



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

.. CUAUTITLAN ..

**IMPORTANCIA DE Campylobacter fetus subespecie jejuni
y Yersinia enterocolitica COMO AGENTES CAUSANTES DE
DIARREA AGUDA EN NIÑOS EN LA CIUDAD DE MEXICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A**

JOSE LUIS PEDROZA BRISEÑO

**DIRECTOR DE LA TESIS
DR. ONOFRE MUÑOZ HERNANDEZ**

CUAUTITLAN, IZCALLI

1981



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

INDICE

	Pág.
I.- Introducción	1
II.- Objetivos	2
III.- Generalidades	2
IV.- Material y Método	13
V.- Resultados	21
VI.- Discusión	30
VII.- Conclusiones	33
VIII.- Resumen	34
IX.- Bibliografía	35

I. INTRODUCCION

La enfermedad diarreica es una de las principales causas de muerte en los niños menores de cinco años, y tiene una morbilidad elevada entre la población adulta de los países en vías de desarrollo²⁰. En Inglaterra y Gales en 1961, la diarrea aguda ocasionó el 64 de las muertes en niños menores de un año³⁵. En América Latina las tasas de mortalidad por enteritis y otras enfermedades diarreicas oscilan entre 10 y 280 por cien mil habitantes²⁰.

En México, la gastroenteritis es uno de los principales motivos de consulta y de hospitalización, ocupando en la actualidad el segundo lugar entre las causas de muerte; en 1974 se registraron 50 842 defunciones por dicha causa²⁰. Son más frecuentes en los medios mal saneados y en poblaciones con desnutrición prevalante; predominan en los lactantes, sobre todo en los primeros meses de la vida y su frecuencia disminuye en forma paulatina, hasta la etapa final de la edad preescolar, a partir de la cual, su incidencia es semejante en el resto de la vida. Son endémicas con elevaciones epidémicas²⁰.

Las manifestaciones más claras de una gastroenteritis son la diarrea, el vómito, fiebre, dolor abdominal y las manifestaciones consecutivas a la deshidratación. Las evacuaciones pueden ser líquidas, sucesas o con sangre.

Conforme han mejorado las técnicas de laboratorio para el aislamiento e identificación de un microorganismo; esto es, por la introducción de medios mejorados y especializados y además de nuevas técnicas, sencillas, económicas, de una sensibilidad muy elevada, que han sido diseñadas para la detección de mecanismos de patogenicidad aplicables en estudios de carácter epidemiológico, se ha visto aumentado el porcentaje de identificación de la etiología de la gastroenteritis infecciosa, hasta en un 60 a 70%¹¹.

A reserva de los cambios en los conceptos, para la clasificación de un microorganismo como patógeno o no patógeno y con ello el reconocimiento de otros microorganismos como patógenos, tradicionalmente no considerados, se están haciendo esfuerzos por establecer la causa de la diarrea cuya etiología se desconoce.

Campylobacter fetus ss jejuni y Yersinia enterocolitica son el ejemplo más claro; puesto que ha sido hasta muy recientemente que se les ha considerado como una causa importante de gastroenteritis en humanos y especialmente en niños^{2,5,8,19,23,32,38}.

Motivados por la falta de información en México, en donde se evidencia el papel de dichas bacterias en la gastroenteritis infecciosa, iniciamos el presente trabajo.

II. OBJETIVOS

- 1.- Determinar la frecuencia de Campylobacter fetus ss jejuni y de Yersinia enterocolitica en niños con diarrea aguda en la Ciudad de México.
- 2.- Determinar la frecuencia relativa de Campylobacter fetus ss jejuni y de Yersinia enterocolitica con los agentes tradicionales causales de diarrea (Salmonella, E.coli, Shigella y rotavirus) en niños de la Ciudad de México.

III. GENERALIDADES

Descripción del género Campylobacter:

Microorganismos delgados, espirilos curvos, no forman esporas, Gram negativos, miden 0.2 a 0.8 micras de ancho y 0.5 a 5 micras de largo⁷. Su movimiento es característico de sacacorebo. Tiene un flagelo polar en uno o en ambos lados. Los carbohidratos no son fermentados ni oxidados. No requieren suero para su crecimiento. La prueba de rojo de metilo y la de Voges Proskauer son negativas. No tienen actividad de lipasa. Oxidasa positiva. No producen pigmentos. Algunas especies son microaerófilas requiriendo una concentración de oxígeno de entre un tres y un quince por ciento. Otras especies son anaeróbicas⁷.

La especie tipo es: Campylobacter fetus (Smith y Taylor) — Sebald y Veron. Campylobacter fetus ss jejuni. Su pared celular contiene solo galactosa, galactosa y glucosa, o galactosa, glucosa y manosa⁷.

Se encuentran dos tipos de colonias en el aislamiento primario.

Una en heja, plana, gris, finamente granulosa y translúcida con bordes irregulares, extendida a lo largo de la asada. La otra es redonda, 1-2 mm. de diámetro, levantada, convexa, lisa tersa y brillante, tiene un borde irregular y un centro opaco. Las colonias en agar — sangre no son hemolíticas⁷.

El 60% de las cepas hidrolizan la caseína, 67% tienen actividad de fosfatasas alcalinas y 6% son positivas a la aryl sulfatasa. — El ácido sulfhídrico se produce en un medio que contiene cisteína — con papel impregnado de acetato de plomo como técnica de detección. Crece en la superficie del agar con 0.1% de selenito de sodio; reduce el selenito. Crece en agar MacConkey. Crece en un medio con 1% de glicina. Crece a 42°C y ocasionalmente a 45°C⁷.

Taxonomía de *Campylobacter*.

La descripción de este microorganismo como una especie vibriofu hecha en base a su similitud a *Vibrio cholerae*³⁵. Ambos organismos son delgados, móviles, curvos, bastones gram negativos. Sin embargo hay diferencias bioquímicas y de crecimiento y en su contenido de las bases nucleotídicas de su DNA entre los vibriones verdaderos y los organismos clasificados como *Campylobacter*. Como ya vimos *Campylobacter* no fermenta ni oxida los azúcares, son microaerofílicos o anaerobios estrictos, y tienen un contenido de gusina más citosina entre 30 y 36 por ciento. Los vibriones fermentan ciertos azúcares con producción de ácido, crecen en un tres por ciento de NaCl, son anaerobios facultativos y tienen un contenido de C-C de 60 a — 50 por ciento. En base a estas diferencias Veron y Chastaldin sugirieron que aquellos microorganismos conocidos como especies de *Vibrios fetus* y otros vibrios similares se clasificaran en un nuevo género *Campylobacter*³⁶.

Aunque la designación de este género *Campylobacter* es ahora ampliamente aceptada para este grupo de bacterias, hay aún confusión y controversia acerca de la nomenclatura y clasificación de cepas — dentro de este género. En el esquema se muestra la clasificación — aceptada por el manual de Bergey y los sinónimos usados en el pasado³⁶.

ESQUEMA I.

Clasificación de acuerdo a:

<u>Manual de</u> <u>Bergey</u>	<u>Veron y</u> <u>Chatelain</u>	<u>King</u>	<u>Florent o</u> <u>Jones</u>
I. <u>Campylobacter</u> <u>fetus ss fetus</u>	<u>C. fetus ss</u> <u>veneralis</u> <u>C.fetus ss</u> <u>veneralis</u> <u>biotype in-</u> <u>termedius</u>	<u>Vibrio</u> <u>fetus</u>	<u>V.fetus ss</u> <u>veneralis (Florent)</u>
<u>Campylobacter</u> <u>fetus ss integ-</u> <u>tinalis</u>	<u>C.fetus ss</u> <u>fetus</u>	<u>Vibrio</u> <u>fetus</u>	<u>V.fetus ss</u> <u>intestinalis (Florent)</u>
<u>Campylobacter</u> <u>fetus ss jeju-</u> <u>ni</u>	<u>C.jejuni, C.</u> <u>coli (?)</u>	<u>"Related</u> <u>vibrios"</u>	<u>Vibrio jejuni</u> <u>(Jones)</u>
II. <u>Campylobacter</u> <u>sputorum ss</u> <u>sputorum</u>	<u>C.sputorum</u>	<u>Vibrio</u> <u>sputorum</u>	-
<u>Campylobacter</u> <u>sputorum ss</u> <u>bubulus</u>	<u>C.bubulus</u>	<u>Vibrio</u> <u>bubulus</u>	-
III. <u>Campylobacter</u> <u>fecalis.</u>	-	-	-

La asignación de la especie y las subespecies depende de las características bioquímicas y de crecimiento como fue delineado por Shibert³³.

