



Universidad Nacional Autónoma de México

Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala

"BACTERIAS ENTEROPATOGENAS EN LA ETIOLOGIA Y
EPIDEMIOLOGIA DE LA DIARREA AGUDA EN UNA
COMUNIDAD RURAL DEL ALTIPLANO MEXICANO"

T E S I S

Para obtener el Título de

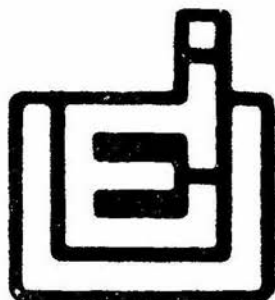
B I O L O G O

p r e s e n t a

GERARDO GONZALEZ VALENCIA

Director de Trabajo

Q.F.B. SILVIA GONZALEZ ARROYO



México, D. F.

1986



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

A mis padres por su paciencia y comprensión.

A mis hermanos: con cariño.

A Octavio y Angélica
por su amistad sincera.

Este trabajo se realizó en la Sección de Bacteriología de la División de Investigación Clínica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, de lo que fué el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro - Social.

Este trabajo forma parte del proyecto financiado por CONACYT con la clave - PCSABN-021550.

CONTENIDO

	PAG.
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	2
<u>Shigella</u> spp.	
Taxonomía.....	4
Diagnosis.....	4
Patogénesis.....	4
Características clínicas y epidemiológicas.....	4
<u>Salmonella</u> spp.	
Taxonomía.....	5
Diagnosis.....	5
Patogénesis.....	5
Características clínicas y epidemiológicas.....	5
<u>Yersinia enterocolitica</u>	
Taxonomía.....	6
Diagnosis.....	7
Patogénesis.....	7
Características clínicas y epidemiológicas.....	7
<u>Campylobacter jejuni</u>	
Taxonomía.....	8
Diagnosis.....	8
Patogénesis.....	8
Características clínicas y epidemiológicas.....	8
<u>Aeromonas</u> spp.	
Taxonomía.....	9
Diagnosis.....	9
Patogénesis.....	9
Características clínicas y epidemiológicas.....	9
III. ANTECEDENTES.....	11
IV. OBJETIVOS.....	13
V. AREA DE ESTUDIO.....	13
VI. MATERIAL Y METODOS	
1. Selección de casos.....	14
2. Coprocultivo.....	14
2.1 <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u>	
2.1.1 Aislamiento.....	14
2.1.2 Enriquecimiento y subcultivo.....	14
2.1.3 Identificación bioquímica.....	14
2.1.4 Identificación serológica.....	14
2.1.5 Conservación de cepas.....	14
2.2 <u>Yersinia enterocolitica</u>	
2.2.1 Aislamiento.....	15
2.2.2 Enriquecimiento y subcultivo.....	15
2.2.3 Identificación bioquímica.....	15

	PAG.
2.3 <u>Aeromonas spp.</u>	
2.3.1 Aislamiento.....	16
2.3.2 Identificación bioquímica.....	16
2.4 <u>Campylobacter jejuni</u>	
2.4.1 Aislamiento.....	16
2.4.2 Identificación presuntiva.....	16
2.4.3 Identificación final.....	16
2.4.4 Medio de transporte.....	16
2.4.5 Conservación de cepas.....	16
VII. RESULTADOS.....	17
VIII. DISCUSION.....	20
IX. CONCLUSIONES.....	25
BIBLIOGRAFIA.....	26

I. RESUMEN

El trabajo tuvo como finalidad determinar la frecuencia de aislamiento, y la tasa de ataque secundario (diseminación intrafamiliar) de Campylobacter jejuni, Salmonella spp., Shigella spp., Yersinia enterocolitica y Aeromonas spp. en una comunidad rural del altiplano mexicano (Cadereyta, Qro.).

De marzo de 1983 a agosto de 1985 se analizaron 433 muestras de materia fecal de individuos con diarrea y 1,264 de sus contactos intrafamiliares.

El aislamiento de Salmonella y Shigella se realizó en medios selectivos convencionales, como agar SS, agar XLD etc., con y sin enriquecimiento - previo en caldo selenito y caldo tetraciónato. El aislamiento de C. jejuni se hizo empleando los medios selectivos Campy-BAP y Campy-HEM con incubación a 42°C en microaerofilia. Aeromonas spp. se aisló utilizando XDCA y Gelosa sangre + ampicilina. Se intentó aislar Y. enterocolitica usando la técnica de enriquecimiento en frío en caldo PBS, con subcultivo en agar SS + ampicilina y caldo PSTA.

Las frecuencias de aislamiento encontradas para las bacterias investigadas en individuos con diarrea y sin diarrea fueron respectivamente: - C. jejuni (4.2 y 2.0%), Salmonella spp. (3.5 y 1.4%), Shigella spp. (1.2 y 0.3%) y Aeromonas spp. (0.2 y 0.1%). No se aisló Y. enterocolitica. No se detectó diseminación intrafamiliar de ninguna de las bacterias. Las mayores frecuencias de aislamiento en individuos con diarrea ocurrieron - en menores de 5 años, en tanto que en individuos sin diarrea ocurrieron - en mayores de 5 años.

II. INTRODUCCION

Las enfermedades diarreicas constituyen un síndrome cuya etiología - puede ser bacteriana, viral o parasitaria. En la actualidad siguen representando un serio problema de salud pública, principalmente en países en desarrollo. Presentan una alta morbilidad en la población en general, pero son especialmente importantes en niños, en los que se asocian a un tercio del total de muertes en menores de 5 años (54).

En América Latina, de acuerdo a informes de la Organización Panamericana de la Salud (29), figuraron entre las 3 principales causas de muerte en niños menores de 5 años en 15 de 18 países que notificaron datos de 1970 y alrededor de 1979. En 16 de estos países estas enfermedades constituyeron la causa principal de muerte por enfermedades infecciosas en menores de 5 años. En el Cuadro 1 se muestra el número de defunciones debidas a enfermedades diarreicas en niños menores de 5 años en las Américas, alrededor de 1970 y 1979.

