS LOS INTEGRANTES DEL LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA QUE DE ALGUNA FORMA SE INVOLUCRARON EN LA REALIZACION DE ESTA TESIS.

A TODOS LOS INTEGRANTES DEL LABORATORIO DE MEDICINA EXPERIMENTAL ESPECIALMENTE A: MALENA, PATRICIA, CECILIA, AL SR. CATALINO POR SU PACIENCIA Y AYUDA

A MIS AMIGAS (OS): LULU, TINA, PATY, ALEJANDRO, YOLANDA, RAUL, ANGELES.

UN AGRADECIMIENTO MUY ESPECIAL AL DOCTOR CARLOS ESLAVA CAMPOS POR TODO SU APOYO, COMPRESION, SU GRAN AMISTAD Y SU AYUDA PARA PODER TERMINAR MI TESIS.

DEDICATORIA

A MIS PADRES: JOSÉ ESACOBAR L., HERIBERTA SERRANO B.
POR SU APOYO, CONFIANZA Y CARIÑO.

A MIS HERMANOS: ANDREA, TERESA, JOSÉ LUIS, JORGE,
ADELA.
POR SU APOYO Y CARIÑO.

A MI ESPOSO: ADRIAN COLLADO.
POR SU AMOR Y APOYO EN TODO MOMENTO.

A MI HIJA: ADRIANA JAZMIN.
POR DARME LA DICHA DE SER MADRE.

A MI PRIMA: MARTHA.
POR SU AYUDA Y COMPAÑÍA.

A MIS SOBRINOS: FREDY, JOSÉ DE JESUS.

A DIOS, POR PERMITIRME ESTAR AQUÍ.

INDICE

PAG.

INTRODUCCIÓN	1
1.0 OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	4
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
HIPÓTESIS	5
2.0 ANTECEDENTES	6
FISIOPATOLOGÍA DE LA DIARREA	6
TIPOS DE DIARREA	7
INMUNIDAD ASOCIADA AL INTESTINO	12
FAMILIA <i>ENTEROBACTERIACEAE</i>	17
<i>E. coli</i>	21
<i>Salmonella</i>	27
<i>Shigella</i>	31
PARASITOS INTESTINALES	33
<i>E. histolytica</i>	33
3.0 PARTE EXPERIMENTAL	37
MATERIAL	37
MEDIOS DE CULTIVO	37
REACTIVOS	39
METODOLOGÍA	40
EXAMEN COPROPARASITOSCÓPICO	42
EXAMEN COPROPARASITOSCÓPICO DIRECTO	42

	PAG.
MÉTODO CUANTITATIVO DE FERREIRA	42
COPROCULTIVO	44
IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA	45
TIPIFICACION SEROLOGICA DE CEPAS DE <i>E. col</i>	47
PREPARACIÓN DE LOS ANTÍGENOS	48
4.0 RESULTADOS	52
DETECCIÓN DE PARÁSITOS INTESTINALES	52
IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS	52
VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS DE LOS PACIENTES	53
MANIFESTACIONES CLÍNICAS	54
5.0 DISCUSIÓN	61
6.0 CONCLUSIONES	69
ANEXO	71
7.0 BIBLIOGRAFÍA	72

INTRODUCCIÓN

MAGNITUD Y TRASCENDENCIA DE LAS INFECCIONES GASTROINTESTINALES

Consideradas en conjunto, las enfermedades infecciosas constituyen la mayor causa de muerte a nivel mundial. Entre éstas, las del tracto gastrointestinal son la segunda causa de muerte afectando principalmente a la población infantil preescolar de los países en desarrollo, así como a los individuos mayores de 60 años (22, 42).

La población mundial para 1990 fue calculada en 5,292 millones de habitantes, de los cuales, el 77.2% vivían en países en desarrollo. La tercera parte de esta población era de menores de 15 años, la quinta parte de la población no dispone de abasto de agua potable, una tercera parte de la misma población no dispone de ningún tipo de sistema higiénico de eliminación de las excretas y el 80% vivía en áreas rurales. Asimismo, en estos países en desarrollo el 60% de la población total es analfabeta (22, 54).

La Organización Mundial de la Salud estimó que los niños menores de 5 años presentan en promedio tres episodios de diarrea al año. El cálculo de mortalidad mundial por enfermedades diarreicas y parasitarias en los países en desarrollo fue de 50 millones de

defunciones, observándose que la tercera parte de estas defunciones fue en menores de 5 años (10, 17, 18, 54).

La familia *Enterobacteriaceae* está constituida entre otras bacterias por miembros de los géneros *Escherichia*, *Shigella* y *Salmonella* los cuales incluyen especies con propiedades patogénicas para el humano. Lo anterior los ha constituido como los principales agentes bacterianos causantes de la mayor parte de los casos de diarrea infecciosa con evolución aguda (4, 18, 56) y, por ende, responsables de la muerte por diarrea y deshidratación en la población menor de 5 años (15).

La amibiasis es una enfermedad cosmopolita de tipo endémico y de las parasitosis la más frecuente en diferentes países del mundo incluido México. Estudios epidemiológicos indican que aproximadamente el 10% de la población mundial alberga en el intestino a *E. histolytica*. Se calcula que 500 millones de individuos se encuentran infectados por este parásito (17, 42) de los cuales el 10 % desarrolla alguna forma de amibiasis invasora y el 1 % muere anualmente por esta enfermedad (17, 25, 26).

En los adultos, la etiología de las diarreas agudas no está plenamente aclarada, aunque en niños la infección por virus, bacterias patógenas, y parásitos son la principal causa de diarrea aguda y deshidratación, se desconoce si es el mismo caso para la

población adulta en nuestro país. Es por ello que fue de interés investigar si en individuos adultos de diferentes edades cursando con diarrea aguda, era posible establecer la presencia de patógenos intestinales bacterianos (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*.) o protozoarios (*E. histolytica*) para asociarlo como el o los agentes responsables del cuadro de diarrea aguda en el grupo de pacientes estudiados (17, 18).

1.0 OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Determinar la participación de patógenos bacterianos y/o protozoarios en la etiología de la diarrea aguda en el adulto.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar el aislamiento e identificación de enterobacterias (*Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*) en muestras de heces.

Realizar la búsqueda de *E. histolytica* en muestras de heces

Establecer si existe asociación entre condiciones sociodemográficas y socioeconómicas con la presencia de diarrea aguda en pacientes adultos.

Evaluar las condiciones sanitarias de la población en estudio y evaluar si existe relación con la presencia de procesos diarreicos.

Determinar los serotipos de *E. coli* aislados y establecer si pertenecen a los grupos patógenos causantes de procesos diarreicos reportados en niños.

HIPÓTESIS

La etiología de la diarrea aguda en adultos es principalmente de origen no infeccioso.

2.0 ANTECEDENTES

FISIOPATOLOGIA DE LA DIARREA.

La diarrea se define como el aumento en la frecuencia del número de las evacuaciones, así como disminución de la consistencia de las mismas (35).

La cantidad total de líquidos que ingresa al tubo digestivo es de aproximadamente 9 litros al día, en estos se incluyen los líquidos que se ingieren, la saliva, jugo gástrico, bilis, secreciones pancreáticas e intestinales. La mayor parte se absorbe en el yeyuno e ileon y aproximadamente sólo 600 mL llegan al colon donde se absorben otros 400 mL, de ahí que el volumen diario de la materia fecal sea menor de 200 g (22) volúmenes mayores de los señalados indican la presencia de diarrea. En lo que respecta a la frecuencia, se considera anormal todo aumento en el número de evacuaciones en relación al número de excreta habitual de cada individuo (35).

Podemos definir como diarrea aguda aquélla que tiene menos de dos a tres semanas de duración, generalmente es autolimitada y responde a un manejo conservador (22, 35).

La diarrea crónica o persistente, tiene una duración mayor a 14 días o bien es recurrente y se caracteriza por un aumento en el bolo fecal. Cuando la patología responsable de un cuadro diarreico se localiza en el colon distal, el peso de las heces no está aumentado y entonces el síndrome diarreico se presenta como un aumento en el número de evacuaciones, las que son dolorosas y se acompañan de moco, sangre u otros exudados (22, 35).

Existen cinco mecanismos básicos en la producción de diarrea:

- 1.-La presencia en la luz intestinal de sustancias osmóticamente activas (diarrea osmótica).
- 2.-La secreción activa de iones hacia el intestino (diarrea secretoria).
- 3.-Inhibición del proceso normal de absorción iónica.
- 4.-Movilidad intestinal aumentada.
- 5.-Secreción hacia la luz intestinal de moco, sangre y proteínas a partir de sitios inflamados (diarrea exudativa).

TIPOS DE DIARREAS

DIARREA OSMÓTICA.

Este tipo de diarrea está causado por la ingestión de solutos que se absorben poco, generalmente carbohidratos o iones divalentes (7, 13). Los principales agentes causantes de diarrea osmótica se

señalan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Agentes causantes de diarrea de tipo osmótico.

Exógenas	Laxantes Antiácidos Alimentos Medicamentos
Endógenas	Congénitas (mala absorción intestinal) Adquiridas (solutos no absorbibles)

Este tipo de diarrea se caracteriza porque desaparece cuando el paciente está en ayuno o bien deja de ingerir los solutos que no se absorben.

DIARREA SECRETORIA Y DIARREA POR INHIBICIÓN DE LA ABSORCIÓN IÓNICA.

En condiciones normales, las células del intestino delgado secretan y absorben electrolitos y agua, aunque el efecto de secreción es menor que el de absorción. La secreción se origina a partir de las células de las criptas, mientras que la absorción se efectúa en la vellosidades. En la actualidad se sabe que los mediadores de la secreción iónica en el intestino también inhiben su absorción, de manera que uno de los dos tiene como consecuencia una diarrea secretoria cuando el índice de absorción está reducido o hay secreción intestinal (7, 13, 22).

Cuadro. 2. Principales causas de la diarrea secretoria y de la inhibición de la absorción iónica.

	AGENTE CAUSANTE
Principales mediadores	Enterotoxinas Ácidos biliares Ácidos grasos Defectos congénitos
Enfermedades congénitas	Enfermedad inflamatoria Enfermedad de la colágena Atrofias de las vellosidades intestinales Hipertiroidismo Carcinoma medular de tiroides

MOVILIDAD INTESTINAL ALTERADA.

Las alteraciones en la movilidad intestinal pueden afectar la absorción, ya que cuando aquella disminuye ésta aumenta. La movilidad determina el tránsito del bolo líquido a través de las células del epitelio y el contenido luminal y, por lo tanto, el tiempo de contacto con las células epiteliales, de manera que si existe una movilidad aumentada puede presentarse diarrea, aunque la función de absorción de las células epiteliales sea normal. Esto puede ocurrir por reducción del tiempo de contacto entre el contenido luminal y las células epiteliales (22). Las causas de diarrea por alteraciones en la movilidad se señalan en el cuadro número 3 (6, 22).

Cuadro 3. Causas de diarrea ocasionada por alteraciones en la movilidad intestinal.

Enfermedad	Síndrome de colon irritable Síndrome de carcinoide maligno Carcinoma medular de tiroides Neuropatía diabética Diarrea infecciosa
------------	--

DIARREA EXUDATIVA.

La ruptura de la integridad de la mucosa intestinal debida a la inflamación y/o ulceración, puede condicionar una descarga de moco, proteínas séricas y sangre hacia la luz intestinal. En este caso el exudado no es lo suficientemente voluminoso para condicionar una pérdida excesiva de agua y electrolitos en la materia fecal. Cuando esto último ocurre en un paciente, muy probablemente refleje uno de los otros mecanismos que dan lugar a la diarrea (6).

DIARREAS ORIGINADAS POR DAÑO DEL BORDE EN CEPILLO DEL ENTEROCITO.

No todas las diarreas son originadas por los motivos mencionados anteriormente. Existe un grupo de diarreas caracterizadas por daño de los enterocitos y muerte de los mismos con daño e inflamación que puede ir de mínima a intensa y en la cual existe absorción deficiente y secreción.