Patología.

Manifestaciones patológicas de la infección por Campylobacter-fetus ss jejuni en humanos sugieren que esta enfermedad debe ser referida como una enterocolitis. Se han notado lesiones hemorrágicas en el yeyuno y el ileon por medio de autopsias¹⁸, e inflamación en el ileon se han observado por laparotomía. La afección en el intestino delgado se refleja por la presencia de edema central o dolor abdominal en el epigastrio^{17,32}. Se ha aislado Campylobacter del yeyuno y del ileon por aspirado. También se le ha asociado con lin-

fadenitis mesentérica y apendicitis aguda. La presencia de sangre, pus y moco en las heces, sugiere que el intestino grueso también es afectado, lo cual se ha comprobado por sigmoidoscopia y colonoscopia. Investigaciones sigmoidoscópicas y radiológicas del intestino grueso en adultos con enteritis por Campylobacter han revelado cambios inflamatorios en la mucosa del colon que no son distinguibles de cambios debidos a otras causas inflamatorias.²¹

Patogenicidad.

Según Karnali y Fleming, las evidencias de la patogenicidad de Campylobacter fetus ss jejuni se pueden resumir como sigue.¹⁶

1.- Estudios en pacientes sintomáticos y asintomáticos han mostrado que la presencia de Campylobacter fetus ss jejuni, en las heces, está muy asociada con la diarrea.

2.- Los organismos desaparecen en la convalecencia.

3.- C. fetus ss jejuni ha sido aislada de la sangre de pacientes con diarrea.

4.- Títulos significativos de anticuerpos se han desarrollado en pacientes con enteritis por Campylobacter

5.- En un voluntario que ingirió un cultivo puro de Campylobacter fetus ss jejuni apareció diarrea y dolor abdominal, igual que en un laboratorista que accidentalmente ingirió el organismo.

6.- El tratamiento con un antibiótico al cual es sensible in vitro C. fetus ss jejuni (eritromicina, clindamicina, minociclina, cloranfenicol y furazolidona) permitió que desapareciera rápidamente de las heces y el alivio clínico de los síntomas.

7.- Hay evidencias de que en perros infectados con C. fetus ss jejuni la diarrea es semejante al mal en el hombre.

8.- En las heces de pacientes de enteritis por C. fetus ss jejuni se ha buscado otro patógeno bacteriano, virus y parásitos. No se sabe de otro patógeno que haya sido detectado en muchos pacientes con enteritis por Campylobacter.

Mecanismos de Patogenia.¹⁴

Experimentos realizados en Bélgica, según reporte de la CNS¹⁴, indican que C. fetus ss jejuni produce una infección predominantemente invasiva¹⁴. Observaciones patológicas y microbiológicas de niños, incluidas las de especímenes obtenidos en autopsias, sugieren que C.

fetus as jejuni invade la mucosa del intestino delgado (particularmente ileon) y el ciego. Las pruebas preliminares indican que algunas cepas pueden producir una enterotoxina termoestable¹⁴.

Epidemiología.

La epidemiología de la enteritis por Campylobacter es compleja y todavía no bien conocida. Hay paralelismo con la salmonelosis en que la enfermedad es una zoonosis, los organismos se encuentran en una gran variedad de huéspedes animales, y la infección se puede — transmitir de persona a persona¹⁶. Pero antes de describir los mecanismos conocidos de transmisión será útil ver la distribución de la infección en la población humana.

Distribución de la infección en el hombre.

Edad y sexo.— La enteritis por Campylobacter afecta a todos — los grupos de edad^{5,32}. Aunque es difícil de estimar la verdadera edad de incidencia, se ha sugerido que es más alta en los niños pequeños^{5,32}. Se ha visto que la proporción masculino:femenino es 3:2

Variación estacional.— Estudios hechos en Bruselas e Inglaterra muestran que la mayor incidencia de enteritis por Campylobacter es durante los meses más calientes del año¹⁴.

Fuente de infección.— C. fetus as jejuni ha sido aislada de mamíferos y de especies aviarias³³. Primero se sospechó de los pollos de enteritis por Campylobacter en humanos por King quien encontró — que los vibriones microaerofílicos aislados de casos de hepatitis — en aves, eran indistinguibles de las cepas humanas de Campylobacter fetus as jejuni^{18,36}. Ella también reportó un caso de muerte por enteritis de una persona de campo y sugirió que se debía a una exposición ocupacional al microorganismo¹⁸.

Más recientemente Bruce, Zochowki y Ferguson aislaron Campylobacter fetus as jejuni en un 63% de 63 casos de pollos de una fuente común. Ellos encontraron un 60% de cercas en 167 muestras de aves aparentemente sanas³.

Smith y Vuldon aislaron estos organismos de pollos procesados comercialmente³⁴. Severin aisló Campylobacter de heces de pollos de las jaulas usadas para transportar pollos al rastro³¹. Butler y — asociados demostraron infección experimental de la pared intestinal en pollos alimentados con Campylobacter aislado de huma—

nos. Havak y Cruickshank describieron un ataque de enteritis por Campylobacter posiblemente relacionado a la ingestión de pollos con taminados¹³. Campylobacter fetus ss jejuni ha sido aislada de aves tales como pichones, mirlo y gorriones. En un caso de enteritis, el paciente tuvo una historia de contacto con canarios, y subsiguientemente C. fetus ss jejuni se aisló del canario, el cual no padecía la enfermedad²⁷.

El primer caso de enteritis en humanos por Campylobacter asociada con contacto con un perro enfermo fue descrito por Wheeler y — Borches en 1961³⁷. Ellos reportaron una diarrea sanguinolenta en un niño de nueve semanas quien tuvo un cultivo positivo de Campylobacter de la sangre. El niño tuvo contacto con cachorros que también presentaron diarrea sanguinolenta. La asociación de enfermedad en humanos con contacto con perros también fue reportada por Skirrow y Lindquist, Kjellander y Fosmen, quienes aislaron Campylobacter de perros domésticos de pacientes con enteritis por Campylobacter. — Peel y McIntosh describieron una enteritis por Campylobacter en una enfermera y su perro, después de que los dos comieron de la misma carne²⁸. Campylobacter puede aislarse de las heces de las vacas. — Primero se culpó a la leche no pasteurizada como fuente de infección en humanos en 1946. Recientemente se consideró a la leche cruda el vehículo de infección en un ataque de diarrea en Colorado⁶.

Campylobacter fetus ss jejuni está como comensal en el intestino de ovejas, el cual ocasionalmente puede causar abortos en ovejas preñadas. Hay evidencias de un contagio de un pastor de una oveja preñada y reportado por Duffell y Skirrow. También se ha reportado el aislamiento de Campylobacter de monjes, puercos y gatos. Pearson y Knill aislaron Campylobacter de agua de mar y de agua potable²⁷.

No será posible entender completamente los aspectos epidemiológicos de la infección por Campylobacter hasta que haya métodos apropiados para la diferenciación de las cepas. Las campylobacterias — son un poco inertes bioquímicamente. La presencia de heterogeneidad serológica entre Campylobacter sugiere que el sistema más práctico resultará del desarrollo de métodos efectivos de serotificación. — Bryner y colegas han aislado bacteriófagos de Campylobacter y sugieren que la fagotipificación de Campylobacter puede ser útil asociada

to a la serotipificación¹⁴.