En México son uno de los principales motivos de consulta y hospitalización. En 1985 hasta el mes de septiembre, según datos del Sector Salud (43), se notificaron 2'545,781 casos nuevos de gastroenteritis y otras enfermedades diarreicas en el país, cifra ligeramente menor a los 2'973,104 notificados en 1984. Aunque desde hace varios años han dejado de ocupar el primer lugar como causa de muerte, en 1985 constituyeron la primera causa de ésta en niños menores de 5 años (26).

Las enfermedades diarreicas son más frecuentes en los medios mal saneados, y en las poblaciones con desnutrición prevalente. Predominan en los lactantes y su frecuencia disminuye paulatinamente hasta la etapa final de la edad preescolar; en edades posteriores su incidencia es semejante. Son endémicas con elevaciones epidémicas. Uno de los mayores obstáculos a su prevención y control es la falta de cobertura de los servicios básicos de salud ambiental, es decir, el abastecimiento de agua potable y el saneamiento ambiental.

El desconocimiento parcial de su etiología es otro obstáculo que, sin embargo, con la implementación de nuevas técnicas de aislamiento e identificación, la búsqueda de nuevos agentes enteropatógenos y una mejor comprensión de los mecanismos que desencadenan la diarrea, ha podido solventarse en gran medida, permitiendo con ello que en los últimos años el porcentaje de identificación de la etiología de estas enfermedades se haya incrementado hasta en un 70%, cifra por demás significativa si se considera que hace apenas 15 años el 80% de los casos quedaba sin diagnosticar clasificándose como "diarreas agudas no diferenciadas" (51).

Entre los nuevos enteropatógenos que ahora se sabe son causa importante de diarrea aguda destacan: rotavirus, Escherichia coli enterotóxica, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolítica, Aeromonas spp., Clostridium difficile, y Cryptosporidium. Un aspecto sobresaliente es el hecho de que la mayoría de estos nuevos agentes etiológicos son bacterias.

Para este trabajo en particular se seleccionaron de entre los nuevos enteropatógenos a C. jejuni, Y. enterocolítica y Aeromonas spp., -

Cuadro 1. Número de defunciones debidas a enfermedades diarreicas en niños menores de 5 años, con tasas por 100,000 habitantes y número de orden dentro de las causas principales de defunción, en países seleccionados, alrededor de 1970 y 1979.

País	1 9 7 0			1 9 7 9		
	Menores de 1 año			Menores de 1 año		
	Número	Tasa (a)	Número de Orden	Número	Tasa (a)	Número de Orden
Argentina	4,561	880.5	3	2,641	463.3	2
Belice	39	823.6	1	45	762.7	1
Costa Rica	845	1,509.5	1	136	195.3	4
Cuba	1,313	564.7	4	237	122.7	4
Chile	3,853	1,418.1	3	705	264.9	3
Dominica	25	984.6	1	5	178.5	1
Ecuador	2,382	968.9	1	3,667	1,144.1	1
Guatemala	3,643	1,817.8	1	3,934	1,311.3	1
Honduras	880	792.7	1	926	873.5	1
Martinica	63	598.4	1	39	390.0	3
México	37,197	1,744.2	1	30,806	1,258.8	1
Panamá	275	588.6	2	158	305.9	1
Perú	5,501	1,802.1	3	4,872	751.8	1
Rep. Dominicana	1,642	1,177.9	1	949	538.8	1
San Vicente	47	588.6	2	23	403.5	1
Trinidad y Tobago	169	710.0	2	159	676.0	1
Uruguay	254	479.2	-	284	521.1	5
Venezuela	3,673	874.7	1	2,836	600.8	2

(a) Por 1000 nacidos vivos.

Fuente: Organización Panamericana de la Salud, 1982. Las Condiciones de Salud en las Américas 1977-1980 (29).

y además a las "clásicas" Salmonella spp. y Shigella spp. A continuación se describen algunas características de cada una de estas bacterias:

Shigella spp.

- Taxonomía.- Se clasifica en la sección 5 (Bacilos Gram-Negativos Anaerobios Facultativos) del manual de Bergey (19) como el género II de la familia I Enterobacteriaceae. El género consiste de 4 especies S. dysenteriae, S. flexneri, S. boydii y S. sonnei, las cuales frecuentemente se refieren como grupos serológicos A, B, C y D respectivamente.
- Diagnóstico.- Bacilos rectos de morfología similar a otras Enterobacteriaceae. Gram-Negativos. Anaerobios facultativos. Catalasa positivos (a excepción de una especie). Oxidasa negativos. Quimioorganotróficos. Fermentan los azúcares sin producción de gas (algunas excepciones). No emplean citrato o malonato como única fuente de carbono. No desarrollan en KCN o producen ácido sulfhídrico. Patógenos intestinales del hombre y otros primates. El contenido de G + C de su DNA es de 49-53 mol % (40).
- Patogénesis.- Shigella invade las células epiteliales colónicas, donde se multiplica y causa su muerte y hacinamiento dentro del lumen intestinal. Uno de los serotipos, S. dysenteriae tipo 1 o bacilo de Shiga, produce además una exotoxina (30).
- Características clínicas y epidemiológicas.- Shigella produce la clásica disentería bacilar caracterizada por dolor abdominal y diarrea con sangre y moco. El caso típico de disentería es de corta duración (aproximadamente 4 días). Excepcionalmente los síntomas pueden durar hasta 2 semanas. Se ha visto que los factores del huésped desempeñan un importante papel en la severidad y duración de la enfermedad. En contraste a la salmonelosis, las complicaciones extraintestinales son raras, y pocas veces se recupera Shigella de hemocultivos. Aunque los hay, son excepcionales los períodos de portador de larga duración.

La shigelosis tiene una distribución global y su incidencia es elevada donde el nivel de higiene es pobre. Conforme éste mejora, la proporción de casos debidos a S. sonnei se incrementa, en tanto que los casos debidos a S. flexneri disminuyen. De este modo en las áreas más desarrolladas S. sonnei es la más común y próxima a ella S. flexneri, siendo raras las infecciones por S. boydii y S. dysenteriae. En las comunidades en desarrollo a diferencia de las desarrolladas son más comunes las infecciones con las 2 últimas especies y la infección por S. flexneri es más frecuente que la infección por S. sonnei.