La respuesta histológica del daño al enterocito y su muerte es diferente en el intestino delgado y en el colon, aunque el proceso funcional probablemente sea el mismo. En el intestino delgado, tanto las microvellosidades del enterocito como las vellosidades inicialmente se acortan, se hacen más gruesas y pueden desaparecer completamente.

Al mismo tiempo puede haber una hiperplasia compensadora de las criptas, ya que ellas responden a una señal de la célula madre para dividirse y los nuevos enterocitos migran a la parte superior de las criptas en un intento por reponer las vellosidades. La respuesta histológica del colon a la muerte de las células epiteliales es una disminución de las células superficiales, pero con una hiperplasia regenerativa irregular de las criptas. El resultado de esto es la presencia de células inmaduras sobre vellosidades inmaduras o inexistentes del intestino delgado y de la superficie del colon (55).

Cuadro 4. Causas de daño al borde en cepillo del enterocito.

TIPO DE DAÑO	EFECTO
Directo	Muerte celular causada por microorganismos o parásitos lumbinales o invasores.
Inmunológico	Muerte celular debido a un ataque por complemento sérico ó bien muerte mediada por linfocitos T.
Causas de daño a enterocitos	Infección Hipersensibilidad Agentes citostáticos Enfermedades idiopáticas

Cuadro 5. Diarreas asociadas con daño del enterocito.

TIPO DE INFLAMACIÓN	AGENTE
Mínima o moderada	Infecciones Agentes citostáticos Hipersensibilidad Enfermedad idiopática Enfermedad autoinmune
Moderada a grave con o sin ulceraciones.	Infecciones (destrucción de los enterocitos por migración a la mucosa). Hipersensibilidad Enfermedad idiopática Enfermedad autoinmune

INMUNIDAD ASOCIADA AL INTESTINO.

Una función importante a considerar en el neonato es la transferencia placentaria de anticuerpos IgG maternos dirigidos contra agentes infecciosos, como reflejo de la memoria inmunológica de la madre, mientras que en el adulto el estímulo constante con los agentes infecciosos inducen una respuesta inmunológica general (2, 22, 50).

MECANISMOS INTESTINALES DE PROTECCIÓN NO ESPECIFICA.

Estos son mecanismos adaptativos del organismo para impedir la instalación de cualquier agente enteropatógeno, a continuación se describen algunos de los más importantes.

Producción de mucopolisacáridos. Una gran cantidad de células distribuidas a lo largo del intestino sintetizan una glicoproteína denominada mucina. Su estructura es muy similar a los ligandos que presentan las células epiteliales para las bacterias enteropatógenas. Esta mucina tiene como función principal la de impedir la adherencia de las bacterias a las células epiteliales, mecanismo que es reforzado por los movimientos peristálticos.

Flora bacteriana. La presencia constante de bacterias (predominantemente anaeróbicas) en el colon, interfiere con los espacios disponibles para otras bacterias o parásitos. Así mismo el lipopolisacárido bacteriano estimula la proliferación y localización de células linfoides del intestino.

Factores solubles. Son moléculas liberadas a la luz intestinal como leucoferrina, lisozima y peroxidasa, las cuales tienen actividad antimicrobiana.

Reforzamiento de la protección intestinal por anticuerpos biliares. Se ha demostrado que la llegada de los alimentos al duodeno, provoca la liberación de la hormona colecistonina la cual provoca contracción y liberación de anticuerpos de la clase IgA de la vesícula.

Competencia por receptores. Los oligosacáridos presentes en la superficie de las células epiteliales favorecen la adherencia de bacterias y parásitos. Los anticuerpos IgA poseen en su estructura oligosacáridos similares a los de las células epiteliales, por lo cual pueden interferir con este mecanismo de adherencia de enteropatógenos.

Componentes celulares asociados al intestino. En el lumen intestinal encontramos macrófagos y linfocitos, además existe una gran cantidad de células cebadas distribuidas en el intestino delgado y grueso las cuales liberan mediadores como la histamina que participan en la eliminación de parásitos intestinales. Los eosinófilos son elementos celulares muy importantes que responden a factores quimiotácticos producidos por las células cebadas y de esta manera ayudan en la eliminación de parásitos (1, 22, 50).

MECANISMOS INTESTINALES DE PROTECCIÓN ESPECIFICA (INMUNIDAD INTESTINAL).

El proceso digestivo normal, da como resultado la degradación de los alimentos hasta oligopéptidos y oligosacáridos en la luz intestinal, los cuales pudieran actuar como material antigénico. La presencia constante de este material provoca la inducción de una respuesta inmunitaria local de anticuerpos IgA que retarda su entrada y permite un mayor contacto con las enzimas pancreáticas

e intestinales lográndose una digestión más completa y disminuyendo su capacidad inmunogénica. Las células epiteliales de las mucosas impiden que el material antigénico interaccione directamente con las células del tejido linfoide asociado al intestino, el cual está integrado por células denominadas M que recubren las placas de Peyer, estas células son las encargadas de transportar antígenos y completar su degradación intracelularmente. Las células M tienen en su membrana, al igual que los antígenos de histocompatibilidad clase II, macrófagos intestinales. Las células pueden participar en el transporte de inmunoglobulinas de la clase IgG de los fluidos intersticiales a la luz intestinal. Asimismo, se encuentran linfocitos presentes entre las células epiteliales que pueden responder a los antígenos en forma específica (7, 13, 29).

La respuesta inmunitaria para la síntesis y producción de anticuerpos de las clases IgG e IgA requiere de varios días, por lo que la llegada de toxinas a la luz intestinal tiene acción inmediatamente y sólo se puede impedir su actividad por medio de anticuerpos (6, 14, 32, 50)

Tejido linfoide asociado al intestino (GALT). El tejido linfoide asociado al tubo digestivo se considera como el sistema responsable de la producción y regulación de la respuesta inmunitaria local y sistémica.

El GALT está integrado en varios compartimentos:

a) Ganglios linfáticos de lámina propia que toman su nombre de acuerdo a su localización: amígdalas, placas de Peyer, ganglios linfáticos solitarios en el intestino grueso.

b) Células linfoides distribuidas en forma difusa en la lámina propia.

c) Compartimiento intraepitelial, donde los linfocitos se localizan entre las células epiteliales.

Esta compleja organización permite establecer la respuesta inmunitaria humoral o celular adecuada al tipo de antígeno que se presenta (50).

Inmunidad celular local. Los linfocitos T se encuentran distribuidos en el epitelio y lámina propia del intestino delgado y grueso, los linfocitos son sustituidos constantemente por células provenientes de las placas de Peyer y ganglios linfoides mesentéricos. Una función muy importante de los linfocitos T es la eliminación de parásitos intracelulares; sin embargo, su activación y estimulación constante por el material antigénico derivado de los alimentos o de parásitos en la luz intestinal, puede alterar el epitelio y provocar atrofia en las vellosidades intestinales (50).

Asimismo, es importante considerar que la presencia de ciertos antígenos solubles en el intestino induce tolerancia sistémica dependiente de los linfocitos T. La desnutrición también puede afectar la tolerancia sistémica y los linfocitos T supresores y contrasupresores encargados de regular la producción de anticuerpos de las clases IgG e IgM en la luz intestinal, provocan que la respuesta de los anticuerpos de clase IgA sea de corta duración, esto facilita las reinfecciones por agentes enteropatógenos (22, 24, 50).

Cuadro 6. Inmunidad específica y no específica asociada al tubo digestivo.

MECANISMOS INESPECÍFICOS	MECANISMOS ESPECÍFICOS
Flora bacteriana	Anticuerpos IgA diméricos en secreciones
Mucopolisacáridos	Anticuerpos IgA, IgG, IgE
Movimientos peristálticos	Linfocitos T
Componentes solubles: lactoferrina, lisozima, peroxidasa.	Macrófagos activados
Componentes del complemento	Células T citotóxicas
Macrófagos	Citocinas,
Células cebadas	Interleucinas: 1, 3, 7
Eosinófilos	
Células citotóxicas naturales activadas con interleucina	

FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.

Las enterobacterias constituyen uno de los grupos bacterianos más importantes, estas incluyen una gran variedad de géneros

asociados con enfermedad en el humano.

Algunos géneros forman parte de la flora normal, mientras que otros tienen un papel patógeno ampliamente reconocido como es el caso de *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella* y *Yersinia* (22, 38, 42, 52).

Los miembros de esta familia son bacilos Gram negativos de tamaño medio (0.3-1.0 x 1.0-6.0 micras), móviles con flagelos peritricos, o inmóviles, no esporulados. Todos los miembros de esta familia son facultativos y suelen ser necesarios de 18 a 24 horas de incubación para su crecimiento en diversos medios selectivos (15, 34).

Las enterobacterias tienen necesidades nutritivas simples, fermentan glucosa, reducen nitratos a nitritos y son oxidasa negativas. La ausencia de citocromo oxidasa es una característica importante, ya que permite diferenciar las enterobacterias de muchos otros Gram negativos fermentadores y no fermentadores. La capacidad de fermentar lactosa se emplea como característica para diferenciar la mayoría de las cepas de *Escherichia*, *Klebsiella* y *Enterobacter* que sí la fermentan, de otras enterobacterias que no lo hacen (34, 41, 51, 52)

FACTORES DE PATOGENICIDAD DE LAS ENTEROBACTERIAS CAUSANTES DE ENFERMEDAD.

ENDOTOXINAS. Gran parte de las manifestaciones tóxicas de las infecciones por bacilos Gram negativos son producidas por su endotoxina, éste es un lipopolisacárido asociado a la membrana externa que se libera con la lisis celular, la toxicidad principalmente se asocia con el lípido A del lipopolisacárido (22).

ANTÍGENOS O, K, y H. Algunos antígenos bacterianos se han asociado específicamente a estas bacterias causantes de meningitis e infecciones del tracto urinario. Sin embargo, el papel de estos antígenos somáticos, capsulares y flagelares en la patogenia de la infección aún no se han definido claramente. Ciertos antígenos capsulares son poco antigénicos y tienen propiedades antifagocíticas. Por otro lado, es probable que los antígenos flagelares contribuyan a la adherencia de las cepas nefrotóxicas al uroepitelio antes de que aparezca la infección.

Los miembros del grupo de las enterobacterias causan principalmente infecciones en los aparatos digestivo y urinario. El diagnóstico etiológico de estas infecciones depende de manera importante de una toma adecuada de la muestra, del manejo correcto de los productos o especímenes y selección de los medios de cultivo adecuados para el primoaislamiento (22).

CLASIFICACIÓN DE LAS ENTEROBACTERIAS

La clasificación de las enterobacterias se basó inicialmente en la determinación de la presencia o ausencia de diferentes enzimas codificadas por el material genético del cromosoma bacteriano. Estas enzimas están involucradas en el metabolismo bacteriano y pueden ser evidenciadas en medios de cultivo especiales, usando técnicas de cultivo *in vitro* en las que el sustrato se incorpora junto con el sistema indicador que pone de manifiesto su degradación en presencia de un metabolito específico (8, 22, 56).

Existen diferentes clasificaciones de la familia *Enterobacteriaceae*, todas basadas en los mismos principios básicos. La de Edwards y Ewing (15, 21, 45) consiste en un esquema de clasificación que se apoya en resultados de pruebas bioquímicas, sin embargo existen otras clasificaciones basadas en el grado de similitud del ADN bacteriano.

Se han descrito al menos 27 géneros y 7 grupos entéricos con más de 110 especies. Estos géneros se han clasificado en función de la homología del ADN, las propiedades bioquímicas, las reacciones serológicas, la susceptibilidad a los antibióticos y a bacteriófagos específicos de género y especie (13, 25, 30, 42).

Escherichia coli.

Son bacilos Gram negativos, móviles, capsulados y no capsulados, no esporulados, sin agrupación, forman parte de la flora intestinal, no son exigentes en cuanto a requerimientos nutricionales (31).