A pesar de la falta de un sistema tipificador, las evidencias circunstanciales con un concepto fuerte de que las cepas causantes de infección en humanos pueden ser las mismas que las encontradas en animales, como aves y pájaros.

Yersinia enterocolitica.

Y. enterocolitica es reconocida como una causa para producir la gastroenteritis en niños^{23, 28}. En el estudio hecho en Montreal — por Marks y colaboradores, Y. enterocolitica se aisló de las heces — de 191 (2.9%) de 6 364 niños con diarrea sobre un período de 15 meses²³. En Suecia se aisló en un dos por ciento de casos de gastroenteritis aguda. En Bélgica y República Federal de Alemania se notificaron resultados de entre el uno y el tres por ciento¹⁴. En Finlandia, Japón y Estados Unidos han habido brotes de enteritis por Y. enterocolitica pero no se pudo identificar la fuente¹⁴. Y. enterocolitica se ha recuperado de animales, de abastecimiento de agua, leche cruda y alimentos¹⁴.

En Bélgica y Dinamarca se ha mostrado que del tres al cinco — por ciento de los cerdos son portadores intestinales del serotipo — O3. Los perros y gatos, con frecuencia están infectados, y han habido de infección simultánea en niños, perros y gatos en la misma casa; sin embargo, no está claro si entre animales pueden transmitir esta enfermedad al hombre¹⁴.

En Europa, Y. enterocolitica afecta con más frecuencia en los meses más fríos, aunque se observan algunos casos en primavera y verano. Se ha observado una relación entre los serotipos y ciertas zonas geográficas. El O3 es común en Bélgica, Alemania, Hungría, Países Bajos y Escandinavia, España, Canadá, Israel, Japón, etc.¹⁴.

También existe una relación entre los serotipos y biotipos y — el origen del material aislado. Las cepas patógenas son los serotipos O3, O8, y O9 y los biotipos 2, 3, y 4. El O3, el más frecuente, suele ser negativo a d-xilosa. Las cepas de liebres y cabras son — del serotipo O2 y son negativas a la trealosa¹⁴.

Clasificación.— Yersinia enterocolitica se denominó como Pas-

teurella Y y sermen Y y Bacterium enterocolitica, ahora es clasificada en el género Yersinia, muy relacionada al género Pasteurella²⁰. El primer reporte de infección en humanos fue en Europa y en Norteamérica se reportó hasta 1959²⁹. Yersinia enterocolitica es gram negativa y aerobica, miembro de la familia Enterobacteriaceae²³.

Características en el Laboratorio.— Y. enterocolitica prolifera en agar peptona, agar sangre, agar su, leucocolato y MacConkey aun que su desarrollo es lento. No crece bien en agar endo. Al cabo de 24 horas su crecimiento es pequeño, pero aumenta a 48 horas, especialmente cuando se incuban las cajas a 22-25°C. La movilidad y una reacción de Voges Proskauer positiva se observan solamente después de haber incubado los medios a 22-25°C¹⁴.

El aislamiento de heces de Y. enterocolitica puede hacerse simultáneamente al de otras enterobacterias lactosa negativas. Lo ideal es hacerlo estruando una placa más, que se incuba a 22-25°C durante 48 horas, o con una placa incubada durante 18-24 horas a 37°C para aislar Salmonella y Shigella, que se somete a 22-25°C durante otras 24 horas. En los laboratorios donde no tengan incubadoras a 22-25°C y donde la temperatura ambiente sea superior a los 25°C, — las placas se pueden incubar a 37°C durante 48 horas, pero requieren una observación cuidadosa para detectar Y. enterocolitica, que se manifiesta en colonias diminutas parecidas a los enterococos¹⁴.

Se ha demostrado que para detectar pequeñas cantidades de microorganismos en heces, es preciso enriquecer los especímenes durante tres a siete días en una solución amortiguadora de fosfato o caldo de peptona a 4°C; esto estimula el desarrollo de Y. enterocolitica e inhibe el de E. coli y otras bacterias. El enriquecimiento no ofrece ninguna ventaja cuando se trata de aislar Y. enterocolitica de heces de casos de diarrea aguda. Otros métodos selectivos son el uso de caldo de selenita de Leifson suplementado con C.OCT de verde de malaquita, o un medio con carbencilina¹⁴.

La presencia de colonias de Y. enterocolitica debe confirmarse por medios bioquímicos; generalmente son positivas a la ureasa y negativas a la oxidasa y fenilalanina. Ciertos investigadores en Bélgica y Suecia han dividido Y. enterocolitica en cinco biotipos¹⁴.

Las cepas patógenas para el hombre parecen pertenecer a los — biotipos 2, 3 y 4. El biotipo 5 se ha observado más comúnmente en pisocitos, mientras que el biotipo uno comprende cepas no patógenas para el hombre¹⁴.

Y. enterocolitica tiene antígenos lipopolisacáridos. En momento los investigadores están de acuerdo en cuanto a los serotipos O. — Hasta la fecha, las cepas patógenas para el hombre han pertenecido casi exclusivamente a los serotipos O3, O8 y O9¹⁴.

Patogénesis.

Se ha demostrado que ciertas cepas de los serotipos O3, O8 y — O9 son invasivas en las pruebas HeLa, de riñón porcino y de cerenaf¹⁴. Se ha observado la producción de una enterotoxina termoestable (de bajo peso molecular y soluble en metanol) por cepas de los serotipos O3 y O8 y por dos cepas no clasificadas. La enterotoxina se detectó al incubar esas cepas a 25°C (pero no a 37°C) y ensayar el su brnadante y el filtrado por valoración en el asa ileal de conejo y ratón lactante; se ha demostrado que es un potente activador de la guamilato ciclasa. Algunas cepas son a la vez invasivas y productoras de enterotoxina.¹⁴

Salmonella.

El género Salmonella comprende ahora alrededor de 2 000 serotipos capaces de infectar a una gran variedad de animales de sangre — fría y caliente y su distribución es mundial¹⁴.

En Estados Unidos hay alrededor de dos millones de infecciones por Salmonella al año, de las que 500 mil requieren hospitalización¹⁴. En Inglaterra y Gales, una extrapolación similar de datos confirmados en el laboratorio produciría un total estimado de 200 mil — infecciones humanas anuales¹⁴. Aunque la salmonelosis no produce — gran mortalidad, es causa importante de diarrea y como tal, tiene considerable importancia económica debido a los gastos de atención — médica y al tiempo de trabajo perdido¹⁴. En esos países, la incidencia de la salmonelosis es más alta en el primer año de vida, y particularmente en los primeros meses¹⁴. En los países en desarrollo, — la falta de datos de servicios de vigilancia hace difícil evaluar —

la importancia de la salmonelosis en la familia o en la comunidad.¹⁴

En los Estados Unidos la carne de bovino es una causa importante de infección por Salmonella, mientras que en Inglaterra y Gales provienen de las aves alrededor del 50% de los brotes y del ganado vacuno sólo el dos por ciento. En otros países desarrollados, - las aves y los cerdos son las fuentes principales de infección por Salmonella.¹⁴

Shigella.