El humano es tanto reservorio como huésped natural de Shigella. La ruta de infección es fecal-oral y el modo más común de diseminación es la transmisión de persona a persona debida a bajas dosis infecciosas (10^1 a 10^2 organismos). En países en desarrollo es común también la transmisión vía agua-alimentos; en áreas con deposición inadecuada de excretas las moscas pueden representar un importante vector. En estas comunidades, la shigelosis es muy común durante la temporada de destete y se cree es la principal causa de mortalidad infantil (52).

Aunque las infecciones con frecuencia son leves y autolimitantes, en -

casos severos puede requerirse el tratamiento con antibióticos. El tratamiento puede complicarse por la incrementada incidencia de resistencia múltiple a antimicrobianos entre cepas de Shigella (40).

Las muestras de materia fecal para el aislamiento de Shigella deben colectarse durante la fase aguda de la enfermedad y antes de iniciar la quimioterapia. Después de colectar las muestras éstas deben examinarse tan pronto como sea posible. El enriquecimiento en caldo Gram-negativo puede ser de valor, aunque su aislamiento se hace generalmente por cultivo directo en placa (40).

Salmonella spp.

- Taxonomía. Se clasifica en la sección 5 del Manual de Bergey (19) como el género III de la familia Enterobacteriaceae. Durante varios años la clasificación de especies de Salmonella ha resultado controvertida. El Centro para el Control de Enfermedades de Atlanta (CDC) reportaba recientemente 3 especies bioquímicamente distintas S. typhi, S. choleraesuis y S. enteritidis, y como un género aparte, Arizona. Sin embargo, actualmente por parecerles estrechamente relacionadas todas las Salmonellae, el CDC coincide más con el reporte de serotipos que con el de especies (17). Kelly, Brenner y Farmer III sugieren la clasificación en 3 especies, de acuerdo a su significado clínico, S. cholerae suis, S. typhi y S. paratyphi A con confirmación de serogrupo (17). En el Manual de Bergey (20) se acepta la clasificación de Salmonella, de acuerdo a los llamados subgéneros de Kauffman basados en características bioquímicas. De acuerdo con esto, existen 5 subgéneros (I, II, III, IV y V) subdivididos a su vez en un gran número de serovar.
- Diagnosís. Bacilos rectos de morfología similar a la de otras Enterobacteriaceae. Gram-Negativas. Anaerobios facultativos. Generalmente móviles. Reducen los nitratos a nitritos. Por lo general producen gas a partir de glucosa. Casi siempre dan reacciones positivas para movilidad, fermentación de manitol y sorbitol y generalmente negativas para DNasa, Indol, fenilalanina desaminasa, ureasa, Voges-Proskauer, desarrollo en KCN, ONPG y fermentación de adonitol, sacarosa, lactosa, rafinosa y salicina. No utilizan malonato. La mayoría de los aislamientos son ácido sulfhídrico positivos. El contenido de G + C de su DNA es de 50 a 53 moles % (17).
- Patogénesis. Se reconocen por lo general 2 patrones de patogenicidad para Salmonella, uno se asocia con la infección generalizada del sistema retículo-endotelial (SRE), bacteremia y pirexia prolongada, infección causada típicamente por S. typhi o S. paratyphi A y B, y el otro es la enteritis causada por una amplia variedad de serotipos (52). En el primero los microorganismos invaden la mucosa y los macrófagos mucosos del intestino delgado se multiplican en los ganglios linfáticos locales, se extienden por estos hasta la sangre circulante y se diseminan a varios órganos; en el segundo patrón invaden y se multiplican en las células epiteliales del intestino, limitándose la enfermedad por regla general a los ganglios linfáticos locales (30). El período de incubación para Salmonella varía de 8 horas a 3 días (52).
- Características clínicas y epidemiológicas. Salmonella causa una gran

variedad de enfermedades entéricas que van de una gastroenteritis autolimitante con síntomas benignos de corta duración, a una gastroenteritis severa con o sin bacteremia. S. paratyphi A, S. choleraesuis y S. typhi revisten particular importancia debido a que frecuentemente se asocian a enfermedad severa y bacteremia, ésta última en especial es responsable de la fiebre tifoidea, una enfermedad severa, debilitante y potencialmente riesgosa para la vida (30).

En Estados Unidos se ha estimado que cada año ocurren 2 millones de infecciones. En Inglaterra y Gales una extrapolación similar confirmada por datos de laboratorio estimó en 200,000 las infecciones que se producen anualmente. En estos, como en otros países desarrollados, la salmonelosis no es una causa significativa de mortalidad, es una causa importante de diarrea y reviste gran interés económico por asociarse con frecuencia a gastos de tratamiento médico y pérdida de horas-trabajo. En países en desarrollo, la falta de datos hace difícil la evaluación de la importancia de la salmonelosis en la familia y en la comunidad, a pesar de que se han descrito algunos brotes por fuente común de origen alimenticio o vía agua contaminada (52).

La salmonelosis resulta principalmente de la ingestión de alimentos contaminados. En países industrializados los brotes de origen acuático han ocurrido como resultado de la contaminación de los suministros de agua potable con agua de albañal. En países en desarrollo la salmonelosis de origen acuático probablemente es más común. La frecuencia relativa de salmonelosis como una causa de enfermedad de origen alimenticio varía entre comunidades y depende de factores, tales como hábitos alimenticios, patrones higiénicos en la producción y establecimiento de servicio en alimentos y el ejercicio de la economía animal (sistemas de crianza intensivos). En los Estados Unidos aproximadamente un 40% de los casos reportados de envenenamiento por alimentos son debidos a Salmonella, mientras que en Inglaterra y Gales son aproximadamente un 80%. En estos países la salmonelosis es una zoonosis y el patrón epidemiológico global se relaciona a la fuente de proteína animal predominante en la dieta. En países en desarrollo donde la proteína animal no es parte principal de la dieta, la salmonelosis de origen alimenticio es poco común. En estos países por ser rara la crianza intensiva de animales, pocas veces se asocia al problema, sin embargo, los patrones de higiene en la producción y abastecimiento de alimentos son inferiores a los de países desarrollados y, por tal razón, se sugiere que los portadores son una fuente más importante de infección alimenticia. Se han reportado brotes nosocomiales de enteritis por Salmonella tanto en países desarrollados, como en países en desarrollo en los que además se ha documentado infección cruzada. La mayoría de los brotes han ocurrido en maternidades, unidades pediátricas y secciones para ancianos y enfermos crónicos. En las unidades hospitalarias ocurren también brotes por una fuente alimenticia común, sin embargo, su patrón epidemiológico puede distinguirse fácilmente de brotes de infección cruzada (52).