Epidemiología

El género *Escherichia* consta de al menos cinco especies, siendo *E. coli* la que se aísla con más frecuencia en muestras fecales. *E. coli* está presente en grandes cantidades en el tracto gastrointestinal y es la enterobacteria que con más frecuencia causa sepsis bacteriana, meningitis neonatal e infecciones del tracto urinario y gastroenteritis entre los viajeros que visitan países con condiciones sanitarias deficientes. La mayoría de las infecciones extraintestinales son endógenas, es decir, se producen por la flora microbiana normal del individuo en condiciones en las que las defensas del hospedero están comprometidas (31).

La composición antigénica de *E. coli* es bastante compleja, con más de 170 antígenos somáticos (O), 56 antígenos flagelares (H), y numerosos (90) antígenos capsulares (K) (22).

E. coli se puede aislar de muestras clínicas en medios selectivos e identificarse por el estudio de sus propiedades metabólicas, sin

embargo sólo algunas clonas poseen la capacidad de colonizar el epitelio intestinal del hombre y de manera accidental causar enfermedad (40, 49).

Se ha podido determinar que existen tres procesos importantes para que estas enterobacterias causen un cuadro diarreico 1) adherencia, indispensable para que la bacteria pueda acercarse, pegarse y colonizar el epitelio intestinal, 2) producción de proteínas bacterianas (toxinas), que estimulan la secreción de agua y electrolitos, 3) invasión y reproducción bacteriana dentro del citoplasma de las células epiteliales.

Escherichia coli es el microorganismo más comúnmente aislado en el laboratorio de Microbiología de muestras de heces diarreicas y es el responsable de más del 80% de las infecciones del tracto urinario. Las cepas que producen la infección severa se localizan en el tracto gastrointestinal, asociándose la enfermedad a ciertos tipos antigénicos específicos. Esta bacteria también es una de las causas más comunes de meningitis neonatal (5, 8).

Las cepas de *E. coli* que producen infección intestinal se han dividido en cinco grupos (cuadro 7): enterotoxigénicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC), enteropatógenicas (EPEC) y enterohemorrágicas (EHEC) existe la propuesta de considerar un quinto grupo, al que se le ha denominado enterohadherente (EAEC),

el cual sin embargo parece ser parte de los grupos EPEC y EHEC que incluyen cepas que se adhieren con diferentes patrones a células de cultivo en el laboratorio (11, 22, 30, 31).

La gastroenteritis producida por *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) es mediada por enterotoxinas termolábiles y termoestables. La acción de la toxina termolábil es similar a la de la toxina de *Vibrio cholerae* produciendo una hipersecreción de fluidos y electrolitos en el intestino delgado, al activarse la enzima adenilciclasa celular. La toxina termoestable activa la guanilciclasa y estimula la secreción de fluidos. La producción de ambas toxinas está determinada por la presencia de plásmidos, la virulencia máxima de las cepas de ECET se asocia a un pili adhesivo K88 en lechones, K99 en terneros y los factores de colonización CFA I, II, III Y IV en el hombre. La enfermedad causada por ETEC se produce tras un período de incubación de 1 a 2 días y persiste durante un promedio de 3 a 4 días .Los síntomas principales suelen ser náuseas y vómito. La enfermedad producida por cada una de las toxinas es indistinguible y son causa frecuente de diarrea en los lactantes de países en desarrollo y viajeros que visitan estos sitios. La producción de toxina se asocia a serotipos específicos (28, 31, 47, 53).

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

enfermedad se ha asociado a serotipos O específicos de *E. coli*, no obstante, la clasificación serológica no permite identificar con precisión las cepas invasivas. La capacidad invasiva debe confirmarse con el ensayo de Sereny, en el que ECEI se inocula en la conjuntiva del ojo del cobayo, produciéndose una queratoconjuntivitis purulenta (22).

Las cepas de *E. coli* enteropatógena (ECEP) son importantes agentes etiológicos de diarrea en los niños, sobre todo en países pobres. Aunque se han asociado serotipos específicos a brotes de diarrea en guarderías, no se recomienda la serotipificación de *E. coli* en cepas aisladas en casos de enfermedad esporádica o endémica, excepto cuando se desee realizar investigación epidemiológica. La patogenia se debe a la adherencia del microorganismo a la membrana plasmática del enterocito y a la destrucción de las microvellosidades adyacentes. La adhesividad está mediada por pilis cuyas proteínas están codificadas por plásmidos (9, 29) y por una proteína de membrana externa.

E. coli enterohemorrágica (ECEH) (22) incluye cepas de diferentes serotipos que presentan las mismas características clínicas, epidemiológicas y patogénicas del serotipo O157:H7 que es el serotipo prototipo del grupo.

El grupo EHEC está relacionado con la etiopatogenia de la colitis

hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (47). Estas cepas elaboran citotoxinas semejantes a la que produce *Shigella dysenteriae* y que por tal motivo se ha denominado toxina semejante a Shiga (SLT).

Se conocen dos variedades de la citotoxina, una de éstas cruza antigénicamente con la toxina de *S. dysenteriae* tipo 1 y se conoce como SLT1. La otra, aunque estructural y biológicamente es parecida a la SLT1, antigénicamente es diferente por lo que se le ha denominado SLTII, de ésta existe una variedad que se ha identificado en cepas aisladas de animales, conocida por lo mismo como SLT liv o VTe. Por su actividad sobre cultivo de células Vero inicialmente se nombraron como verotoxinas (VT) y algunos autores utilizan la nomenclatura de VTI(SLT I) y VT2 (SLTII) (12, 23, 36, 46).

ECEH causa típicamente colitis hemorrágica, con dolor abdominal severo, diarrea sanguinolenta y febrícula, o ausencia de fiebre. La clasificación serológica de los aislamientos es útil, ya que aproximadamente el 80% de las cepas ECEH pertenecen al serotipo O157:H7. La enfermedad es más frecuente en los meses cálidos del año, siendo mayor la incidencia en los niños menores de cinco años (12, 22).

Cuadro 7. Principales grupos patogénicos de *Escherichia coli* relacionados con la patogénesis de la diarrea.

MICROORGANISMO	ÓRGANO BLANCO	SINTOMATOLOGIA RELEVANTE	PATOGENIA
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (ECET)	Intestino delgado	Diarrea del viajero, diarrea infantil en países subdesarrollados, diarrea acuosa, cólico abdominal, náuseas, fiebre de bajo grado.	Enterotoxinas termoestables y/o termolábiles que estimulan la actividad de la adenilciclase, con pérdida de fluidos y electrolitos.
<i>E. coli</i> enteroinvasiva (ECEI)	Intestino grueso	Fiebre, cólico abdominal, diarrea acuosa, seguida de disentería con heces escasas y sanguinolentas.	Invasión mediada por plásmidos y destrucción de las células epiteliales que tapizan el colon.
<i>E. coli</i> enterohemorrágica (ECEH).	Intestino grueso	Colitis hemorrágica con cólico abdominal grave, diarrea acuosa inicial seguida de diarrea sanguinolenta, febrícula o ausencia de fiebre.	Mediada por una citotoxina. (verotoxina)
<i>E. coli</i> enteropatogénica (ECEP).	Intestino delgado.	Diarrea infantil con fiebre, náuseas, vómito y heces no sanguinolentas.	Adherencia mediada por plásmidos y destrucción de las células epiteliales.
<i>E. coli</i> enteroadherente (EAEC) DAEC EaggEC	Intestino delgado Intestino delgado	No se ha relacionado epidemiológicamente con diarrea Diarrea persistente con sangre	Adherencia Adherencia, producción de toxinas

Salmonella

Son bacilos Gram negativos, no esporulados, no capsulados, móviles y no exigentes en cuanto a requerimientos nutricionales obteniéndose colonias a las 18 a 24 horas. En 1983 se consideraban tres especies principales *S. typhi*, *S. cholerae-suis* y *S. enteritidis* que agrupaban a más de 1,500 serotipos (8,16).

En 1984, Bergey propuso designar un género mayor y 5 subgéneros adicionales distinguidos principalmente por el porcentaje de similitud en pruebas de hibridación de ADN (3). En 1985 Farmer en el CDC clasificó a *Salmonella* en un sólo género con 6 especies y seis subgrupos basados en las características fenotípicas y en estudios de hibridación de ADN (19). En 1986 Ewing (14) propuso una nueva nomenclatura con 6 grupos fenotípicos dentro de una sola tribu *Salmonelleae* apoyada en pruebas bioquímicas.

Sin embargo, se emplea la clasificación de tres especies *S. typhi*, *S. cholerae-suis* y *S. enteritidis*, las primeras dos especies constan de un solo serotipo, mientras que se han descrito 2,200 serotipos diferentes para *S. enteritidis*. El género comprende una gran variedad de serotipos patógenos para el hombre y animales y habitualmente para ambos, causando fiebre entérica, septicemia y gastroenteritis (16,19).

El tipo de patología causada depende de la especie bacteriana, de sus serotipos y de la especie infectante (16, 44) *Salmonella* se caracteriza inmunológicamente en base a tres antígenos de superficie celular, el "O" de la pared celular (somático), el antígeno "H" o flagelar y el antígeno "Vi" (capa de polisacáridos externa) este último se encuentra únicamente en las cepas de *Salmonella* que causan fiebre tifoidea.

El antígeno "O" está constituido por lipopolisacáridos y forma la endotoxina presente en los microorganismos Gram negativos.

El antígeno "H" o flagelar contiene varios constituyentes inmunogénicos; para una misma especie de *Salmonella*, los antígenos flagelares pueden presentarse en cualquiera de dos formas. El antígeno en fase uno, que es específico de especie y el de fase dos específico de grupo, compartido por muchos serotipos. Los microorganismos tienden a cambiar de una fase a otra y esto se llama variación de fase. El antígeno "Vi" de superficie está constituido por subunidades de ácido N-acetil galactosaminurónico, se denomina factor de virulencia y correspondería a la cápsula de otros microorganismos, está presente sólo en algunos de los miembros del género, al parecer puede desempeñar un papel en la prevención de la destrucción intracelular de estos microorganismos (16, 27).

Enfermedades relacionadas con la infección por *Salmonella*

El género *Salmonella* puede causar en el humano gastroenteritis principalmente por *S. enteritidis*, septicemia principalmente causada por *S. cholerae-suis*, también causa fiebres paratifoideas por *S. paratyphi* A, B, C y fiebre tifoidea producida por *S. typhi*.

Gastroenteritis: se presenta después de haber ingerido alimentos contaminados con bacterias que se multiplican y alcanzan un número muy elevado. Tiene un período de incubación de 8 a 48 horas y entre los síntomas que se presentan están: náuseas, vómito, diarrea y postración, la recuperación suele lograrse en pocos días (41).

Septicemia: la septicemia por *Salmonella* es prolongada y se caracteriza por fiebre, escalofríos, anorexia y anemia. Pueden desarrollarse lesiones focales en cualquier tejido produciendo osteomielitis, neumonía, abscesos pulmonares, meningitis o endocarditis. La gastroenteritis es leve o está ausente y muy rara vez se aísla el microorganismo de heces (25).

Fiebre tifoidea: la enfermedad usualmente comienza insidiosamente después de un período de incubación de 7 a 14 días, con malestar general, anorexia, dolor de cabeza seguido por la aparición de fiebre. Los microorganismos ingeridos se multiplican en el tracto

gastrointestinal, particularmente en las placas de Peyer, de donde pasan a la circulación diseminándose por todo el cuerpo. La bilis es un medio de cultivo excelente para *S. typhi*, la capacidad de éste para permanecer en el tracto biliar puede dar como resultado la aparición de portadores crónicos asintomáticos que continuamente excretan al microorganismo en las heces. La fiebre se acompaña generalmente de relativa bradicardia, la postración está usualmente presente así como distensión abdominal, tos, y signos de bronquitis, la esplenomegalia y leucopenia también son frecuentes. En casos de muerte las lesiones más prominentes encontradas en las autopsias son hipoplasia linfóide, ulceraciones de las placas de Peyer con hemorragias y perforaciones del intestino (50, 51).