La Shigella produce disentería bacilar que normalmente se manifiesta con fiebre y diarrea acuosa, ésta última cambiando, en el primer o segundo día de la enfermedad, a deposiciones frecuentes de pequeño volumen con sangre y mucosidad. Aunque con frecuencia se ha notificado que Shigella dysenteriae (bacilo de Shiga) produce la forma más grave y Shigella sonnei la más benigna. El caso típico es de corta duración (unos cuatro días) pero en casos excepcionales los síntomas pueden ser o estar presentes hasta los meses; en contraste con la salmonelosis, las complicaciones extraintestinales son raras.¹⁴

La distribución de la infección por Shigella es mundial acuerdo de la incidencia más elevada en países donde la higiene es deficiente.¹⁴ A medida que mejora el nivel general de higiene ambiental y personal en un país aumentan los casos debidos a Shigella sonnei y disminuyen los debidos a Shigella flexneri.¹⁴

El hombre es tanto reservorio como huésped natural de Shigella. La infección se contrae por vía fecal-oral y la forma más común de propagación es de persona a persona, debido a la alta dosis infectante (10^1 , 10^2).¹⁴

En 1969 y 1970 hubo una epidemia por Shigella en México y América Central, con elevada mortalidad y morbilidad, especialmente entre los niños, notificando más de 13 000 infecciones. También hubo en 1972 una grave epidemia de disentería por el bacilo de Shiga, y en Sri Lanka se registró otra en 1976.¹⁴

Escherichia coli.

Recientemente se han reconocido tres grupos de E.coli como importantes agentes etiológicos de diarreas: E.coli enterotoxigénica, E.coli enteropatógena y E.coli enteroinvasiva.¹⁰

La incidencia de E.coli enterotoxigénica ('ETEC') es mayor en países en vías de desarrollo, comprendiendo a México y en niños menores de dos años de edad. Se requiere de un inóculo relativamente grande para producir enfermedad, y una disminución en la acidez gástrica aumenta la susceptibilidad.¹⁰

Los esfuerzos para relacionar a E.coli con la etiología de enteritis infantil comenzó cuando se aisló E.coli en niños con diarrea en 1885. Durante los años de 1920 a 1930 se trató de identificar tipos específicos de E.coli como agentes etiológicos pero no se tuvo éxito, hasta que Kauffman en la década de los 40's desarrolló un esquema de serotipificación.¹⁰ Investigaciones epidemiológicas en Londres de enteritis infantil en esa época demostraron claramente que ciertos tipos serológicos fueron responsables.¹⁰

Rotavirus.

El problema de la diarrea de origen vírico es de particular importancia, ya que recientemente se ha demostrado que los virus son los causantes de la mayoría de los episodios de diarrea aguda entre los lactantes y niños de corta edad.⁹

La incidencia es mayor entre los nueve y los doce meses de edad. Se han detectado rotavirus en aproximadamente el 50% de los casos - diarreicos, con variaciones estacionales.⁹ En Washington, D.C., se detectaron anticuerpos contra rotavirus por fijación de complemento e inmunofluorescencia en más del 90% de los niños de tres años de edad. En Melbourne, Australia, el 40% de los lactantes de 40 meses o menos, en que se practicó la primera de esas pruebas poseían anticuerpos contra rotavirus; entre los tres y los cinco meses de edad el porcentaje con anticuerpos era más elevado aún y llegaba al 70% para los niños de tres años. También se demostró que aproximadamente el 70% de los adultos poseían anticuerpos.⁹ Se han descrito dos tipos de rotavirus que infectan al humano.¹⁰

17. MATERIAL Y METODO

Muestra.

Del 23 de Diciembre de 1980 al 30 de Junio de 1981, se analiza ron 256 muestras de materia fecal de niños menores de dos años, que ingresaron a los Servicios de Urgencias y Preescolares del Hospital de Pediatría del C.M.V. del INPS con gastroenteritis aguda, de menos de cinco días de evolución y que no habían recibido tratamiento previo con antibióticos.

Así mismo, 49 muestras testigo, aproximadamente una por cada cinco muestras, de niños de la misma edad, que ingresaron a los mismos servicios por motivos diferentes a la gastroenteritis sin tratamiento con antibióticos.

Observación directa.

Después de tomada la muestra en las salas, se transportó al laboratorio, en donde el primer análisis fue observar la consistencia de la muestra y la presencia de moco y sangre.

Observación al Microscopio de Contraste de Fases.

Esta consiste en una preparación en fresco, haciendo una suspensión con una asa, de las heces, teniendo el cuidado de tomar de la parte donde hay moco y sangre, en un portachipos y observando con el objetivo de aceite de inmersión. Se buscan leucocitos polimorfonucleares, eritrocitos y principalmente bastones curvos (espirilos) con gran movilidad, para el diagnóstico parcial de Campylobacter fetus ss jejuni como lo recomiendan Barzani y Fleming¹⁷.

Cultivo.

Una vez hecha la observación en el microscopio de contraste de fases, por medio de un hisopo estéril, se hace la siembra de las muestras en los siguientes medios:

- a). Medio selectivo para Campylobacter fetus ss jejuni. Medio de Kirrow^{15,16}.

Base agar Columbia	42 gr./l: de agua destilada
Sangre hemolizada de carnero	76
Vancomicina	10 mcg/ml
Polimixina B	5 mcg/ml
Trimetoprim	5 mcg/ml
Cefalotina	15 mcg/ml
Anfotericina B	2 mcg/ml

El agar con el agua se disuelve por ebullición y se esteriliza

15 min, 15 lb, 121°C; después de lo cual se mantiene en baño maría a una temperatura de 45-50°C.

Se prepara una solución Stock de los antibióticos (Trimetoprim primero se disuelve con metanol-agua y después se completa con agua el volumen). La solución de Cefalotina se hace con buffer de fosfatos 0.1 N y pH 6.

Se arroja al agar columbia la sangre de carnero hemolizada (se hace por congelación-descongelación tres veces) y los antibióticos para tener la concentración final deseada, y se vacían 20 ml. en cajas estériles de petri.

b). Medios selectivos y diferenciales para enterobacterias.

1.- Tergitol.

Se suspenden 33 gramos en un litro de agua destilada, se disuelve por ebullición y se esteriliza 15 min, 15 lb, 121°C. Y se vacían 20 ml en cada caja.

2.- MacConkey.

Se suspenden 50 gramos en un litro de agua destilada, se disuelve por ebullición y se esteriliza 15 min, 15 lb, 121°C. Y se vacía en cajas.

3.- Agar Salmonella y Shigella.

Se suspenden 60 gramos en un litro de agua destilada, se calienta a ebullición durante un minuto y no se esteriliza. Se vacía en cajas.

c). Medio de enriquecimiento para Salmonella.

1.- Caldo selenito.

Se disuelven 23 gramos en un litro de agua destilada y se colocan 5 ml en tubos de 16 x 150 mm. (conservarse en refrigeración). En este medio la siembra se hace por duplicado.

Control.

Para control del medio de Skirrow se siembra una caja con una cepa pura de Campylobacter jejuni. Y en otra se pone muestra fecal, sembrando para aislamiento.

Incubación.

Las cajas que contienen el Skirrow se colocan en una jarra de Gas-Pack, evacuando dos terceras partes de aire, con bomba de vacío

Los medios que corresponden al selenito a temperatura ambiente por 24 horas y los que corresponden al selenito a 37°C, 24 horas. - Pasado ese tiempo se pican colonias sospechosas.

Pruebas de identificación.

Con pipeta Pasteur estéril se hace un inóculo a partir de las aguas triptonadas, en tubos que contienen los siguientes medios para las diferentes pruebas bioquímicas.

a) TSI

Se disuelven 64.5 gramos en un litro de agua destilada por ebullición, se distribuye 3 ml en tubos 12 por 75 mm y se esteriliza - 15 min. 15 lb, 121°C. Se deja solidificar en forma inclinada.

b) NIO

Se disuelven 31 gramos en un litro de agua destilada por ebullición, se vacía 3 ml en tubos 12 por 74 mm y se esteriliza 15 min, 15 lb, 121°C. Se deja solidificar en forma vertical.

c) LIA

Se disuelven 34.5 gramos en un litro de agua destilada por ebullición, se distribuye en tubos de 12 por 75 mm (3ml) se esteriliza 15 min, 15 lb, 121°C. Se deja solidificar en forma inclinada.

d) PRVILALAVINA

Se disuelven 23 gramos en un litro de agua destilada por ebullición, se distribuyen 3 ml en tubos de 12 por 75 mm, se esteriliza 15 min, 15 lb, 121°C. Se deja solidificar en forma inclinada.

e) UREA DE CHICKENSEN.