Yersinia enterocolitica

- Taxonomía. - Se clasifica en la sección 5 del Manual de Bergey (19) como el género XVI de la familia Enterobacteriaceae. Es la tercera de un -

total de 7 especies que conforman al género Yersinia.

- Diagnosís.- Microorganismo ovalado o cocoide. Gram-Negativo. Anaerobio facultativo. Móvil por flagelos peritricos cuando se cultiva a menos de 30°C. Temperatura óptima de crecimiento de 30 a 37°C con un índice de crecimiento menor a esta temperatura que otros patógenos entéricos. Un rasgo importante de Yersinia es su capacidad de reproducción a temperaturas bajas ($\pm 5^\circ\text{C}$), lo cual no pueden hacer otras bacterias afines. Fermenta arbutina, celobiosa, galactosa, sorbitol y sorbosa sin producción de gas. Produce ureasa, beta galactosidasa y ornitina descarboxilasa. Ocasionalmente produce indol. Es universalmente resistente a la penicilina y sus derivados. El contenido de G + C de su DNA es de $48.5 \pm 1.5 \text{ mol } \%$ (17).
- Patogénesis.- A pesar de que el microorganismo puede producir una enterotoxina que recuerda estrechamente a la toxina termoestable (ST) de E. coli (52), Y. enterocolítica se considera principalmente como un patógeno no invasivo que se asocia comúnmente a nódulos linfáticos intestinales.
- Características clínicas y epidemiológicas. Desde hace 10 años se ha demostrado que Y. enterocolítica puede ser una causa significativa de gastroenteritis. Se reconoce con mayor frecuencia en el norte que en el sur del hemisferio, en países de bajas temperaturas. Es una de las principales causas de gastroenteritis en Europa, Canadá y el norte de los Estados Unidos (52). Las infecciones producidas por este microorganismo son difíciles de distinguir de una apendicitis aguda. Al parecer igual que E. coli, solamente las cepas de Y. enterocolítica poseen factores esenciales de virulencia capaces de producir enfermedad intestinal en humanos (17). Al parecer las características clínicas de la infección por Y. enterocolítica varían con la edad. En niños menores de 5 años el síntoma predominante es el de una diarrea acuosa aguda de 3 a 14 días de duración, observándose sangre en aproximadamente 5% de los casos. En niños mayores de 5 años y en adolescentes, el dolor en el cuadrante inferior derecho es el síntoma más común, acompañado frecuentemente por fiebre, leucocitosis moderada y una tasa elevada de sedimentación de eritrocitos. Este cuadro clínico es el responsable de que se confunda la infección por Y. enterocolítica con una apendicitis aguda (52). Algunas infecciones poco comunes que pueden seguir a la enteritis causada por Y. enterocolítica son el eritema nodoso (especialmente en personas mayores de 40 años) y la artritis reactiva. Se han descrito unos 100 casos de septicemia ocasionados por este microorganismo, principalmente en Europa. También ocasionalmente se han descrito casos de miocarditis, hepatitis aguda, absceso hepático, conjuntivitis, meningitis, uretritis, y glomerulonefritis aguda. La incidencia de Y. enterocolítica se ha estudiado únicamente en unas cuantas áreas. En un estudio en Suecia en 1978 se aisló de 154 (2%) de los 7,304 casos de enteritis estudiados. Resultados similares se han reportado de Bélgica, Canadá y Alemania Federal. No se han realizado grandes estudios en países en desarrollo, ni tampoco estudios basados en alguna comunidad. Se han reportado brotes de enteritis causada por Y. enterocolítica en Finlandia, Japón y Estados Unidos sin que se haya identificado su fuente. Los brotes ocurrieron en hospitales en los que la transmisión de persona a persona fué el modo más común de diseminación (52).

Existen grandes reservorios animales de este microorganismo. Se ha aislado de animales sanos y enfermos en toda Europa y Estados Unidos. Estos animales incluyen cerdos, ovejas, cabras, vacas, ciervos, monos y chinchillas. Los alimentos son una fuente común de infección humana, especialmente si estos son líquidos (leche, agua) contaminados por heces y orina de animales infectados. La yersiniosis animal y humana es prevalente principalmente en los meses más fríos del año, probablemente porque el organismo puede crecer a bajas temperaturas (31).

Campylobacter jejuni

- Taxonomía.- Se clasifica en la sección 2 (Bacterias Gram-Negativas Aeróbicas/Microaerofílicas, móviles, Helicoidales/Vibrioides) del Manual de Bergey (19) como miembro del género Campylobacter. Es la segunda de un total de 5 especies.
- Diagnósis.- Bacilos curvados espiralmente, de 0.2 a 0.5 μm de ancho y 0.5 a 5 μm de largo. Gram-Negativos. Tienen apariencia de S, o forma de ala de gaviota. No forman esporas. En cultivos viejos las células forman cuerpos cocoides o esféricos. Poseen un flagelo polar en uno o en ambos extremos y muestran movilidad lineal rápida o en sacacorchos. Sus flagelos pueden ser 2 o 3 veces más largos que la longitud de las células. microaerofílicos con metabolismo de tipo respiratorio (25). Puede cultivarse en atmósfera de 10% de dióxido de carbono y 90% de hidrógeno o aire. Quimioorganotróficos. No fermentan ni oxidan los carbohidratos. Oxidasa y catalasa positivos. El contenido de G + C de su DNA es 31 ml %. Los medios selectivos en los que se cultiva Campylobacter deben incubarse a 42-43°C (45).
- Patogénesis.- Poco se sabe acerca de los mecanismos patogénicos de C. jejuni. La presencia de sangre y leucocitos en las heces de personas infectadas indican que C. jejuni puede ser invasivo; sin embargo, también puede ocurrir una forma de diarrea secretoria, especialmente en niños, que sugiere la intervención de una enterotoxina (25). Ruíz-Palacios y col. (41) han reportado que C. jejuni produce una enterotoxina semejante a la del cólera.
- Características clínicas y epidemiológicas.- Aunque desde 1954 se sospechaba que C. jejuni era causa de enteritis en humanos, fué hasta 1972 - en Bélgica, que se mostró por vez primera como una causa común de ésta. Desde entonces, investigadores en Australia, Canadá, Noruega, Suecia, Reino Unido y Estados Unidos han reportado su aislamiento en 5-14% de los casos de diarrea y menos del 1% de personas asintomáticas. Estudios realizados en países en desarrollo sugieren que la infección por C. jejuni es muy común, y puede inclusive tener mayor importancia como causa de diarrea que en los países industrializados. En humanos la enfermedad ocurre generalmente como diarrea (en ocasiones con sangre en las heces), dolor abdominal, fiebre, náusea y ocasionalmente, vómito. Su período de incubación en la mayoría de los casos tiene un promedio de 3 a 5 días, con un rango de 1.5 a 7, o aún 10 días. Las heces disintéricas caracterizadas por la presencia de moco y sangre aparecen después de 1 ó 2 días. La mayoría de las muestras examinadas microscópicamente contienen leucocitos polimorfonucleares. La mayoría de los casos de enteritis por C. jejuni no requieren hospitalización. El microorganismo ha