Fiebres paratifoideas: son parecidas a la tifoidea pero siguen un curso más leve, se caracterizan por un comienzo brusco, después de un período de incubación de uno a diez días con escalofríos y la mayor parte de los síntomas que presenta la tifoidea pero en menor grado. El tiempo de duración de la enfermedad es más corto y la única forma de distinguir la tifoidea de la paratifoidea, es aislando e identificando al microorganismo causal (5).

Factores de virulencia

Al igual que en todas las bacterias Gram negativas, las endotoxinas son el lipopolisacárido (LPS) cuyas características y participación en

la patogénesis han sido muy estudiadas. El LPS está formado por un componente lipídico denominado lípido (A), moléculas de polisacáridos compuestos de una región central y cadenas laterales polisacáridicas denominadas Ag. "O". El LPS participa de manera importante en la activación del complemento así como de las interleucinas (16, 32).

Un factor de virulencia no muy estudiado en el género es la producción de exotoxinas por las enterobacterias. *Salmonella* produce una enterotoxina termolábil similar a la toxina de *Vibrio cholerae* (20).

Los flagelos (antígeno H) se han involucrado como otro factor de virulencia, ya que no sólo le confiere movilidad a la bacteria sino que también participan en la adhesión a la célula del hospedero. Numerosas investigaciones realizadas *in vitro* han demostrado que los flagelos proporcionan ventaja a la bacteria principalmente en los fenómenos de adherencia e invasión (7, 48).

Shigella.

El género *Shigella* está constituido por bacilos Gram negativos, aerobios, no esporulados, no móviles, la clasificación taxonómica es bastante sencilla, ya que se han descrito sólo cuatro especies y aproximadamente 40 serotipos que se diferencian serológicamente

de acuerdo a su composición antigénica: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei* (13, 42).

Shigella sonnei es la causa más frecuente de shigelosis en el mundo desarrollado en tanto que *S. flexneri* lo es en los países subdesarrollados continuando con *S. boydii*, *S. sonnei* y *S. dysenteriae* (8). La shigelosis es una enfermedad pediátrica que suele afectar a niños de 1 a 4 años; los brotes epidémicos de la enfermedad se producen habitualmente en guarderías. La enfermedad se transmite por la ruta oral-fecal, fundamentalmente a través de las manos contaminadas y con menos frecuencia por agua o alimentos contaminados. La enfermedad puede establecerse con un inóculo muy bajo (200 bacilos) y períodos de incubación de 2 a 4 días, de manera que la shigelosis se disemina rápidamente en comunidades en las que las condiciones sanitarias y los niveles de higiene personal son deficientes. *Shigella* se encuentra entre los agentes más comunes causantes de diarrea, su patogenicidad está dada por la invasión de la mucosa intestinal, una vez que se ingiere el microorganismo, éste debe fijarse en el intestino delgado (íleon y yeyuno) y multiplicarse. Posteriormente la bacteria se traslada a través del epitelio, se multiplica formando cúmulos bacilares en el interior de la pared, donde hay inflamación y la lesión progresa y desciende al colon dando lugar a fenómenos hemorrágicos, necrosis y la formación de úlceras (8, 22).

La shigelosis se caracteriza por pujo, tenesmo, cólico abdominal, diarrea, fiebre y heces sanguinolentas. Los signos y síntomas clínicos de la enfermedad aparecen entre el primer y tercer día después de la ingestión de los bacilos, mismos que colonizan el intestino grueso y comienzan a multiplicarse durante las primeras 12 horas. El signo inicial de la infección es la diarrea acuosa profusa sin evidencia histológica de invasión de la mucosa. Se presenta además cólico abdominal y posteriormente evacuaciones escasas con pus y sangre. Los espasmos son el resultado de la invasión de la mucosa del colon por los bacilos, la destrucción de la capa mucosa superficial y la aparición de ulceraciones.

La infección suele autolimitarse, pero se recomienda el tratamiento con antibióticos para impedir la diseminación secundaria a otros miembros de la comunidad. Algunos pacientes desarrollan el estado de portador asintomático y pueden convertirse en reservorio persistente de infecciones en la comunidad (7, 38).

PARASITOS INTESTINALES

Entamoeba histolytica

De las seis especies de amibas que habitan en el intestino del hombre, *E. histolytica* es la única de importancia médica por ser un parásito patógeno, se encuentra en fase comensal

aproximadamente en la décima parte de la población mundial, produce alteraciones intestinales, generalmente disentería amibiana a consecuencia de la invasión a la mucosa del intestino grueso. En el 10 % de los casos la invasión amibiana progresa al hígado para producir absceso hepático amibiano progresivo y mortal (1, 26, 37).

E. histolytica presenta cuatro estadios consecutivos en su ciclo de vida: trofozoito, prequiste, quiste y formas metaquísticas. Los trofozoitos presentan pleomorfismo, un diámetro mayor de 12 micras, la morfología del núcleo de los trofozoitos y de los quistes de *E. histolytica* es similar, el cariosoma tiende a ser pequeño, redondo, localizado en el centro del núcleo, la cromatina tiene una distribución periférica uniforme (1, 22).

Los quistes de esta amiba tienen de uno a cuatro núcleos lo que permite diferenciarla de los quistes de *Entamoeba coli* que tienen de uno a ocho núcleos.

Los trofozoitos proliferan en el colon donde originan la forma de resistencia o quiste. los quistes son redondos, hialinos de 8-20 micras de diámetro, con una pared rígida. Estos quistes contaminan los alimentos y el agua al llegar de nuevo al hospedero su pared se disuelve por acción de los jugos gástricos e intestinales donde después de varias divisiones celulares de cada quiste se originan

ocho trofozoitos en la luz del intestino grueso (22).

Existen estudios que demostraron diferencias biológicas entre las cepas aisladas de pacientes con amibiasis invasora y las provenientes de portadores asintomáticos. Mediante aglutinación en presencia de concentraciones bajas de la lectina concavalina A, se descubrieron diferencias entre una y otra. Las cepas patógenas aglutinan intensamente a diferencia de las cepas no patógenas que son poco susceptibles de aglutinar (22).

A principios de 1980, Sargeaunt (43) inició en Londres una larga serie de estudios en los que aplicó la técnica de electroforesis de isoenzimas, después de estudiar varios cultivos de amibas obtenidos de pacientes sintomáticos y asintomáticos, pudo definir dos grandes grupos de acuerdo a la movilidad electroforética de dos enzimas: la hexocinasa y la fosfoglucomutasa. Los cultivos de *E. histolytica* provenientes de casos de amibiasis invasora presentaron invariablemente zimodemos (patrones de isoenzimas) característicos entre las amibas patógenas, mientras que la mayoría de los parásitos aislados de portadores asintomáticos muestran zimodemos diferentes propios de las amibas no patógenas (39, 43).

Los procedimientos más importantes en el diagnóstico de amibiasis invasora del colon son la rectosigmoidoscopia y la detección microscópica de trofozoitos hematófagos en el contenido rectal. Sin

embargo, para la identificación microscópica de los quistes y de los trofozoitos de *E. histolytica* en las heces, se necesitan analizar varias muestras.

El diagnóstico de infección intestinal por *E. histolytica* requiere del análisis de al menos 3 muestras consecutivas de materia fecal. Con la tinción con iodo, sólo se detectan trofozoitos en menos del 20 % de las infecciones. Si se emplea el método de concentración y frotis teñidos para obtener quistes en frotis directo, la cifra para un solo examen aumenta al 50 % (22, 26).

Con el examen de tres muestras consecutivas se detecta aproximadamente el 80 % de las infecciones y se requieren más de 6 muestras para tener un porcentaje superior al 90 % (22,39).

En los casos en los que sólo haya evidencia sugestiva de *E. histolytica* se puede recurrir al cultivo de materia fecal en medio de huevo sangre o en el medio de Robinson para su lectura a las 48 horas (39).

3.0 PARTE EXPERIMENTAL

MATERIAL

Cajas Petri de plástico, estériles.

Dispensador Quick Spense Controller mod No. QS1le.

Gradillas metálicas para 96 tubos.

Matraz de 500 mL.

Pipeta volumétrica de 5 mL.

Pipeta volumétrica de 10 mL.

Pipeta volumétrica de 20 mL.

Tubos de Creig

Tubos de vidrio de 13 X 100 mm con tapón de rosca.

Tubos de vidrio de 13 X 100 mm sin tapón de rosca.

Tubos de vidrio de 13 X 75 mm sin tapón de rosca.

Tubos de 17 X 150 mm con tapón de rosca.

Tubos de 17 X 150 mm sin tapón de rosca.

MEDIOS DE CULTIVO

Agar Bacteriológico (Bioxón).

Agar Citrato de Simmons (Bioxón)

Agar de Soya Trypticaseina (Bioxón).

Agar Gelosa especial

Agar Kligler (Bioxón).

Agar Mac-Conkey (Bioxón).
Agar Salmonella Shigella (Bioxón).
Agar SIM (Bioxón).
Agar Tergitol 7 (Bioxón).
Agar Verde Brillante (Bioxón).
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (Bioxón).
Base de Gelosa Sangre (Bioxón).
Base de Urea (Bioxón).
Caldo Biotriptasa
Caldo Gluconato
Caldo Infusión Cerebro Corazón (Bioxon).
Caldo Malonato Fenil Alanina (Bioxón).
Caldo RMVP (Bioxon).
Caldo Selenito (Bioxón).
Caldo Tetrionato (Bioxon).
Extracto de carne (Bioxón).
Extracto de Levadura (Bioxon).
Medio de Dorset
Medio de Robinson
Peptona de Caseina (Bioxon).

REACTIVOS

1) MATERIAL BIOLÓGICO

Sueros de conejo (SERUNAM)

178 para antígenos somáticos (O).

56 para antígenos flagelares (H).

2) REACTIVOS QUÍMICOS

Ácido glucónico

Alcohol etílico

Alcohol isoamílico

Alfa naftol

Carbonato de sodio anhidro.

Citrato de sodio.

Cloruro de sodio

Cloruro férrico.

Fosfato dipotásico

HCl

Hidróxido de sodio.

Iodo (Bio-Rad)

P-dimetil amino benzaldehido

Sulfato de cobre.

Tetra metil p-fenilén diamina dicloro aminobenzaldehido al 5%.

Urea (Gibco Lab)

Yoduro de potasio (Bio-RAd)

METODOLOGÍA

Se estudiaron 26 pacientes adultos de ambos sexos con edades entre 18 y 64 años, quienes acudieron al servicio de urgencias del Hospital 1º de Octubre del ISSSTE. En el lapso comprendido del 15 de Agosto de 1993 al 3 de Mayo de 1994. Todos los pacientes presentaron cuadro clínico de diarrea aguda, a cada uno se le realizó historia clínica completa enfatizando en datos relacionados con su problema de diarrea.

A cada paciente se le proporcionó un recipiente esteril así como las indicaciones necesarias para la recolección de las muestras para la realización del examen coproparasitoscópico en serie de tres y del coprocultivo.

Los pacientes se distribuyeron en 3 grupos de acuerdo a la edad incluyéndose en cada uno pacientes de ambos sexos.

Grupo 1. Incluyó 6 pacientes con edades entre 18 y 24 años, cuatro del sexo femenino y dos del sexo masculino.

Grupo 2. Se constituyó con 10 pacientes con edades de 34 a 46 años, 8 del sexo femenino y 2 del sexo masculino.

Grupo 3. En éste se incluyeron 10 pacientes con edades de 47 a 64 años, 8 de los pacientes del sexo femenino y 2 del sexo masculino.