Se disuelven 29 gramos en 100 ml de agua destilada de base de urea y se esteriliza por filtración. Se disuelven 15 gramos de agar en 900 ml de agua destilada por ebullición, se esteriliza 15 min, - 15 lb, 121°C. Una vez estéril el agar se mantiene a una temperatura entre 45-50°C y se le adiciona la base de urea, resolando en forma homogénea. vaciando en tubos previamente esteriles (3 ml) y dejando solidificar en forma inclinada.

Incubación.

Todos los medios de las bioquímicas se incuban 35-37°C por 18-24 horas.

Lectura e interpretación.

Transcurrido el tiempo de incubación de los sectores de las bioquímicas:

a) TSI.-

Utilización de la glucosa.

Superficie. color rojo

Fondo. amarillo

H₂S. precipitado negro

Gás. burbujas o desplazamiento del medio.

Fermentación de glucosa y lactosa.

Superficie. color amarillo

Fondo. amarillo

No hay fermentación de glucosa ni de lactosa

Superficie. rojo

fondo. rojo

b) NIO (motilidad, indol y ornitina)

Motilidad negativa. crecimiento solo en la picadura

Motilidad positiva. turbidez en todo el tubo

Indol positivo. al adicionar dos gotas del reactivo de —
Erich o de Kovacs se forma un anillo rojo

Indol negativo. al adicionar los reactivos mencionados, no
se forma el anillo.

Ornitina positiva. el color morado se acentúa.

Ornitina negativa. hay un color amarillo en el fondo.

c) LIA (Lisina-iron-agar)

Lisina positiva (descarboxilación). El color morado del me-
dio se acentúa.

Descarboxilación negativa de la lisina. El fondo del tubo
es amarillo.

Desaminación de la lisina. En la superficie se forma un co-
lor rojo.

Producción de H₂S. Formación de un precipitado negro.

d) FWILALANINA.

Desaminación de la fenilalanina. Se forma un color verde -
en el tubo al adicionar -
unas gotas de FeCl₃.

Desaminación negativa de la fenilalanina. No se forma co-
lor al adicionar
el FeCl₃.

e) UREA DE CHRISTENSEN.

Hidrólisis de urea. Formación de un color rosa

Hidrólisis negativa de urea. No hay formación del color —
rosa.

Identificación.

Los resultados de las bioquímicas se comparan con el comporta-
miento, dado en tablas, de las enterobacterias¹. Cuando se sospecha
de Yersinia enterocolitica, a estas cepas se les hacen las pruebas

y reemplazándolas con CO_2 , incubándolas a 42°C , durante 42 horas.¹²³³

Las cajas de MacConkey, Territol y el agar para Salmonella y Shigella se incuban a $35-37^\circ\text{C}$, 24 horas.

Uno de los tubos de selenito se deja a temperatura ambiente y el otro se incuba a $35-37^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Selección de colonias sospechosas.

Para el aislamiento de Campylobacter fetus en jejuni se hace una observación de las cajas a las 24 horas, si es negativo, se guardan otras 24 horas en las condiciones de 42°C y a la atmósfera adecuada. Existen dos colonias típicas: a) extendidas, arriscas, planas y de bordes irregulares. b) Convexas, brillantes y de 1-2 mm de diámetro.⁷

Una vez obtenidas colonias puras de Campylobacter fetus en jejuni, el subcultivo se hace en agar sangre o en agar chocolate con la temperatura y atmósfera adecuadas.

Para enterobacterias, se pican colonias lactosas negativas, que en MacConkey y agar Salmonella-Shigella son transparentes y en territol azules; y se inoculan en agua triptonada, incubando 2 horas a 37°C .

Agua triptonada:

Basto tryptone (difco) ————— 10 gra.
 Solución de sales ————— 20 ml
 Agua destilada ————— 1000 ml.

Esterilizar a 15 lb por 20 min., después de haber colocado 2 ml en tubos de 13 por 100 mm de tapón de rosca.

Las cajas de MacConkey y agar Salmonella-Shigella se dejan a temperatura ambiente por otras 24 horas. Después de lo cual se buscan colonias pequeñas parecidas a las de los enterococos, para buscar Y. enterocolitica.

Reinocua.

De los tubos de selenito inoculados e incubados a temperatura ambiente uno y a 37°C el otro, se hace reinocua de los dos en los medios Salmonella-Shigella y verde brillante.

Verde brillante.

Se disuelven 58 gramos en un litro de agua destilada, por ebullición y se esteriliza 15 min, 15 lb, 121°C y se varía en cajas. -

añiciones confirmatorias de oxidasa, catalasa, reducción de nitratos, celobiosa, trealosa, maltosa¹⁴.

Para Campylobacter no se hacen bioquímicas, la identificación de la subespecie se hace en base a la observación en microscopio de contraste de fases, la incorporación de los antibióticos al medio y el crecimiento a 42°C.

Aglutinación.

a) Para E.coli; no se hacen bioquímicas, de la caja de tergitol se seleccionan cuatro colonias lactosa positivas y se ponen en agar peptonado.

Agar peptonado

Agar----- 4.5 grs.

Peptona----- 3.75 grs.

Disolver en 1000 ml de agua destilada y calentar hasta ebullición. Vaciar en tubos de 12 por 75 mm, 2.5 ml con tapón de hule y esterilizar 15 min, 15 lb, 121°C. Dejar enfriar inclinados.

La aglutinación es en placa, y se corre un testigo con solución salina; se usan sueros polivalentes anti E.coli A,B,C,D,E y O78.

b) Para Salmonella; de las cepas sospechosas y a partir del tubo de TSI se hace aglutinación con los sueros polivalentes anti Salmonella O y H.

c) Shigella; Las cepas sospechosas se aglutinan con sueros anti Shigella A,B,C y D.

Anejo un diagrama en el que se podrá observar, en forma simplificada, todos los análisis a que se sometieron las muestras para determinar el agente etiológico de la diarrea.

Almacenamiento de cepas.

1.- De un cultivo de 24 horas se toma con el asa y se hace una suspensión en dos ml de una solución de citrato-glicerol.

a) 60 ml de una solución de citrato de sodio al 5%

b) 40 ml de glicerol.

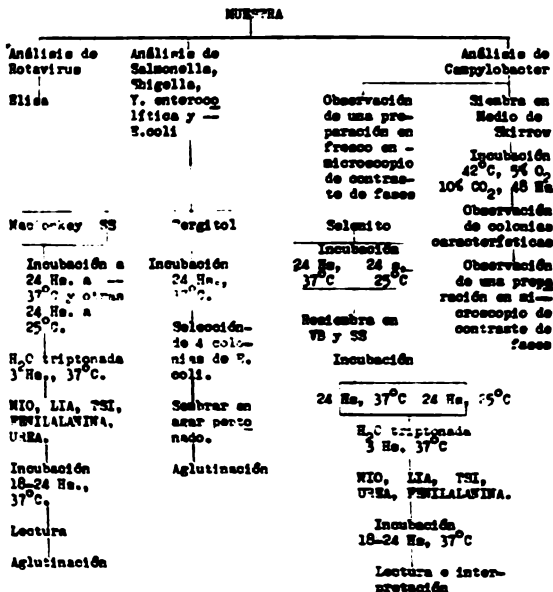
Se mezclan a y b, se distribuyen en tubos de 12 por 75 mm, 2 ml, y se esteriliza 15 min, 15 lb, 121°C.

2.- Por otro lado se tiene una bolsa de plástico de seis por once centímetros a la que se introducen dos o tres recortes de papel filtro previamente esterilizados (en una caja de petri).