sido aislado de heces de pacientes con enteritis no tratados con antibióticos 2 a 7 semanas después de haber padecido la enfermedad. Sin embargo, en casos leves el organismo se excreta sólo durante unos cuantos días. Existe evidencia de que la enteritis por C. jejuni es un zoonosis con una amplia distribución mundial, a pesar de lo cual no ha sido posible comprender completamente la relación entre la infección animal y la humana. Campylobacter se encuentra en el intestino de muchas especies animales, particularmente aves, en las cuales se ha visto es un comensal. El pollo constituye probablemente el principal reservorio potencial de la infección por C. jejuni. En 1979 ocurrió un brote en el Reino Unido en el que se incriminó a la leche, supuestamente pasteurizada, como el vehículo de infección. Se supuso que el organismo se introdujo a la leche por contaminación fecal de los bovinos. Los perros que padecen de enteritis por este organismo constituyen también una fuente de infección (52). El organismo puede ser excretado en las heces de animales domésticos sanos. Estudios con pollos, pavos y ganado han mostrado que más del 50% de estos animales excretan C. jejuni. El organismo ha podido aislarse también con elevada frecuencia del agua (45).

Aeromonas spp.

- Taxonomía.- Se clasifica en la sección 5 del Manual de Bergey (19) como el género III de la familia II Vibrionaceae. El género comprende 4 especies: A. hydrophila, A. caviae, A. sobria y A. salmonicida. Esta última cuenta además con 3 subespecies, a saber: A. salmonicida subsp. salmonicida, A. salmonicida subsp. achromogenes y A. salmonicida subsp. masoucida.
- Diagnosis.- Bacilos rectos Gram-Negativos con extremos redondeados o cócoides, de 0.3 a 1.0 μ m de diámetro y 1.0 a 3.5 μ m de largo. Se les encuentra aisladas, en pares o formando cadenas cortas, móviles por un solo flagelo polar. Anaerobios facultativos. En cultivos de 2 a 4 horas pueden presentar flagelos laterales. La flagelación lofótrica es excepcional. Nutrición quimioorganotrófica. Producen oxidasa y catalasa. Fermentan la glucosa con producción de ácido y gas. Reducen nitratos a nitritos. Producen gran número de exoenzimas v.gr amilasa, DNasa, lipasa, fosfatasa, etc. Su rango de temperatura de desarrollo oscila entre 10 y 41°C. Algunas cepas son bioquímicamente más activas a 22°C que a 37°C. Crecen en caldo nutritivo con NaCl al 3.5% pero no al 6.5%. Sobre el agar sangre la mayoría de las cepas muestran una amplia zona de beta hemólisis. Pocas cepas fermentan lactosa en medios de aislamiento entericos. El contenido de G + C de su DNA va de 57 a 63 mol % (10).
- Patogénesis.- Se ha encontrado que las cepas de Aeromonas spp. asociadas con enfermedades diarreicas en humanos producen alguna enterotoxina. A. hydrophila la especie que con mayor frecuencia se relaciona como causa de diarrea en humanos produce una enterotoxina termolábil que se neutraliza con antitoxina de cólera y da reacción positiva en asa ileal de conejo y células suprarrenales (3).
- Características clínicas y epidemiológicas.- Las Aeromonas tienen una distribución cosmopolita. Se les encuentra en agua dulce, salobre y en aguas residuales en densidades que van de una a varios miles de células por milímetro. Se han encontrado en valores de pH de 5.2 a 9.8 y a -

temperaturas de 4 a 45°C. Se han aislado también de suelo y alimentos (10).

Las infecciones humanas con Aeromonas spp. ocurren principalmente de mayo a noviembre, probablemente debido al origen acuático de la bacteria. Se han descrito 4 categorías de infecciones: 1) Celulitis o infección de heridas por exposición a agua o suelo; 2) Diarrea aguda de corta duración, algunas veces sanguiñolenta y coleriforme extendida en el mundo y que ataca cualquier grupo de edad pero que prevalece principalmente en pacientes que presentan diarrea del viajero y en menores de 5 años; 3) Septicemia asociada a enfermedades hepatobiliares, pancreáticas o malignas, en particular leucemia aguda; 4) Otras infecciones, v. gr. infecciones postoperatorias, casos raros de infecciones del tracto urinario, meningitis, peritonitis, endocarditis y otitis (10).

Tanto humanos como animales pueden ser portadores del germen. En Australia las tasas de portador van de 2 a 3 % (3). Un estudio reciente realizado en Tailandia mostró tasas de portador de 8 a 16% en niños y 27% en adultos (35). Aeromonas spp. puede producir varias sustancias tóxicas y al menos una enterotoxina citotónica y termolábil (10). No se ha establecido claramente si es capaz también de producir una enterotoxina termoestable, puesto que las pruebas positivas del ratón lactante pueden deberse a la acción de la beta hemolisina (3).