A todos los pacientes se les realizó historia clínica completa, exámenes de rutina (glucosa, urea, ácido úrico y biometría hemática) además, se les tomó muestra de materia fecal por duplicado para realizar los siguientes estudios

A) Coproparasitoscópico en serie de tres. (Se realizó en el Hospital 1º de Octubre del ISSSTE usando las técnicas de amiba en fresco y técnica de Ferreira).

B) Coprocultivo. Cada una de las muestras se sembraron en los siguientes medios de cultivo: Agar Mac-Conkey, Agar Salmonella Shigella, Agar Verde Brillante, Agar tergitol 7 y Agar Xilosa Lisina Desoxicolato. Se realizó en el laboratorio de Medicina Experimental de la facultad de Medicina U.N.A.M.

C) Identificación bioquímica y tipificación serológica.

Se realizó en el laboratorio de Salud Pública Unidad de Posgrado de la Facultad de Medicina U.N.A.M.

EXAMEN COPROPARASITOSCÓPICO

Los exámenes coproparasitoscópicos incluyeron examen directo y ameba en fresco durante la primera entrevista, en las 2 muestras subsecuentes se realizó método de concentración de acuerdo a la técnica de Ferreira (22, 25).

EXAMEN COPROPARASITOSCÓPICO DIRECTO

En un portaobjetos se colocó por separado una gota de solución salina isotónica y una gota de lugol, con un aplicador de madera se tomó una muestra de 1 a 4 gr. de heces y se mezcló con la solución salina homogeneizando perfectamente, se retiraron los fragmentos gruesos y fibras presentes, el mismo procedimiento se realizó utilizando lugol. A continuación se colocó un cubreobjetos sobre cada una de las muestras y se observó al microscopio para determinar la presencia de trofozoitos en la preparación directa y quistes, huevos y larvas en la preparación con lugol.

MÉTODO CUANTITATIVO DE FERREIRA.

Se pesó un frasco de boca ancha junto con un abatelenguas, posteriormente se agregó materia fecal hasta tener 4 gr. Se adicionaron 36 mL de una solución de formaldehído con la cual se homogeneizó la muestra perfectamente, a continuación se filtró la

suspensión a través de una gasa recolectando el filtrado en un tubo que se centrifugó durante 1 minuto a 2,000 rpm. Se decantó el sobrenadante y se resuspendió en agua, se homogeneizó y se centrifugó nuevamente en las mismas condiciones, se decantó el sobrenadante nuevamente, se agregaron 3 mL de solución de sulfato de zinc y se mezcló hasta tener una suspensión homogénea. A continuación se introdujo la campana de Ferreira dándole un pequeño giro, se agregó más solución de sulfato de zinc procurando que tanto el menisco interno como el externo de la campana subieran en forma paralela. Se centrifugó a 2,000 rpm durante 1 minuto más para posteriormente retirar el tubo de la centrífuga y sacar la campana del tubo. El contenido de esta se vertió sobre un portaobjetos y se adicionaron 3 gotas de lugol, se homogeneizó la suspensión con un cubreobjetos el cual se colocó finalmente sobre el portaobjetos.

Una vez lista, la preparación se observó al microscopio con los objetivos de 10X y 40X analizando todos los campos para determinar la presencia de quistes, larvas o huevecillos.

De cada una de las muestras se hicieron cultivos en medios de Robinson (43) con el propósito de aislar *Entamoeba histolytica* y caracterizar su zimodemo según la técnica descrita por Sargeant (42, 43).

Para evidenciar la presencia de trofozoitos de *E. histolytica* en las muestras de heces se hizo un frotis de éstas y se procedió a tratarla con alcohol polivinílico.

COPROCULTIVO.

Para el cultivo de heces las muestras se recolectaron en recipientes estériles y se almacenaron en refrigeración hasta su procesamiento. Para ello se prepararon placas y tubos con los siguientes medios de cultivo:

Placa con agar Mac-Conkey.

Placa con agar Salmonella Shigella (SS).

Placa con agar Tergitol 7 (Ter).

Placa con agar Verde Brillante (VB).

Placa con agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD).

Tubo con Caldo Gluconato

Tubo con caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI).

Tubo con caldo Selenito.

Tubo con caldo Tetracionato.

Se impregnaron hisópos estériles con cada una de las muestras y se depositó el inóculo en cada una de las siguientes placas de Agar: Mac-Conkey, Xilosa Lisina Desoxicolato y Tergitol 7. las cuales se estriaron para realizar el aislamiento. Con otro hisopo estéril se

impregno de muestra y se depositó en un tubo que contenía caldo BHI, la muestra se homogeneizó y la mitad del volumen se paso a cada uno de los siguientes tubos que contenían, medio de selenito y medio de tetrionato, a este último se le agregaron 3 gotas de solución de yodo.

Las placas y tubos se incubaron 24 horas a 37°C, primeramente se realizó el análisis macroscópico de las colonias desarrolladas en las cajas de Petri. Con las muestras de los medios de selenito y tetrionato se inocularon otras placas de agar de: Mc-Conkey, SS, XLD, VB, colocando dos gotas de cada cultivo en las diferentes placas, posteriormente se estrió y realizó el aislamiento. Las placas se incubaron 24 horas a 37°C, después del tiempo de incubación se procedió al análisis macroscópico de las colonias desarrolladas. De cada medio se seleccionaron 5 colonias diferentes las cuales se pasaron cada una a tubos de 13 X 100 que contenían medio de agua peptonada a un pH de 7.4 los cuales se incubaron a 37°C durante 24 horas para posteriormente realizar la siembra en las pruebas bioquímicas.

IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA

El grupo de bioquímicas empleado para la caracterización de los microorganismos aislados fue el siguiente:

Agar Citrato de Simmons.

Agar Kligler

Agar SIM

Agar Urea

Caldo Gluconato.

Caldo Malonato Fenil Alalnina.

Caldo RMVP.

Para cada una de las cepas aisladas se empleó un juego completo de pruebas bioquímicas, las cuales se inocularon de la siguiente manera:

1) El Agar Kligler se inoculó por picadura hasta un centímetro antes del fondo y con estría en la superficie.

2) El Agar SIM se inoculó por picadura hasta 1 cm antes del fondo.

3) El Agar Citrato de Simmons se inoculó por estría en la superficie.

4) El Agar Urea se inoculó por estría en la superficie.

5) El caldo malonato, el caldo gluconato y el caldo RMVP se inocularon adicionando 3 gotas del cultivo al medio contenido en el tubo.

Todos los tubos inoculados se incubaron a 37°C durante el tiempo adecuado para cada uno (anexo 1).

Después de incubar las pruebas bioquímicas se realizó la lectura y posteriormente la interpretación e identificación de cada una de las cepas aisladas (4, 33).

Para conservar las cepas de *E coli* identificadas se inocularon en medio de gelosa especial y medio de Dorset, se incubaron a 37°C por 24 horas y se almacenaron a temperatura ambiente para posteriormente realizar la tipificación serológica.

TIPIFICACIÓN SEROLÓGICA DE CEPAS DE *E. coli*.

Cada una de las cepas de *E. coli* identificadas y conservadas en los medios de Gelosa especial se resembraron en placas de agar sangre y agar Mac-Conkey para verificar su viabilidad y pureza. Las cajas de cultivo se incubaron a 37°C durante 24 horas. Con las colonias aisladas se estudió la morfología macroscópica para seleccionar sólo colonias lisas que se resembraron en tubos que contenían agar de soya tripticaseína.

Las colonias crecidas en dicho medio se usaron para la tipificación serológica de las bacterias siguiendo el procedimiento empleado en la División de Patógenos Entéricos del Laboratorio Central de Salud

Pública de Londres, Inglaterra, utilizando sueros específicos contra los 175 antígenos somáticos (O) y 56 flagelares (H) (SERUNAM).

PREPARACIÓN DE LOS ANTÍGENOS

ANTÍGENOS SOMÁTICOS (O)

Cada una de las cepas seleccionadas se sembró en tubos de 16 X 150 que contenían agar de soya tripticaseína se incubaron a 37 °C durante 24 horas, al finalizar el tiempo de incubación se agregaron 10 mL de solución salina isotónica a cada uno de los tubos, se homogeneizaron para obtener suspendido todo el desarrollo bacteriano de la superficie del agar. La suspensión obtenida se transfirió a otro tubo de 16 X 150 y se calentó en una olla de presión por 1 hora, posteriormente se les agregó formalina al 0.6%. Todos los tubos se conservaron a temperatura ambiente para su posterior utilización.

ANTÍGENOS FLAGELARES (H).

Cada una de las cepas se sembró en tubos de 16 X 150 que contenían agar semisólido de peptona de caseína y un tubo de Creig en el interior. Los cultivos bacterianos se inocularon en el interior del tubo Creig y se incubaron a 37°C durante 15 días. Los tubos se revisaron todos los días para observar el crecimiento

bacteriano y la evidencia de movilidad. manteniéndose en incubación hasta observar el desarrollo de microorganismos en la superficie del medio de cultivo. Las cepas que presentaron movilidad se resembraron en caldo Biotriptasa al 2 % contenido en tubos de 16 X 150. Los tubos se incubaron durante 24 horas a 30°C, después de este tiempo se adicionaron 10 mL de formalina al 0.6 %. Los tubos se conservaron a temperatura ambiente hasta su utilización.

Los sueros de conejo empleados para la tipificación serológica de las bacterias aisladas, fueron proporcionados por el Laboratorio de Salud Pública de la Facultad de Medicina UNAM. Se trabajó con 174 sueros monovalentes contra el antígeno somático (O) y 56 sueros específicos para el caso de los antígenos flagelares (H), los sueros se utilizaron diluidos 1:100.

Tipificación serológica del antígeno somático (O). Se emplearon 3 microplacas de 90 pozos en los cuales se colocaron 100 µL de suero contra el antígeno "O" específico, las microplacas se llenaron con un dispensador automático (Quick Spense Controller Mod no. QSII y Reservoir Model 96-200 DYNATECH LABORATORIES). Posteriormente se adicionaron 50 µL del antígeno bacteriano concentrado y las placas se incubaron durante 24 horas a 50°C. Después de este tiempo se realizó la lectura en cada uno de los pozos para verificar la presencia de aglutinación. Con este

procedimiento se identificaron los sueros que reconocían el antígeno bacteriano, posteriormente se realizaron diluciones de los sueros desde 1:100 hasta 1:12,800 para determinar el título y establecer el serogrupo.

Tipificación serológica de antígeno flagelar (H). En este caso también se empleó 1 placa de 96 pozos que se llenó de la manera previamente descrita. Se colocaron 50 μ L de suero contra cada uno de los antígenos flagelares; posteriormente, se adicionaron 50 μ L de antígeno flagelar en cada pozo y se procedió a incubar a 50°C durante 3 horas. Después de este tiempo se realizó la lectura de las placas para verificar la presencia de aglutinación.

En base al registro obtenido se realizó la titulación de los antígenos. Para ello, se colocaron 80 μ L de solución salina isotónica en los primeros 12 pozos de cada una de las placas y 50 μ L en los demás pozos; posteriormente, se adicionaron 20 μ L de cada uno de los sueros en el primero de los pozos, subsecuentemente se homogeneizó y se transfirieron 50 μ L a los pozos de cada línea, del último pozo se desecharon 50 μ L con el fin de mantener el volumen uniforme en todos los pozos. A los pozos con las diluciones del suero se les adicionaron 50 μ L de los respectivos antígenos, las placas se incubaron durante 24 horas en el caso de los antígenos somáticos y 3 horas en el caso de los antígenos flagelares. Ambos se incubaron a 50°C.

Después del tiempo de incubación se realizó la lectura de cada una de las placas determinando el título de aglutinación, el cual corresponde a la inversa de la última dilución en que hubo aglutinación bacteriana. Los resultados se registraron en hojas de títulos de aglutinación.

Finalmente, con la formula antigénica O-H se determinó el serogupo y/o serotipo de cada una de las bacterias identificadas.