3.- De la suspensión de bacterias se toma con pipete Pasteur estériles, una porción, y se impregnan los recortes de papel filtro

4.- Así, las bolsas correctamente rotuladas se sellan con calor y se guardan en refrigeración a -60°C .

Diagrama de Procesamiento de la Muestra Diarréica para su Análisis



El análisis de rotavirus se realizó en el laboratorio de la Sección de Fisiología.

7. RESULTADOS

Relación de la Observación en Microscopio de Contraste de Vasos y el Cultivo de Campylobacter en medio de Skirrow.

En 28 casos se observaron en el microscopio bastones curvos — con novilidad, representando el 10.9% del total de las muestras procesadas. De estos 28 solamente se desarrollaron 25 en el medio de Skirrow, esto es, el 89.3% de los observados por microscopía.

Los 25 cultivos positivos representan el 9.8% del total de las muestras estudiadas.

El 10.7% de las muestras positivas por microscopía no crecieron en el medio de cultivo (cuadro I).

Distribución de Patógenos por Meses.

En la Fig. No. I se muestra que la frecuencia de Campylobacter fué en aumento de Diciembre a Febrero, presentando una disminución en Marzo para elevarse y mantenerse en más o menos la misma proporción en Abril, Mayo y Junio; es decr. en los meses más calurosos del año.

En esta misma figura se observa una tendencia similar a Campylobacter en el resto de los patógenos (Salmonella, Shigella, E.coli serotipificada y Rotavirus).

Frecuencia Relativa de Campylobacter fetus en Niños de la Ciudad de México.

En el cuadro No. II, observamos el porcentaje de aislamiento de los patógenos potenciales de diarrea aguda. Acomodándolos en orden decreciente tenemos: E.coli serotipificada 30.5%, Rotavirus — 28.1%, Campylobacter 10.9%, Shigella 9.4%, Salmonella 5.0% y Y. enterocolitica cero por ciento. En los testigos tenemos: E.coli serotipificada 43.7%, Rotavirus y Salmonella con 4.3%, Campylobacter dos por ciento y Shigella y Y. enterocolitica cero por ciento. Estos aislamientos corresponden al 93.8% en los casos en que se pudo aislar el agente etiológico de los niños con diarrea; quedando un 6.2% en los que no se llegó a determinar. De la misma manera, en los testigos hubo un 54.2% de aislamiento, cifra significativamente menor a la observada en los casos con diarrea (p(0.001).

Distribución por Edad.

En el grupo de edad donde se obtuvo más Campylobacter fue en el comprendido de uno a seis meses con un 50%; le siguen el de siete a doce meses con un 35.8% y en la misma cantidad con un 7.1% están los menores de un mes y los de 13-24 meses (cuadro III). Sin embargo, observando el mismo cuadro, en los niños de un año y en los más pequeños, se obtuvo un porcentaje de 92.9%, quedando tan solo un siete por ciento a los niños comprendidos en 13-24 meses de edad.

Características Clínicas de la Gastroenteritis por Campylobacter.

El vómito con un 71.4%, la presencia de polimorfonucleares en moco fecal en un 71.4% y moco y sangre en un 78.5% en las evacuaciones, se expresan como muy importantes en el cuadro debido a Campylobacter fetus sp. jejuni (cuadro IV).

En cuanto se refiere a síntomas en orden decreciente están diarrea, vómito, la deshidratación y la fiebre.

Infecciones con más de un Agente Patógeno.

El 22.5% de los casos en los que se llegó a la definición del agente patógeno, presentaron infecciones mixtas (cuadro V). La combinación más frecuente con un 33.3% fue la de rotavirus con E.coli serotipificada; le siguen Shigella y E.coli serotipificada con un 18.5%; Campylobacter y E.coli serotipificada con 13.0%; Campylobacter, rotavirus, Salmonella y E.coli serotipificada con 7.4%. Hay otras combinaciones con un porcentaje muy bajo.

Tiempo de Evolución de la Diarrea por Campylobacter.

Según se puede apreciar en el cuadro VI, la mayoría de las diarreas tienen una evolución de menor de cinco días (60.7%), esto es, sin tratamiento antimicrobiano y evitando la deshidratación con la ingestión de soluciones de electrolitos. Entre seis y catorce días hay un 14.3%, en más de 15 días de evolución un 10.7% y no precisaron un 14.3%.

Estudio de Familias Contacto.

Sólo se pudieron estudiar 27 familias; se identificaron seis portadores asintomáticos en cinco de ellas. Hubo un solo contacto en cuatro y en la otra hubo dos. Ocurrió diseminación intrafamiliar en el 22.2%, pero el porcentaje de contactos positivos fue de 6.2% en los 25 estudiosos.

CAPÍTULO I. Selección de la Observación en Preparación en Presco en -
Microscopio de Contraste vs Pares y el Cultivo de Campylo-
bacter fetus en jejuni.

	No	%
a) Observación de Campylo- bacter en Contraste de Pares	28/296	10,0
b) Cultivo Positivo	25/296	9,8
c) Cultivo Positivo con Observación Positiva	25/28	89,3
d) Cultivo Negativo con Observación Positiva	3/28	10,7

Prueba de Fisher $p=0,12$ (c vs. d)






Microscopio	-		total
	A	B	
	28	0	A + B=28
Cultivo	-		total
	C	D	
	25	3	C + D=28
Total	A + C=53	B + D=3	N=56

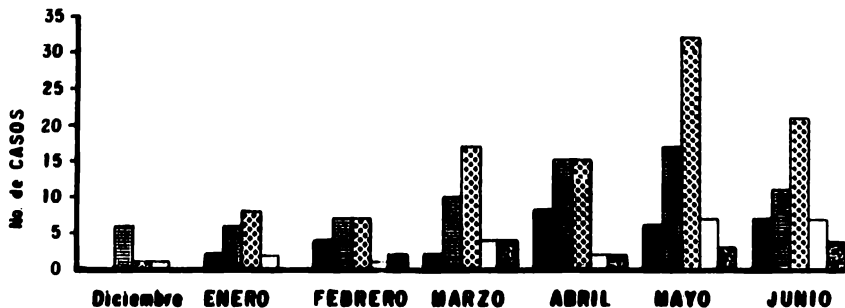
$$p = \frac{(A-B)(C-D)(A+C)(B+D)}{N^2 A B C D}$$

Substituyendo los valores de las variables en la fórmula anterior tenemos que; $p = 0,118$

Probabilidad exacta de Fisher.

FIGURA 1. DISTRIBUCION DE PATOGENOS POTENCIALES AISLADOS DE HECES EN 256 NIÑOS CON DIARREA AGUDA (Dic. 1980 - JUNIO 1981).

-  **Campylobacter fetus**
SS Jejuní
-  **Rotavirus**
-  **E. Coli**
-  **Shigella**
-  **Salmonella**



Pedroza Briseño, 1981

CUADRO II. Etiología de la Diarrea Aguda en Niños de la Ciudad de México

Germen	Diarrea Aguda (256 casos)		Testigos (48)	
	No.	%	No.	%
Rotavirus	72	28,1	2	4,2
E.coli Serotipificada	101	39,5	21	43,7
Campylobacter fetus jejuni	28	10,9	1	2,0
Shigella	24	9,4	0	0,0
Salmonella	15	5,9	2	4,2
Y. enterocolitica	0	0	0	0,0
Total	240	93,8	26	54,2

$$\chi^2 \quad p < 0.001$$

Tabla de Contingencia 2 X 2.

	+	-	Total
Casos de diarrea	240	16	256
Testigos	26	22	48
Total	266	38	304

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Substituyendo los valores correspondientes en la fórmula anterior tenemos que:

$$\chi^2 \text{ (un grado de libertad) } = 54.33, \quad p < 0.001$$

CUADRO III. Distribución de los niños con diarrea por Campylobacter fetus en jejuni.

Meses	No.	%
Menos de 1	2	7.1
1-6	14	50.0
7-12	10	35.7
13-24	2	7.1
Total	28	100.0

CUADRO IV. Características Clínicas de la Gastroenteritis por Campy
bacter fetus en jejuni (28 casos).