III. ANTECEDENTES

A partir de que se determinó que C. jejuni, Y. enterocolítica y Aeromonas spp. son causa de diarrea aguda (46, 38, 50) el número de estudios que incluyen la metodología necesaria para su aislamiento se ha incrementado notablemente, lo anterior aunado a estudios con otras bacterias, ha confirmado que la etiología bacteriana en este tipo de padecimientos no se restringe exclusivamente a especies de Salmonella y Shigella.

Por otro lado, se sabe que los agentes causantes de diarrea, por lo menos en infantes, parecen ser los mismos en todas las áreas geográficas (54). Sin embargo, se ha visto que los factores culturales y ecológicos dentro de una región particular originan variaciones en su frecuencia y prevalencia, por ejemplo, entre varias bacterias investigadas en un estudio efectuado en Australia con un grupo de niños nativos (3), mostró la mayor frecuencia de aislamiento para especies de Aeromonas enterotoxigénicas (10.8%), en cambio uno realizado en comunidades rurales del sur de la India (16) mostró una mayor frecuencia para especies de Shigella, y otro más realizado en Suecia (48) con niños, pacientes de un hospital, determinó una mayor frecuencia para C. jejuni/coli (6.9%).

En América Latina sólo algunos estudios sobre diarrea aguda incluyen la metodología necesaria para el diagnóstico de laboratorio de estos "nuevos patógenos". La mayoría de ellos se han limitado a la búsqueda de especies de Salmonella y de Shigella, y solamente unos cuantos han incluido la búsqueda de C. jejuni y de Y. enterocolítica (22, 9).

Hasta antes de 1980, los estudios hechos en México se habían concretado a determinar la frecuencia de aislamiento de los agentes enteropatógenos tradicionales (27, 7). Sin embargo, estudios posteriores (24, 28) han podido establecer que la frecuencia de C. jejuni puede superar la de especies de Salmonella y Shigella y que ocasionalmente es posible aislar Y. enterocolítica (Cuadro 2). Los estudios sobre Aeromonas spp. son incipientes, y por tanto, aún no es posible precisar su papel en la etiología de la diarrea aguda en México.

Cabe señalar que los estudios tendientes a conocer la etiología de la diarrea aguda realizados hasta ahora en el país han considerado exclusivamente población urbana. Es por ello que consideramos necesario realizar este tipo de estudio en una área rural.

Cuadro 2. Algunos estudios en la Ciudad de México sobre la etiología de la diarrea aguda (*).

Autor:	Morales y col.	Muñoz y col.	Pedroza, B.
Fecha:	Dic 80-Jun 81	Ene 76-Sep 77	Dic 80-Jun 81
No. de Pacientes	256	343	240
Edad:	2 años	2 años	2 años

Bacterias	Morales y col.		Muñoz y col.		Pedroza, B.	
Enteropatógenas	No.	%	No.	%	No.	%
<u>Salmonella</u> spp.	15	5.9	33	10.0	15	5.9
<u>Shigella</u> spp.	24	9.4	42	12.2	24	9.4
<u>Aeromonas</u> spp.	-	-	-	-	-	-
<u>Y. enterocolítica</u>	8	3.1	-	-	-	0.0
C. jejuni	25	9.8	-	-	28	10.9

(*) Incluidas únicamente bacterias.

IV. OBJETIVOS

1. Determinar la frecuencia de aislamiento de C. jejuni, Y. enterocolitica, Aeromonas spp., y especies de Salmonella y Shigella en individuos con diarrea y sin diarrea de una comunidad rural.

2. Determinar la tasa de ataque secundario (diseminación intrafamiliar) para cada uno de estos agentes causantes de diarrea aguda.

V. DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO

Cadereyta con una extensión de 1,131 Km. es uno de los municipios más extensos del Estado de Querétaro. Colinda al norte con los municipios de Peña Miller y San Joaquín, al oeste con los de Ezequiel Montes y Tolimán y al sureste con el Estado de Hidalgo. El municipio se caracteriza por la escasez de agua. La carretera San Juan del Río Xilitla y la carretera Querétaro-Higuerillas constituyen las principales vías de comunicación (42).

- Características de la población.- Cadereyta cuenta con una población de 37,522 habitantes (50% de ellos menores de 15 años) con un promedio de 5 a 6 individuos por familia y una tasa de alfabetismo del 80.9%. - El 75% de la población económicamente activa se dedica a la agricultura. Desde el punto de vista sanitario, la comunidad puede dividirse en 2 áreas más o menos definidas; el centro en el que un 96.3% de las viviendas cuentan con agua intradomiciliaria y un 81.0% con drenaje y/o fosa séptica y la periferia en la que un 94.8% de las viviendas cuentan con agua intradomiciliaria, y un 95.6% de fecalismo (42).

VI. MATERIAL Y METODOS

1. Selección de casos.

Se analizaron 433 muestras de pacientes que asistieron a los servicios de consulta y hospitalización de la Clínica-Hospital IMSS-COPLA MAR con diagnóstico de diarrea aguda, con tiempo de evolución menor a 5 días, y que no recibieron tratamiento antimicrobiano durante ese lapso. Asimismo, se analizaron 1,264 muestras de materia fecal de miembros de las familias de los casos índice. Cuando los casos índice fueron primarios o coprimarios, se pidió una primera muestra de materia fecal a cada miembro de la familia en los 3 a 5 días siguientes y una segunda muestra una semana después. Cuando se trató de un caso secundario, se pidió solamente una muestra de materia fecal a cada miembro de la familia simultáneamente con la del caso índice.

2. Coprocultivo.

2.1 Salmonella y Shigella (Esquema 1).

2.1.1 Aislamiento. Con un hisopo se sembró la muestra en placas con agar de MacConkey, agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD), agar Tergitol-7, agar Salmonella-Shigella (SS), agar entérico de Hektoen (HE). Las placas se estiraron para aislamiento y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Las colonias sospechosas se seleccionaron en base a su incapacidad para fermentar lactosa (17, 18).

2.1.2 Enriquecimiento y subcultivo. Se inocularon los caldos Se lenito y Tetrationato. Se incubaron a 37°C durante 18 horas y se subcultivaron en placas de agar XLD, agar SS, agar verde brillante y agar sulfito de bismuto (18).