4.0 RESULTADOS

DETECCIÓN DE PARÁSITOS INTESTINALES

De los 26 pacientes estudiados, en 7 de ellos (27%) se determinó la presencia de trofozoitos y/o quistes de *E. histolytica*, los pacientes correspondieron a cada uno de los tres grupos constituidos (cuadro 8). Las muestras positivas para *E. histolytica* se resembraron en medio de Robinson, sin embargo, en ninguno de los casos fue posible realizar el aislamiento de las amibas.

Cuadro 8. Frecuencia de identificación de *E. histolytica* en muestras de heces de pacientes con cuadros de diarrea aguda.

GRUPO (años)	PRESENCIA DE:	No. DE PACIENTES
16-24	Amiba en fresco	3
34-46	Quistes y trofozoitos	2
47-64	Quistes y trofozoitos	2

IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS

El cultivo de las muestras de heces que se realizó en los diferentes medios de cultivo permitió el aislamiento de 910 colonias (35 de cada paciente). Al realizar la caracterización bioquímica de éstas, se identificaron cepas de *Enterobacter sp*, *Klebsiella sp*, *Citrobacte spr* y *Escherichia coli*; no se logró, sin embargo, obtener cepas de *Salmonella* y *Shigella*. Las cepas de *Escherichia coli* fueron los microorganismos predominantes en los cultivos realizados, la

tipificación serológica de éstas permitió la caracterización de serotipos pertenecientes a los diferentes grupos patógenos *de E. coli* (cuadro 9). En general, en los pacientes se observó predominio de algún serotipo; sin embargo, en algunos se encontró mezcla de serotipos de la bacteria.

VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.

En el cuadro 10 se anotaron cinco variables sociodemográficas que son importantes indicadores de riesgo para la infección por patógenos intestinales (las variables estudiadas fueron: (promedio de habitaciones por casa, número de habitaciones, material del piso, agua intravivienda, y forma de eliminación de excretas); sin embargo, como puede observarse en dicho cuadro, no existen grandes diferencias entre los pacientes pertenecientes a los tres diferentes grupos de edades. Sólo dos pacientes del grupo 2 y en dos casos del grupo 3 la habitación tenía piso de tierra, uno del grupo 2 no posee un lugar adecuado para eliminación de excretas y un paciente del grupo 3 no posee agua potable.

Hábitos de higiene

Como se observa en el cuadro 11, se presentan los datos referentes a los hábitos de higiene personales, todos los pacientes

refirieron asearse las manos antes de comer y preparar alimentos, así como después de ir al baño. Como se puede observar, todos ellos aseguran efectuar adecuados hábitos de higiene, aunque el 60% de ellos ingieren alimentos fuera de su domicilio. Con respecto, a la ingesta de agua hervida sólo un paciente manifestó tomar agua sin hervir.

Antecedentes patológicos de los pacientes.

Con el objeto de ver si existía algún antecedente patológico que condicionara la presencia de diarrea en los pacientes estudiados se realizó una encuesta (cuadro 12), sin embargo, estos datos indican que en los pacientes que presentan alguna patología, ésta no tiene relación con el padecimiento de diarrea.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El 60% de los pacientes presentaron síntomas definidos de enteritis (pujo, tenesmo, dolor abdominal y diarrea). El número de evacuaciones por 24 horas fue variable, observándose entre 7 y 36 evacuaciones, 30% mostró moco en las heces y ninguno de los pacientes presentó sangre en sus evacuaciones (cuadros 13 y 14), sólo el 20% manifestó un cuadro febril. En relación a padecimientos asociados, ninguno de ellos se relacionaba con el cuadro diarreico; la mayoría de los pacientes no recibió previamente tratamiento médico con antibióticos.

Cuadro 9. Serotipo de *Escherichia coli* y padecimientos asociados en pacientes con diarrea aguda.

PACIENTE	SEROTIPO MÁS FRECUENTE	No. DE CEPAS	PORCENTAJE (%)	PADECIMIENTO ASOCIADO
Grupo 1				
1	O:73 H:18	8	22.4	no
2	O:73 H:34	5	14.0	no
	O:13 H:34	3	8.4	
	O:18 H:34	2	5.6	
	O:02 H:34	2	5.6	
	O:169 N/M	1	2.8	
3	No <i>E. coli</i>		0.0	no
4	No <i>E. coli</i>		0.0	no
5	O:2 H:7	3	8.4	no
	O:3 H:7	16	44.8	
	O:34 H:7	1	2.8	
	O:73 H:7	1	2.8	
	O:96 H:7	1	2.8	
6	O:20 H:1	8	22.4	no
Grupo 2				
1	No <i>E. coli</i>		0.0	no
2	No <i>E. coli</i>		0.0	si
3	O:13 H:10	2	5.6	no
	O:34 H:10	9	25.2	
	O:34 H:25	1	2.8	
	OR	1	2.8	
4	O:7 H:04	1	2.8	si
	O:32 H:23	2	5.6	
	OR	1	2.8	
5	No <i>E. coli</i>		0.0	no
6	O:155 H:47	21	58.8	no
	O:37 H:14	1	2.8	
	OR	2	5.6	
7	No <i>E. coli</i>		0.0	si
8	O:13 H:10	1	2.8	si
9	O:17 H:18	4	11.2	no
	O:34 H:10	1	2.8	
	O:17 N/M	2	5.6	
	O:51 H:18	1	2.8	
	O:42 N/M	1	2.8	
	O:37 H:14	1	2.8	
	O:13 H:10	2	5.6	
10	O:37 H:14	1	2.8	no

N/M no movil

No *E. coli* no se aisló *E. coli*.

Cuadro 9. Continuación.

PACIENTE	SEROTIPO MÁS ASOCIADO	NO. DE CEPAS	PORCENTAJE (%)	PADECIMIENTO ASOCIADO
Grupo 3				
1	O:12 N/M O:15 H:1 O:15 H:5 O:7 H:1	5 2 1 1	14.0 5.6 2.8 2.8	no
2	No <i>E. coli</i>		0.0	no
3	O:132 N/M	2	5.6	no
4	O:132 N/M O:132 H:7 O:99 H:7 O:6 H:10 OR	10 2 2 2 2	28.0 5.6 5.6 5.6 5.6	no
5	No <i>E. coli</i>	0	0.0	si
6	No <i>E. coli</i>	0	0.0	si
7	No <i>E. coli</i>	0	0.0	si
8	No <i>E. coli</i>	0	0.0	no
9	No <i>E. coli</i>	0	0.0	si
10	No <i>E. coli</i>	0	0.0	si

N/M no movil

No *E. coli* no se aisló *E. coli*.

Cuadro 10. Características de la habitación de pacientes con diarrea aguda en los diferentes grupos estudiados.

GRUPO	PROMEDIO DE HABITANTES POR CASA	NÚMERO DE HABITACIONES	MATERIAL DEL PISO		AGUA INTRAVIVIENDA		ELIMINACION DE EXCRETAS	
			CEMENTO	TIERRA	SI	NO	DRENAJE	AIRE LIBRE
Años								
1 16-24	4	6	6	0	6	0	6	0
2 34-47	4	6	8	2	10	0	9	1
3 46-64	7	7	8	2	9	1	10	0

Cuadro 11. Hábitos higiénicos de pacientes con diarrea aguda de los diferentes grupos estudiados

GRUPO	ASEO DE MANOS ANTES DE COMER		ASEO DE MANOS PARA PREPARAR ALIMENTOS		ASEO DE MANOS DESPUÉS DE IR AL BAÑO		PREPARA ALIMENTOS PARA CONSUMO FAMILIAR		CONSUME ALIMENTOS EN LA VÍA PÚBLICA		TOMA AGUA HERVIDA	
	si	no	si	no	si	no	si	no	si	no	si	no
años												
16-24	6	0	6	0	6	0	1	5	4	2	5	1
34-47	10	0	10	0	10	0	6	4	6	4	10	0
46-64	10	0	10	0	10	0	5	5	6	4	10	0

Cuadro 12. Antecedentes patológicos de los pacientes.

NÚMERO DE PACIENTE	ENFERMEDAD CRÓNICA DEGENERATIVA	ENFERMEDAD DIARREICA ANTERIOR	PADECIMIENTO ASOCIADO	PROCEDENCIA
Grupo 1				
1	no	si	no	Edo. México
2	no	no	no	Oaxaca
3	no	si	no	D.F.
4	no	si	no	D.F.
5	no	no	no	D.F.
6	no	no	no	D.F.
Grupo 2				
1	no	no	no	Nvo. León
2	si	no	Mastopatía fibroquística	D.F.
3	no	no	no	D.F.
4	si	si	Hipotensión	D.F.
5	no	no	no	Morelos
6	no	no	no	D.F.
7	si	no	D.M*	Veracruz
8	si	no	Osteoporosis Histerectomía	Edo. México
9	no	no	no	D.F.
10	no	si	no	D.F.
Grupo 3				
1	no	si	no	D.F.
2	no	no	no	D.F.
3	no	no	no	D.F.
4	no	no	no	Puebla
5	si	no	Hta sistémica**	S.J.RIO
6	si	no	Histerectomía cancer Ovárico	Querétaro
7	si	no	Hta sistémica**	D.F.
8	no	no	no	Hidalgo
9	si	no	D.M*	Tlaxcala
10	si	No	IVU crónica***	D.F.

D.M* Diabetes Mellitus

Hta. sistémica** Hipertension arterial sistémica.

IVU*** Infección de Vías Urinarias.

Cuadro 13. Características de la diarrea aguda en los grupos de pacientes estudiados.

PACIENTE	EDAD	SEXO	No. EVACUACIONES EN 24 HORAS	COLOR	MOCO	SANGRE
Grupo 1						
1	24	F	3	amarillo	si	no
2	21	F	2	amarillo	no	no
3	19	M	4	amarillo	no	no
4	19	F	7	café	no	no
5	24	M	20	amarillo	si	no
6	18	F	3	amarillo	no	no
Grupo 2						
1	38	M	15	amarillo	si	no
2	36	F	20	amarillo	si	no
3	38	F	7	café	no	no
4	38	F	5	amarillo	si	no
5	37	F	13	amarillo	no	no
6	34	F	6	café	no	no
7	47	M	20	amarillo	si	no
8	34	F	10	café	si	no
9	42	F	4	amarillo	no	no
10	35	F	7	amarillo	si	no
Grupo 3.						
1	50	F	3	café	no	no
2	53	M	dato no proporcionado	café	no	no
3	47	F	8	amarillo	no	no
4	46	F	5	café	no	no
5	64	F	4	café	no	no
6	46	F	7	café	no	no
7	61	F	7	amarillo	no	no
8	46	M	5	amarillo	no	no
9	57	F	5	café	no	no
10	51	F	15	café	No	no

Cuadro 14. Manifestaciones clínicas observadas en pacientes con diarrea aguda.

PACIENTE	PUJO	TENESMO	NAÚSEAS	VÓMITO	DOLOR ABDOMINAL	CEFALEA	CÓLICO	FIEBRE
Grupo 1								
1	si	si	no	no	si	si	si	no
2	no	si	no	si	si	si	si	si(39°C)
3	si	no	no	no	si	si	si	no
4	si	si	no	no	no	no	no	no
5	si	si	no	si	no	no	no	no
6	no	no	si	si	no	no	no	no
Grupo 2								
1	si		no	no	no	no	no	no
2	si	si	si	no	si	si	si	no
3	no	si	si	si	si	si	si	no
4	si	si	no	no	no	no	no	no
5	no	no	no	no	si	no	si	no
6	si	si	si	si	no	no	no	no
7	no	si	no	no	si	si	si	no
8	si	si	si	no	no	no	no	no
9	no	no	no	no	si	no	si	no
10	si	si	si	no	si	si	si	si*
Grupo 3								
1	si	si	no	no	no	si	no	si*
2	no	no	no	no	no	no	no	no
3	no	no	no	no	no	no	no	no
4	no	no	si	no	si	no	si	no
5	no	no	no	no	si	no	si	no
6	no	no	si	si	si	no	si	no
7	si	si	si	si	no	no	no	no
8	no	si	no	no	si	si	si	no
9	no	no	no	no	si	no	si	no
10	si	si	no	no	si	si	si	si(38°C)

* no proporcióna el dato

5 0.DISCUSIÓN

Las enfermedades infecciosas del tracto gastrointestinal continúan siendo la mayor causa de muerte a nivel mundial, afectando principalmente a niños menores de 5 años y ancianos (22). En los niños, la patología de las diarreas está relacionada con infecciones por virus y/o bacterias. Sin embargo, en el caso del adulto no existe mucha información al respecto que nos indique cuáles son las causas de la diarrea.