Característica Clínica.	No.	%
Fiebre	9	32.1
Vómito	20	71.4
No. de Evacuaciones, 24 Hrs.	Promedio 10	Valores Extremos 4-20
C/Moco	16	57.1
C/Sangre	6	21.4
Subtotal Moco y Sangre	22	78.5
Dehidratación moderada-grave	13	46.4
Leucocitos PMN en moco fecal	20	71.4

CUADRO V. Distribución de Patógenos Potenciales en Pacientes con Infecciones Múltiples.

No. de Casos	%	Campylobacter	E. coli sero tipificada	Salmonella	Shigella	Rotavirus
7	13.0	+	+	-	-	-
1	1.9	+	-	-	+	-
4	7.4	+	-	-	-	+
1	1.9	-	-	+	-	+
18	33.3	-	+	-	-	+
10	18.5	-	+	-	+	-
4	7.4	-	+	-	-	-
1	1.9	+	-	-	+	+
1	1.9	+	-	+	+	-
1	1.9	+	-	-	-	-
1	1.9	-	-	+	+	-
2	3.7	-	+	-	+	+
1	1.9	-	+	+	+	+
1	1.9	-	+	-	-	-
1	1.9	+	-	+	-	-
Total 54		17/28	45/101	10/15	17/24	29/72

CUADRO 71. Tiempo de Evolución de la Diarrea por *Campylobacter*.

Evolución (días)	No. de Casos	%
Menos de 5	17	60,7
6-14	4	14,3
Más de 15	3	10,7
No Precizados	4	14,3
Promedio 7,04 días		
Valores Extremos		1 a 37 días.

VI. DISCUSION

Karmaly y Fleming¹⁷ recomiendan la observación de las heces en microscopio de contraste de fases, durante la fase aguda de la enfermedad para un diagnóstico rápido; y refieren que se puede confirmar éste, con el cultivo de las heces en el medio selectivo de Skirrov. En el presente trabajo (cuadro I) el 10.7% de los casos observados en el microscopio de contraste de fases no se pudo lograr el aislamiento de Campylobacter fetus en el medio selectivo; es decir, tres de 28, diferencia que carece de significado estadístico ($p = 0.12$). En los objetivos de esta tesis no se contemplaba una evaluación del método, sin embargo, consideramos la posibilidad de que se pudiera tratar de la subespecie *intestinalis*, cuyo crecimiento no es posible a 42°C³³.

Según reportes en Bruselas, Australia, Inglaterra, Suecia, Canadá, Estados Unidos y Africa¹⁵ el aislamiento de Campylobacter fetus va de un 5 a un 14 por ciento de pacientes con diarrea y de 0.6 a 1.6 por ciento en personas asintomáticas. Aquí en México encontramos en niños menores de dos años un 10.9% y en testigos con la misma edad en un dos por ciento.

Globalmente Campylobacter fetus se encuentra en el tercer lugar en importancia de los patógenos aislados e igualmente importante que Shigella; aunque en el caso de E. coli serotificada hay un porcentaje de 43.7% mucho más elevado en los testigos que en los problemas, existiendo la posibilidad de que una buena cantidad de estas E. coli se encuentren en calidad de asintomáticas, ya que 45 de las 101 cepas aisladas están participando en infecciones mixtas (cuadro V). Esta observación está de acuerdo con lo referido en la literatura, con respecto a la dificultad para establecer el papel de patógeno de E. coli serotificada, ya que se conocen al menos tres mecanismos diferentes: enterotoxinas (toxina termolábil y toxina termolábil), invasividad, citotoxicidad y desconocido para las serotificadas^{22,30}.

El índice global de aislamiento es de 93.9% (cuadro II); que comparado con el 60-80%²⁴ porcentaje obtenido por otros investigadores, parece elevado. A pesar de las consideraciones anteriormente citadas

sobre E. coli, el optimismo es grande porque si hemos visto aumentado el conocimiento de la etiología, el cual se hubiese incrementado más si se investigan otros patógenos como E. histolytica, Giardia lamblia, E. coli toxigénica y citotóxica, vibrios y otros virus.

Campylobacter en los países donde se ha estudiado¹⁴ es más frecuente en los meses calurosos. Según observamos en la figura uno, a que se encontró más, efectivamente en los meses de abril, mayo y junio; sin embargo, para dar o tener una mejor opinión es necesario continuar el estudio hasta completar un año.

A través del cuadro III se confirma que Campylobacter fetus es jejuni afecta característicamente a niños¹². En Estados Unidos Tsurrrant y colaboradores¹² encuentran que el 60% de las personas estudiadas eran menores de seis meses de edad; aquí encontramos un 57.1%. En Canadá, 27 personas de 37 positivas a Campylobacter fetus es jejuni son menores de cinco años¹⁷. Aún más, vemos que el grupo de edad más afectado es el menor de 12 meses, con un 92.0% (cuadro III).

En cuanto a la sintomatología, parece haber diferencias según el grupo de edad de que se trate^{17, 12}. Karmaly y Fleming reportan que los síntomas más comunes son fiebre, diarrea y la presencia de sangre en las heces y dolor abdominal en un 60%¹⁷. Sin embargo, nosotros encontramos (cuadro IV) al vómito con 71.4% y la presencia de leucocitos polimorfonucleares en heces en un 71.4% como más importantes. Esto se podría explicar por el hecho de que 17 de los 26 niños con Campylobacter fetus es jejuni presentan otros patógenos; que podrían contribuir a una confusión en la autenticidad de los síntomas. Si no es así, entonces Campylobacter fetus es jejuni ofrece todas las posibilidades sintomatológicas y probablemente tenga diferente manifestación en los niños (enteritis) que en los adultos (colitis).

Según vemos en el cuadro V, a diferencia de otros lugares²⁵,— en nuestro medio hay un alto grado de infecciones múltiples, debido a una falta muy grande de higiene general.

En el 60.7% de los casos de diarrea por Campylobacter, su evolución es de menos de cinco días, semejante a lo observado en diarrea de otra etiología, por lo que sus características no permiten sospechar la presencia de este germen.

El orden de importancia de Totavirus, Shigella y Salmonella es semejante al observado en un trabajo recientemente realizado en México²⁴. La importancia de Campylobacter nos lleva a considerar la necesidad de identificarlo en el coprocultivo que se realiza en el estudio habitual de niños con diarrea aguda.

No se aisló Yersinia enterocolitica. Consideramos dos posibilidades; que el método no fue lo suficientemente sensible y que es una infección poco frecuente. Que en futuros estudios se deberán emplear métodos en los que se usen medios de enriquecimiento con incubación a bajas temperaturas y un tiempo no menor de una semana^{14,25}. Metodología no recomendada en el diagnóstico rutinario de las diarreas; a menos de que se trate de una encuesta epidemiológica, o bien, en la detección de este patógeno en los alimentos para la toma de medidas sanitarias.

VII. CONCLUSIONES

- 1.- Debido a la frecuencia de aislamiento de Campylobacter fetus subespecie jejuni, ocupando globalmente el tercer lugar en importancia, en lo sucesivo se deberá incluir su — búsqueda en la investigación del posible agente patógeno — de la diarrea aguda.
- 2.- Para el estudio de Campylobacter fetus subespecie jejuni — en un coprocultivo, se recomienda como primera instancia — la observación en microscopio de contraste de fases de las heces y el cultivo posterior de las mismas en medio de — Skirrow.
- 3.- Campylobacter fetus subespecie jejuni afecta característicamente a niños pequeños produciéndoles principalmente diarrea y vómito, con un tiempo de evolución menor a los cinco días.
- 4.- La infección de Campylobacter fetus subespecie jejuni es más elevada en los meses calurosos del año.
- 5.- Prevalen en nuestro medio infecciones de etiología mixta.
- 6.- Los resultados sugieren que Yersinia enterocolitica es una causa poco frecuente de diarrea.