2.1.3 Identificación Bioquímica. Las colonias sospechosas se inocularon en los siguientes medios diferenciales: agar de hierro Kligler, agar citrato de Simmons, agar fenilalanina, agar de hierro y lisina (LIA), medio para determinación de movilidad-indol-ornitina (MIO), caldo rojo de fenol y manitol, caldo rojo de metilo Voges-Proskauer (MR-VP) y caldo malonato. La incubación se hizo a 37°C durante 24 horas. La lectura de las pruebas se realizó de acuerdo a manuales especializados (8, 21). Los resultados de las pruebas se compararon con el comportamiento bioquímico de especies de Salmonella y Shigella presentado en tablas de identificación para enterobacterias (6, 17).

2.1.4 Identificación serológica. La identificación serológica de colonias de Salmonella y Shigella confirmadas previamente mediante pruebas bioquímicas se hizo de acuerdo al método descrito por Edwards y Ewing (6), mediante el uso de antisueros específicos (Difco).

2.1.5 Conservación de cepas. Se utilizaron los siguientes métodos:

a) Conservación en gelosa especial. De un cultivo puro en

agar tripticasa soya (TSA) se tomó una asada y se inocularon viales de 3 ml de tapón de rosca por cada cepa. Estos se incubaron a 37°C durante 18 horas, almacenándose posteriormente a 4°C.

b) Conservación en bolsas de polietileno. De un cultivo puro en TSA se tomó una asada y se preparó una suspensión en 2 ml de caldo infusión de cerebro y corazón adicionado con glicerol al 17%. Mediante pipetas Pasteur se impregnaron trocitos de papel filtro contenidos en bolsas de polietileno de 6 X 10 mm. Las bolsas rotuladas se sellaron con calor y se guardaron a -70°C.

2.2 Y. enterocolítica (Esquema 1).

2.2.1 Aislamiento. La siembra directa para el aislamiento inicial se realizó en placas de agar MacConkey y de agar SS. La incubación se hizo a 25°C. Se seleccionaron como sospechosos aquellas colonias que después de 24 horas presentaron apariencia puntiforme y no fermentaron lactosa (11).

2.2.2 Enriquecimiento y subcultivo. Con un hisopo se inoculó la muestra en tubos con caldo PBS. El cultivo se sometió a enriquecimiento en frío durante un mes. Después de 7, 14 y 30 días se realizaron resiembras en placas de agar SS-ampicilina (5 ug/ml). Las placas se incubaron a 25°C durante 24 a 48 horas. Debido a que el trigésimo día el resultado de la resiembra siguió siendo negativo, se transfirió 1 ml de caldo PBS a tubos que contenían 5 ml de caldo PSTA. La incubación se hizo a 28°C durante 48 horas y se realizó una última resiembra en placas de agar SS-ampicilina (11, 47).

2.2.3 Identificación Bioquímica. Las colonias sospechosas se inocularon en los siguientes medios diferenciales: agar de hierro Kligler, agar citrato de Simmons, agar fenilalanina, LIA, medio MIO (por duplicado), caldo MR-VP, caldo malonato y caldo urea. La incubación se hizo a 37°C durante 24 horas. Uno de los tubos de medio MIO se incubó a temperatura ambiente (11). Los resultados de las pruebas se compararon con el comportamiento bioquímico de Y. enterocolítica presentado en tablas de identificación (11, 17).

2.3 Aeromonas spp. (Esquema 2).

2.3.1 Aislamiento. La muestra se sembró simultáneamente en placas de gelosa sangre-ampicilina 20 ug/ml (14, 36, 39) y en placas de agar XDCA (23, 39). La incubación se hizo a 37°C durante 24 horas. Las colonias sospechosas en el medio de gelosa sangre-ampicilina beta hemolíticas y no hemolíticas, se examinaron para determinar la actividad citocromo oxidasa por la técnica directa en placa utilizando reactivo de Kovacs (14, 39). Se procedió del mismo modo con las colonias no fermentadoras de xilosa que crecieron en las placas de XDCA. Las colonias sospechosas que desarrollaron en medios de aislamiento entéricos se resembraron en placas de -

TSA antes de someterse a la prueba de oxidasa, ya que se ha visto que la acidez producida en estos medios por la flora bacteriana puede alterar el resultado normal de la prueba (13).

2.3.2 Identificación Bioquímica. Las colonias que resultaron positivas para la actividad citocromo oxidasa se inocularon en los siguientes medios diferenciales: agar de hierro - Kligler, agar citrato de Simmons, agar fenilalanina, LIA, medio MIO, caldo MR-VP, caldo base rojo de fenol y manitol, caldo malonato y caldo BHI con NaCl al 3.5 y 6.5%. Los resultados de las pruebas se compararon con el comportamiento bioquímico de Aeromonas spp. presentado en tablas de identificación (36, 10).

2.4 C. jejuni (Esquema 2)

2.4.1 Aislamiento. La muestra se sembró de manera simultánea en 2 medios selectivos: Campy-BAP y Campy-HEM (con hemoglobina en lugar de sangre). Las placas se colocaron en jarras Gas-Pak (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, Md) sin catalizador a las que se les extrajo un 10% de aire que fué reemplazado con una cantidad igual de CO₂ (15, 25, 45), se incubaron a 42°C y se examinaron después de 24, 48 y 72 horas en busca de colonias sospechosas que presentarían cualquiera de las 2 siguientes formas: 1) Planas, extendidas de apariencia acuosa y de bordes irregulares, o 2) redondas, convexas y con bordes enteros (25, 15).

2.4.2 Identificación Presuntiva. A partir de una colonia sospechosa se realizaron 2 tipos de preparaciones para observar al microscopio; una en fresco y otra teñida con una solución acuosa de fucsina básica al 1% (32). La primera se observó mediante microscopía de contraste de fases en busca de bacterias espiraladas con movilidad de sacacorchos (25, 45). La segunda se observó por microscopía ordinaria con el objetivo de inmersión en busca de bacterias con morfología semejante a alas de gaviota, S, o varilla curvada (32).

2.4.3 Identificación final. Desarrollo a 42°C, resistencia a la cefalotina, sensibilidad al ácido nalidíxico y capacidad de hidrólisis de hipurato (25, 45).

2.4.4 Medio de Transporte. Con un hisopo se inoculó la muestra en tubos que contenían Campy-Thio (49). De este modo las muestras pudieron almacenarse a 4°C 24 a 72 horas antes de ser transportadas para su procesamiento.