Se estudiaron 26 pacientes adultos con edades entre 18 y 64 años, que acudieron por proceso diarreico agudo al servicio de urgencias del Hospital 1o de Octubre del ISSSTE en el lapso comprendido del 15 de Agosto de 1993 al 3 de Mayo de 1994.

El estudio de las condiciones sociodemográficas de los pacientes (cuadro 10, anexo 2) indica que todos ellos poseen viviendas adecuadas ya que únicamente la casa de un paciente no cuenta con agua potable y la de otro no tiene servicio de drenaje.

Estos datos son de gran importancia ya que son factores que predisponen a incrementar el riesgo de adquirir procesos infecciosos causantes de diarrea.

Aunque como muestra el cuadro 11 (anexo 3) la mayoría de los pacientes refiere tener hábitos higiénicos (lavarse las manos antes de comer, después de ir al baño y antes de preparar alimentos) satisfactorios, no podemos asegurar por simple interrogatorio la confiabilidad de lo referido ya que se requeriría convivir durante un corto tiempo con los pacientes para confirmarlo o descartarlo.

Un aspecto que resulta interesante con relación a los hábitos de los pacientes es la alta incidencia de consumo de alimentos en la vía pública los cuales pueden ser de dudosa calidad higiénica. Este hecho pudiera sugerir una posible fuente de transmisión de agentes causales del cuadro diarreico entre los cuales se pueden identificar microorganismos o alimentos grasos de los cuales se ha referido que constituyen una causa asociada a diarrea. Por otro lado, se sabe que un número importante de intoxicaciones alimentarias son causa de diarrea aguda principalmente por la presencia de enterotoxina estafilocócica en alimentos lácteos. La diarrea en las personas adultas también se puede relacionar con la incapacidad para asimilar algunos nutrientes originándose trastornos osmóticos (6).

Los cuadros de diarrea observados en los pacientes en quienes no se aislaron microorganismos pueden estar relacionados con cualquiera de los factores desencadenantes antes referidos.

Algunos de los pacientes refirieron que en el transcurso del año habían presentado 1 ó 2 procesos diarreicos, en su mayoría lo relacionan a la ingesta de algún alimento tanto en la vía pública como en su domicilio. Los casos referidos no acudieron a ningún servicio médico debido a que el cuadro fue autolimitado con o sin tratamiento medicamentoso. Este último hecho es importante ya que la incidencia de la diarrea aguda en adultos no es bien conocida en virtud de que los pacientes generalmente no acuden al médico y mucho menos a una institución de asistencia médica, o bien, se automedican.

También es importante referir que por las características del hospital en el que se realizó el estudio, en éste se atienden pacientes de diferentes entidades lo cual sugiere que el problema de la diarrea en adultos pudiera tener un comportamiento uniforme en distintas regiones del país.

Aunque la sintomatología no fue común en todos los pacientes, la diarrea fue el síntoma constante, motivo principal por el cual, acudieron al médico. Al respecto, es importante señalar que el número de evacuaciones en la mayoría de los pacientes fue mayor de 4 en 24 horas, el hecho de que los pacientes fuesen adultos jóvenes dió lugar a que no presentaran un grado severo de deshidratación, sin embargo, es importante considerar el hecho ya que, en ancianos, el trastorno daría lugar a severas consecuencias

incluida la muerte del paciente. En muchos casos, a la diarrea aguda del adulto no se le da la importancia que tiene y además de los trastornos propios del padecimiento estos individuos se convierten en fuente importante de transmisión de patógenos que pueden afectar a otros núcleos de la población.

En nuestro medio se ha insistido en que la etiología de la diarrea en el adulto se debe, en la mayor parte de los casos a la infección por parásitos intestinales; de hecho, es una conducta generalizada el administrar antibióticos o antiparasitarios ante cualquier cuadro diarreico agudo, independientemente de la edad del individuo, las características del cuadro clínico y de antecedentes no patológicos del paciente, lo cual ha llevado al aumento importante en la selección de cepas bacterianas multirresistentes a antibióticos.

Este concepto de la etiología de la diarrea del adulto favorece de manera importante el uso de la automedicación, lo cual cierra el círculo en relación al incremento aparente de cepas bacterianas altamente resistentes.

Con respecto a la etiología de la diarrea relacionada con parásitos, el hecho de haber identificado trofozoitos y quistes de amiba en algunos pacientes sugiere, por tratarse de cuadros agudos, que la amibiasis esté asociada con un proceso infeccioso bacteriano, principalmente por que las manifestaciones son de un cuadro con

diarrea acuosa y con un número alto de evacuaciones.

Aunque no se logró realizar el aislamiento *in vitro* de las amibas, el estudio rectosigmoidoscópico mostró lesiones características de una colitis amibiana producida por *E. histolytica*. Sin embargo, el no haber podido aislar en cultivo el protozooario impidió establecer si de manera definitiva *E. histolytica* era el responsable del cuadro clínico.

El estudio bacteriológico para determinar la presencia de alguna bacteria patógena se realizó aislando 35 colonias de cada uno de los pacientes (un total de 910 colonias). No obstante haber utilizado medios de enriquecimiento en ningún caso se aislaron cepas de *Salmonella* o *Shigella*. Esto probablemente se deba a que se incubaron los medios durante 24 horas permitiendo el desarrollo de bacterias de la flora habitual, sin embargo, consideramos que de haber existido alguno de estos microorganismos su número no era suficiente para causar un cuadro clínico, lo cual se pudo observar al analizar los datos del cuadro clínico de los pacientes que en ningún caso sugiere que sea causado por *Shigella*. Sin embargo, descartar la participación de *Salmonella* resulta más difícil ya que como se sabe las infecciones por *S. enteritidis* o *S. cholerae-suis* pueden dar cuadros agudos como los que presentan los pacientes. Resulta por lo tanto, importante, el que se hayan analizado tal número de colonias ya que la posibilidad de no haber seleccionado una cepa

del microorganismo por azar resulta poco factible.

El presente es uno de los pocos estudios en los que se realiza la caracterización de cepas de *E. coli*, aislada de pacientes con diarrea aguda.

El aislamiento de cepas de *E. coli* (pertenecientes a los grupos patógenos reportados en niños) en la mayoría de los pacientes sugiere la participación del microorganismo en la patogenia de su padecimiento. El haber realizado la tipificación serológica del microorganismo, permitió conocer la frecuencia en la que serotipos incluidos dentro de los grupos patógenos (22) se encuentran colonizando a los pacientes estudiados.

Dentro de los grupos patógenos identificados se aislaron principalmente cepas de los grupos enteropatógeno y enterotoxigénico.

Esta observación nuevamente apoya la posible participación de *E. coli* en la etiología de la diarrea del adulto. En general la etiología bacteriana de la diarrea en el adulto ha sido poco estudiada debido, entre otros casos, a que no representa un riesgo para la vida del paciente. El contar con sistemas para realizar la tipificación completa de *E. coli*, permitió observar que, aunque los pacientes presentaban en las heces más de un serotipo de la bacteria, en

general existía prevalencia de un serotipo (cuadro 9). Dicha observación nos permite proponer que al observarse un mayor número de bacterias de un serotipo, éste se encuentra colonizando al paciente y si el mismo pertenece a un grupo patógeno que presenta mecanismos de patogenicidad como EPEC y ETEC pudiera ser el responsable del cuadro clínico observado.

Sin embargo, para confirmar lo anterior sería conveniente realizar un estudio en el que se incluya un mayor número de pacientes y controles sin cuadro clínico de diarrea, ya que no sabemos si como ocurre en el caso de los niños, un porcentaje importante de la población sin diarrea está colonizado por estos grupos de bacterias (21). En el 42% de los pacientes estudiados no se identificó ningún protozooario o bacteria que pudiera relacionarse con el cuadro clínico, en alguno de estos pacientes se identificaron cepas de *Enterobacter* y *Klebsiella* principalmente. En estos microorganismos se han identificado algunos mecanismos de virulencia como son la producción de enterotoxinas y citotoxinas (28), en nuestro país no existen reportes al respecto, resulta importante estudiar más profundamente las propiedades de estas bacterias para conocer su participación en la patogénesis de la diarrea. Tampoco se puede descartar la participación de algunos virus que, como en el caso de niños, pueden ser los principales agentes responsables del padecimiento.

Este es un primer intento por conocer la etiología de la diarrea en adultos, se obtuvieron resultados preliminares que apoyan la participación de bacterias y/o protozoarios.

6.0 CONCLUSIONES

El presente fue un estudio en el que no se incluyeron controles por el hecho de que se trabajó con pacientes del servicio de urgencias del Hospital 1 de Octubre del ISSSTE.

Se considera que la diarrea aguda en los pacientes adultos estudiados es multifactorial estando implicados procesos de origen infeccioso y no infeccioso. En cuanto a los de tipo probablemente infeccioso, se observaron en algunos pacientes cepas de *E. coli* pertenecientes a grupos patógenos principalmente enterotoxigénicas y enteropatógenas.

El haber incubado los medios de enriquecimiento por 24 horas probablemente influyó en el no aislamiento de cepas de *Salmonella* y *Shigella*, esto aún cuando se realizó el estudio en 35 colonias por paciente.

Sólo en el 27% de los pacientes se lograron identificar quistes y/o trofozoitos de amibas. Aunque morfológicamente se caracterizaron como *E. histolytica* no se pudo establecer su identidad en cultivo.

En el 42% de los pacientes no se logró aislar alguna bacteria considerada como patógena causante de diarrea o protozooario que pudiera relacionarse con el cuadro clínico, es probable que se

asocie su padecimiento a intoxicaciones alimentarias.

Por el tipo de institución donde se recolectaron las muestras se podría asumir que el síndrome diarreico presenta un comportamiento uniforme en diferentes regiones del país. Sin embargo el tamaño de la muestra no permite llegar a esta conclusión.

De los datos proporcionados por los pacientes en relación a padecimientos asociados, ninguno de los mencionados se relaciona directamente con la etiología de diarrea.

En nuestro país existe un alto índice de automedicación cuando se presentan cuadros de diarrea, lo que ha impedido en gran medida conocer adecuadamente la etiología de estos procesos.

Sería de gran importancia realizar un estudio más profundo y con un mayor número de pacientes con cuadros diarreicos, así como, de personas sanas.