VIII. RESUMEN

Se estudiaron 256 niños menores de dos años con diarrea aguda y 48 niños de la misma edad como controles asintomáticos.

El objetivo del trabajo fue determinar la importancia y la frecuencia relativa de Campylobacter fetus ss jejuni y Yersinia enterocolitica en niños con diarrea aguda de la Ciudad de México.

Se identificó Campylobacter fetus ss jejuni en el 10.0% de los enfermos y en el dos por ciento de los testigos. Se identificaron además contactos intrafamiliares en el 22.7% de 27 familias estudiadas y en el 6.7% de 05 contactos asintomáticos. No se identificó Yersinia enterocolitica.

La infección por Campylobacter fetus subespecie jejuni predomina en los meses calurosos y el cuadro clínico no tuvo ninguna característica especial que permitiera distinguirlo del producido por otros géneros.

IX. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Biochemical Reactions Given by Enterobacteriaceae in Commonly-Used Test. (Revised). September 1973. U.S. Department of Health, Education, and Welfare. Public Health Service. Center for Disease Control. Atlanta, Georgia 30333.
- 2.- Black R.E., J. Jackson T., Tsey W. Epidemic Yersinia enterocolitica infection due to contaminated chocolate milk. W. Engl. J. Med. 1978, 298:76-79.
- 3.- Bruce D., Zochowski., Ferguson I.R. Campylobacter enteritis (c). Ibid, p 1219.
- 4.- Bryner J.H., Ritvik A.E., Booth G.D., et al. Lytic activity of vibrio phages on strains of vibrio fetus isolated from man and animals. Appl. Microbio. 1973, 26:606.
- 5.- Butsler J.P., Dekeyser P., Detrain W. and Dehan P. Related vibrio in stools. J. Pediatr. 1973, 82:493.
- 6.- Campylobacter enteritis- Colorado. Ibid, p 226.
- 7.- Clinical Laboratory. Methods and Diagnosis. Edited by Alex O. - Sonnenwirth. Leonard Jarrett. Eight edition. Volume two, chapter 79 pág. 1827-1828 and chapter 75 pág. 1611-1612. 1980. The O.-V. Mosby Company.
- 8.- Delorme J., et. al. Yersiniosis in children. Can. Med. Assoc. - J. 1974, 11:281-284.
- 9.- Enfermedades diarreicas por rotavirus y otros agentes víricos. Organización Mundial de la Salud. Informe de un subgrupo científico de trabajo sobre epidemiología y etiología. Washington, - D.C., 27-29 de marzo de 1979.
- 10.- Escherichia coli diarrhoea. World Health Organization. --- Diarrhoeal diseases control programme. WHO/DDC/SFS/ 79.1 --- Copenhagen, 15-16 January 1979.
- 11.- Evans D.G., Olarte J., Dupont H.L., Enteropathogens associated with pediatric diarrhoea in Mexico city. J. Pediatr. 1977, --- 91:65.
- 12.- Guerrant L.R., Labitia R.G., Winn W.C. Campylobactericid in man Pathogenic Mechanism and Review of 91 Bloodstream Infections. - Am. J. Med. 1978, 65:584-590.

- 13.- Hayek L.J., Cruick Hank J.G. *Campylobacter enteritis*. (c) ———
Ibid, p 1219.
- 14.- Infecciones Entéricas Producidas por *Campylobacter*, *Yersinia*, -
Salmonell, y *Shigella*. Organización Mundial de la Salud. Progra
ma de lucha Contra las Enfermedades Diarréicas. OMS/DCC/WPE/ —
80.4. Ginebra, 14 al 16 de noviembre de 1979.
- 15.- J. Rettig P. *Campylobacter infections in human beings*. J. ———
Pediatr. 1979, 94:855-864.
- 16.- Karmali M.A., Fleming P.C. *Campylobacter enteritis*. *MA. J.* ———
1979, 120:1525-1532.
- 17.- Karmali M.A., Fleming P.C. *Campylobacter enteritis in children*.
J. Pediatr. 1979, 94:527-533.
- 18.- King E.O. The laboratory recognition of vibrio fetus and closely
related vibrio isolated from cases of human vibriosis. *Ann. NY-*
Acad. Sci. 1962, 98:700.
- 19.- Kohl S., A Jacobson., and A. Wahimas. *Yersinia enterocolitica* —
infections in children. *J. Pediatr.* 1977, 89:77-79.
- 20.- Kumate J., Cutilérrez G. *Manual de infectología*. Sexta edición.
Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México, D.F., 1978.
pág 34.
- 21.- Lambert W.R., Schofield P.P., Ironside A.G., et. al. *Campylobac*
ter colitis. *Br. Med. J.* 1979, 1:857.
- 22.- Levine M.W., Bergquist F.J. *E.coli* strains that cause diarrhoea
but do not produce heat labile or heat-stable enterotoxins and
are non-invasive. *Lancet.* 1978, 1:1119-1122.
- 23.- Marks N.I., Pai C.H., et. al. *Yersinia enterocolitica gastroen*
teritis: A prospective study of clinical, bacteriologic, and epi
demologic features. *J. Pediatr.* 1980, 96:26-31.
- 24.- Muñoz Hernández O., Coello-Ramfres P., Serafin A.P. *Gastroente*
ritis infecciosa aguda. Etiología y su correlación con las mani
festaciones clínicas y el moco fecal. *Arch. Invest. Méd.* 1979,
10-135-145.
- 25.- Pai C.H., Marks N.I. *Campylobacter gastroenteritis in children*.
J. Pediatr. 1979, 94:589-591.
- 26.- Pai C.H., Sorger S., Lafleur L. Efficacy of cold enrichment ———
Techniques for Recovery of *Yersinia enterocolitica* from Human -
Stools. *J. Clin. Microbiol.* 1979, 9:712-715

- 27.- Pearson A.D., Suckling W.G., Ricciardi I.D., et. al. Campylobacter associated diarrhoea in Southampton (c). Ibid, p 155.
- 28.- Peel R.W., McIntosh A.W. The dog it was that died (c) Lancet — 1978, 2:1212.
- 29.- Randal C., Barnatyne R. Experience with *Yersinia enterocolitica* at the hospital for sick children. CMA J. 1975, 113:542-543
- 30.- Speck R.B. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: Identification and Characterisation. J. Infect. Dis. 1990, 142:270-286.
- 31.- Severin W.P. Campylobacter enteritis. Ned Tijdschr Geneesk — 1978, 122:499.
- 32.- Skirrow M.P. Campylobacter enteritis: a new disease. Br. Med. — J. 1977, 2:9-11.
- 33.- Slibert R.M. The genus Campylobacter. Ann. Rev. Microbiol. 1978, 32:673-709.
- 34.- Smith M.V., Muldoon P.J. Campylobacter fetus ss jejuni (vibrio fetus) from commercially processed poultry. Appl. Microbiol — 1974, 27:605.
- 35.- Thornton. The virus of acute diarrhoea. Nature 1975, 254:557.
- 36.- Veron M., and Chatelain R. Taxonomic study of the genus Campylobacter Sebald and Veron and designation of the new type strain for the type species, Campylobacter fetus (Smith and Taylor, - Sebald and Veron. Int. J. Syst. Bacteriol. 1973, 23:122-134.
- 37.- Wheeler V.E., Broders J. Vibriotic enteritis in infants. Am. - J. Dis Child 1961, 101:60.
- 38.- Winbald S. The clinical panorama of human yersinioid enterocolitica. Contrib. Microbiol. 1973, 2:129-132.
- 39.- Yolken R.H., Wyatt R.G., Zisler G. Epidemiology of Human *Yersinia* Types 1 and 2 as Studied by Enzyme-Linked Immunosorbent — assay. N. Eng. J. Med. 1978, 299:1156-1161.