ANEXO 1

Anexo 1 Pruebas bioquímicas seleccionadas para la caracterización de bacterias de la familia *enterobacteriaceae*

MEDIO DE CULTIVO	TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUNDAMENTO
Agar Kligler	24 horas	producción de ácidos a partir de la fermentación de glucosa y/o lactosa, acidificando el medio con lo que ocurre cambio de color debido al indicador de pH.
Agar SIM	24 horas.	Movilidad: turbidez en el medio. H ₂ S: precipitado negro debido a la liberación de azufre de aminoácidos y otros compuestos que lo contienen. Indol uno de los productos del metabolismo del a.a triptofano en presencia de una enzima, la triptofanasa para formar indol, ácido. pirúvico y amoníaco. Se observa un color rojo al añadir un reactivo que contiene p-dimetilaminobenzaldehído.
Agar Citrato de Simmons	Hasta 7 días	La utilización de citrato como única fuente de carbono se detecta por la formación de subproductos alcalinos (NH ₃ +) mediante la utilización de nitrógeno de la sal de amonio ocasionando que el color verde del indicador se tornara azul.
Agar Urea	Hasta 7 días	La determinación de la enzima ureasa presente en especies de microorganismos que hidrolizan la urea produciendo carbonato de amonio, alcalinizando el medio, originando un cambio de color debido al indicador de pH.
Caldo Malonato Fenil alanina	48 horas	La fenilalanina es un a.a que por desaminación forma un cetoácido, el ácido fenilpirúvico, que se pone de manifiesto al adicionar cloruro férrico al 10%, dando una coloración verde.
Caldo Gluconato	48 horas	Utilización de gluconato con reactivo de Benedict, da un color ladrillo.
Caldo RMVP	48 horas	Rojo de Metilo indicador que se detecta mediante la producción de grandes cantidades de ácido a partir del sustrato empleado (glucosa). Se considera positivo para aquellos microorganismos que pueden mantener el pH bajo durante largo tiempo (24 a 72 horas). V.P El ácido pirúvico formado por la degradación de la glucosa es metabolizado hasta acetofina (acetilmetilcarbinol), un subproducto de reacción neutra. En presencia de oxígeno atmosférico y de hidróxido de potasio al 40 %, la acetofina se convierte en diacetil y el alfa-naftol actúa como catalizador para revelar un complejo de color rojo.

7.0 BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Acosta G., Campos R., Barranco C., Isibasi A., Kumate J. Secretory IgA antibodies from bile of immunized rats reactive with trophozoites of *E. histolytica*. Ann NY Acad Sci 109: 760, 1983.
- 2.- Acosta G., Rocha L.M., Ortiz, Nateras E. Inmunología del calostro y leche humana. Enf. Inf. Micr. México.12:293-302, 1992.
- 3.- Baumann P. Shubert RHW. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol 1. Baltimore: Williams and Wilkins, p.p:35-60, 1989.
4. Brenner D.J. Facultative anaerobic Gram negative rods. Family 1: *Enterobacteriaceae* (Rahn, 1973). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, vol. 1, Nr Krieg, JG Holt (ed). Baltimore:The Williams & Wilkins Co, p.p: 408-516, 1984.
- 5.- Brock D.T., Madigan T. M. Microbiología 6 ed. Prentice-Hall. México. p.p: 508-517, 1993.
- 6.- Camiller M. D., Phillips S. F. Disorders of small intestinal motility. Gastro Clin N. Amers. 18:405-424, 1989.

- 7.- Carsiotis M., Winstein D., Karch H., Holder L. A., O'Brien A. D. Flagella of *Salmonella typhimurium* are virulence factor in infected CS7BL/6J Mice. *Infect Immun* 46:814-818, 1984.
- 8.- Castro E. G., Familia *Enterobacteriaceae*, diferenciación de tribus. *Bacteriología Médica Diagnóstica*, México, p.p: 22-26, 1993.
- 9.- Cravioto A., Gross R.J., Scotland S.M., Rowe B. An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional enteropathogenic serotypes. *Curr Microbiol* 3: 95-99, 1989.
- 10.- Cravioto A., Reyes R.E., Ortega R. Prospective study of diarrhoeal disease in a cohort of rural Mexican children: incidence and isolated pathogens during the first two years of life. *Epidemiol Infec.* 101:123-134, 1988.
- 11.- Cravioto A., Tello A., Navarro J. . Association of *Escherichia coli* HEp-2 adherence patterns with type and duration of diarrhoea. *Lancet* 337:262-264, 1991.

- 12.- Cravioto A., Vázquez V. S. Producción de citotoxina tipo Shiga (SLT) 1 en cepas de *Escherichia coli*, aisladas de niños con diarrea en una comunidad rural. Bol Med Hosp. Infant Mex. 45: 206-210, 1988.
- 13.- Davis D. B., Dulbecco R., Eisen N. H., Ginsberg S. H. Tratado de Microbiología 3 ra ed. Salvat Editore S. A. Barcelona España. p.p: 455-469, 472-480, 1994.
- 14.- Dehesa M., Llamas E. G. Diagnóstico y Terapéutica en Medicina Interna. Méndez Cervantes. México. p.p: 574-579, 1991.
- 15.- Edwards P.R., Ewing W.H. Identification of *Enterobacteriaceae*, 4th. Ed. Burgess Pulishing Co; Inc; New York p.p:180-192, 1986.
- 16.- Einstein T, Sultzer B M. Immunity to *Salmonella typhimurium*. Adv. Exp. Biol. Med. 162:261-296, 1983.
- 17.- Encuesta de morbilidad, mortalidad y tratamiento de diarreas en 1985. (EMMMTD) SSA, México, 1988.
- 18.- Encuesta Nacional de Salud, SSA, México 1989.

- 19.- Farmer III J. J., Miller J. M. What's new in the *Enterobacteriaceae*: nomenclature and identification. CDC. 21: 1-20, 1985.
- 20.- Finkelstein R. A., Marchlewies R. J., McDonald R. J. Isolation and characterization of cholera-related enterotoxin from *S. typhimurium*. FEMS. Microbiol. Lett. 17:239-241, 1983.
- 21.- Freeman A. B. Microbiología 22ª ed. McGraw-Hill. México. p.p: 57-110, 355-410, 1989.
- 22.- Giono C. S., Escobar G. A., Valdespino J. L.. Diagnóstico de laboratorio de infecciones gastrointestinales, SS/INDRE, México. p.p: 3-11, 51-72, 1994.
- 23.- Giono S., Rodríguez M.J., Valdespino J.L. *Escherichia coli* O157:H7, antecedentes y recomendaciones generales para los laboratorios estatales de salud pública. Bol Cólera Diarreas infecciosas. INDRE. 3:263-265, 1993.
- 24.- Hentges D. The protective function of the indigenous intestinal flora. Pediatr Infect Dis. 5 (supl):17, 1986.

- 25.- Hinojosa M, Bessudo D. Manual de técnicas y procedimientos para el estudio de microorganismos enteropatógenos. México: INDRE, SSA, 1989.
- 26.- Jassurum J. Patología da la amibiasis intestinal. Simposio sobre patología de la amibiasis. Resúmenes del III Congreso Latinoamericano de Medicina Tropical. 1, 1990.
- 27.- Jawetz E., Melnick J. L., Adelberg E. A. Manual de Microbiología Médica. 19^a ed. El Manual Moderno. México. p.p: 225-236, 1992.
- 28.- Knutto N. S., Ma-Connell M:M, Rowe B., Mcneish A. Adhesion and ultraestructural properties of human enterotoxigenic *Escherichia coli* producing CFA/III, CFA/IV. Infect Immun. 7:3364-3371, 1989.
- 29.- Knutto S., Lloyd D.R., McNeish A.S. Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to human intestinal enterocytes and cultured human intestinal mucosa. Infect Immun. 55:69-77, 1987.
- 30.- Koneman E.W., Allen S.D., Dowell JR V.R., Sommers H.M. Color Atlas and Texbook of Diagnostic Microbiology. 4th. Ed. J. B. Lippincott. Co, p.p: 111-114, 1991.

- 31.- Levinne M.M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. J Infect Dis. 155(3): 377-389, 1987.
- 32.- Liang-Takasaki C. J., Grossman N., Leive L. Phagocytosis of bacterial by macrophages changing the carbohydrate of macrophages. J. Immunol. 128:1229-1235, 1982.
- 33.- Liot H. Classification of *Escherichia coli* in Domestic. Animals and Human. Ed. Gibs C.L. CABI Oxford University. p.p: 46, 1994.
- 34.- Mac Faddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. I reimpresión. México D. F. Ed Medica Panamericana p.p: 90-200, 1990.
- 35.- Marin E. Diarrea aguda. Diagnóstico y Terapéutica en Medicina Interna. México. Ed. Méndez Cervantes. p.p: 574-579, 1991.
- 36.- Marquez I.L. R. M., Peiris J. S. M., Cryz S. J., O'Brien A. D. *Escherichia coli* strains isolated from pigs with edema disease produce variant of Shiga-like toxin II. FEMS Microbiol Lett. 44:33-38, 1987.

- 37.- Martinez Palomo A., Ruiz Palacios G. Amebiasis. In: Tropical and Geographical Medicine, KS Warren, AAF Mahmoud (ed). New York: MacGrawHill, p.p: 327-344, 1990.
- 38.- Mims A. C., Playtair HL. J., Roitt M. I., Wakelin D., Anderson M. M. Microbiología Médica. 1ª ed. Libros Mosby/ Duyma. Gran Bretaña. p.p:4.2-4.5, 18.1-18.12, 1995.
- 39.- Mirelman D. Effect of culture conditions and bacterial associates on the zymodemes of *Entamoeba histolytica*. Parasitol today. 3:37-40, 1987.
- 40.- OPS. Manual de tratamientos de diarrea, serie PALTEX No 13, E.U.A., OPS. p.p: 3-8, 508-517, 1982.
- 41.- Pelzcar M. J. Chan E: C: S:, Krieg N. N. Elements of Microbiology 5th Ed. Mc Graw-Hill U.S.A. p.p.15-33, 1986.
- 42.- Pumarola A., Torres R. A., Garcia R.JA., Angulo P. G. Microbiología y parasitología Médica. 2ª ed. Ediciones Cientificos y Tecnicas S.A. MASSON Salvat. p.p: 69-76, 422-.427, 431-436, 808-814, 1987.

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

- 43.- Sargeaunt P.G., Jackson TFHG, Simjee A. Biochemical homogenetic of *Entamoeba histolytica* isolated, especially those from liver abscess. Lancet. p.p: 1836-1838, 1983.
- 44.- Schaechter M., Medoff G. Eisenstein B. Y. Mechanisms of Microbial Disease 2nd. Ed. Williams and Wilkins, Baltimore U.S.A. p.p: 264-286, 1993.
- 45.- Scherris C.J. Microbiología Médica Ed. Doyma. p.p: 407-428, 267-280, 1993.
- 46.- Scotland S. M. Smith H. R., Rowwe B. Two distinct toxin active on Vero cells from *Escherichia coli* O157. Lancet ii. 885-888, 1985.
- 47.- Sprangler B. d. Structure and function of cholera toxin and the related *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. Microbiol. 56:622-647, 1992.
- 48.- Tomita T., Kanegasaki S. Enhanced phagocytic response of macrophage to bacterial by physical impact caused by bacterial motility or centrifugation. Infect Immun. 38:865-870, 1982.

- 49.- Tzipori S., Robins-Brown R. M., Ganis G. Enteropathogenic *Escherichia coli*, enteritis: evaluation of the gnotobiotic piglet as a model of human infection. Gut. 26:570-578, 1985.
- 50.- Ventura J.J., Rodríguez C.R. Estudio morfológico del tejido linfoide asociado al intestino. Inmunología de las mucosas. Demsa. México, p.p: 91-98, 1992.
- 51.- Volk W. A., Wheeler M. F. Microbiología Básica 7 ed. HARLA S.A. de C.V. México D.F. p.p: 101-118, 433-444, 533,619, 1996.
- 52.- WHO SCIENTIFIC WORKING GROUP. Enteric infections due to *Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella* and *Shigella*. Bull WHO 58:519-537, 1989.
- 53.- Wiyttam T. S., Wachsmuth Y. K., Wilson R. A. Genetic evidence of clonal descent of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. J. Infect Dis 157:1124-1133, 1988.
- 54.- XI Censo General de Población y Vivienda 1990, Estados Unidos Mexicanos. INEGI, 1990.

- 55.- Yamada T., Alpers D. H., Owyang C. h., Powell D. W., Silverstein F. E. Textbook of Gastroenterology. 1st. Ed. Philadelphia. JB Lippincott Co. p.p: 732-778, 1991.
- 56.- Zinsser H., Joklik W. K., Willett H. P., Amos D. B. Wilfert C.M Microbiología. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 22 ed. 1 reimpression. p.p: 736-770, 1994.