2.4.5 Conservación de cepas. Se emplearon los siguientes métodos:

a) Conservación en bolsas de polietileno. Se procedió del mismo modo empleado para Salmonella y Shigella.

b) Conservación en medio de huevo (EM). Con un hisopo estéril se tomó un inóculo grueso de un cultivo puro de C.

jejuni obtenido de una placa de gelosa sangre, y se suspendió en la fase líquida de un tubo que contenía medio EM. - La conservación se hizo a 4°C (1). La fase líquida del medio EM consistió de caldo Tioglicolato suplementado con sulfato ferroso, metabisulfito de sodio y piruvato de sodio (13, 40).

VII. RESULTADOS

El cultivo de las muestras de los 1,697 individuos de que constó la población estudiada (433 con diarrea y 1,264 contactos asintomáticos) resultó en 88 aislamientos de las bacterias investigadas, 39 (44.3%) de individuos con diarrea y 49 (55.7%) de individuos sin diarrea. Del total de aislamientos 44 (50.0%) fueron C. jejuni, 33 (37.5%) Salmonella spp., 9 (10.2%) Shigella flexneri y 2 (2.3%) Aeromonas spp. No se aisló Y. enterocolitica.

En individuos con diarrea la mayor frecuencia de aislamiento correspondió a C. jejuni con 4.2% seguida por Salmonella spp. con 3.5%, Shigella flexneri con 1.2% y Aeromonas spp. con 0.2%. En individuos sin diarrea se obtuvieron las siguientes frecuencias: C. jejuni 2.0%, Salmonella spp. 1.4%, Shigella flexneri 0.3% y Aeromonas spp. 0.1% (Tabla 1). - No se detectó diseminación intrafamiliar.

El análisis de la distribución estacional de las bacterias aisladas reveló que C. jejuni se aisló 2 ocasiones en primavera, 26 en verano, 2 en otoño y 4 en invierno. Salmonella spp. se aisló 13 ocasiones en primavera, 18 en verano, 2 en otoño y ninguna vez en invierno. Shigella flexneri se aisló 3 ocasiones en primavera, 3 en verano, 3 en otoño y ninguna vez en invierno. Aeromonas spp. sólo se aisló una ocasión en primavera y otra en otoño (Fig. 1).

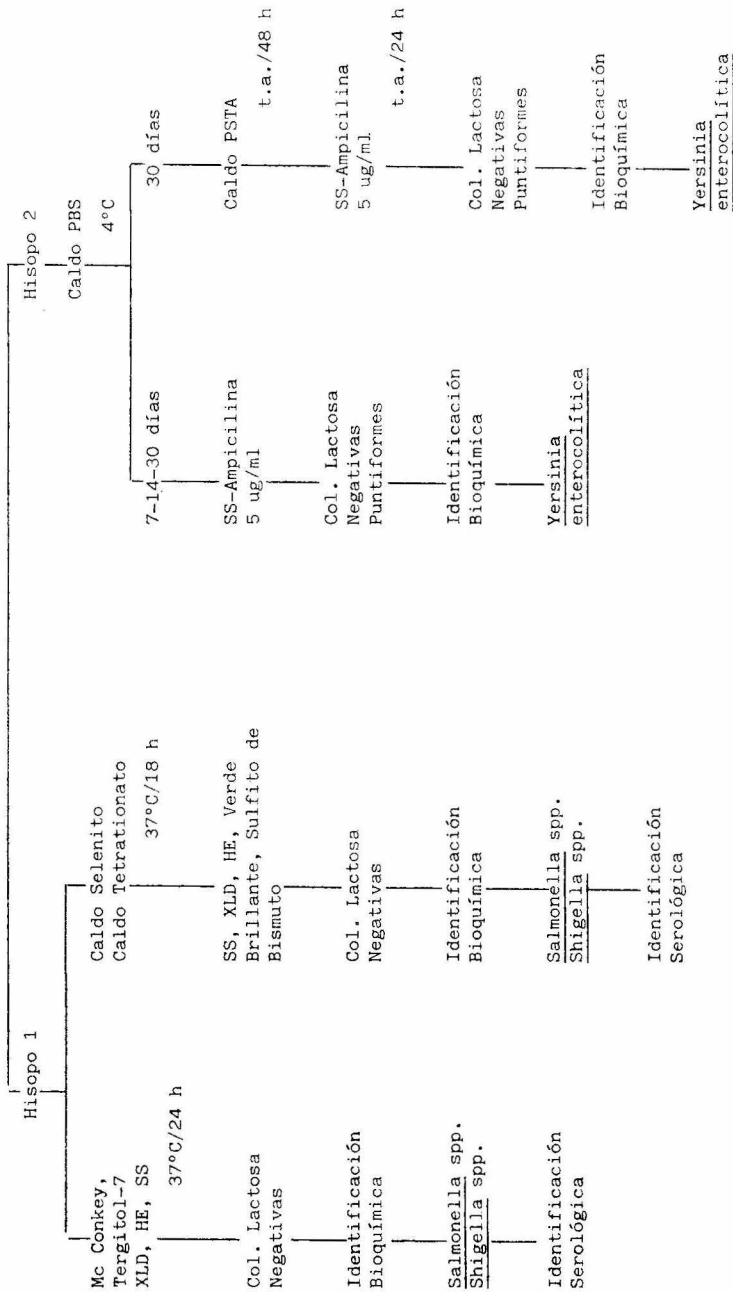
De las 37 familias con al menos un aislamiento bacteriano, 64.8% tenía perros, 37.8% gatos, 37.8% aves de corral, 40.5% cerdos. 13.5% bovinos y 13.5% cabras.

El examen de la distribución global de los aislamientos con respecto a la edad en individuos con diarrea y en asintomáticos, mostró que en los primeros el 79.4% ocurrió en menores de 5 años, correspondiendo de éste 46.1% a menores de 1 año. En contraste, en individuos asintomáticos el 79.6% de los aislamientos ocurrió en mayores de 5 años (Tabla 2).

El análisis estadístico (Chi cuadrada con corrección de Yates) reveló una diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre los individuos con diarrea y con aislamiento con respecto a los individuos sin diarrea y con aislamiento (Tabla 3).

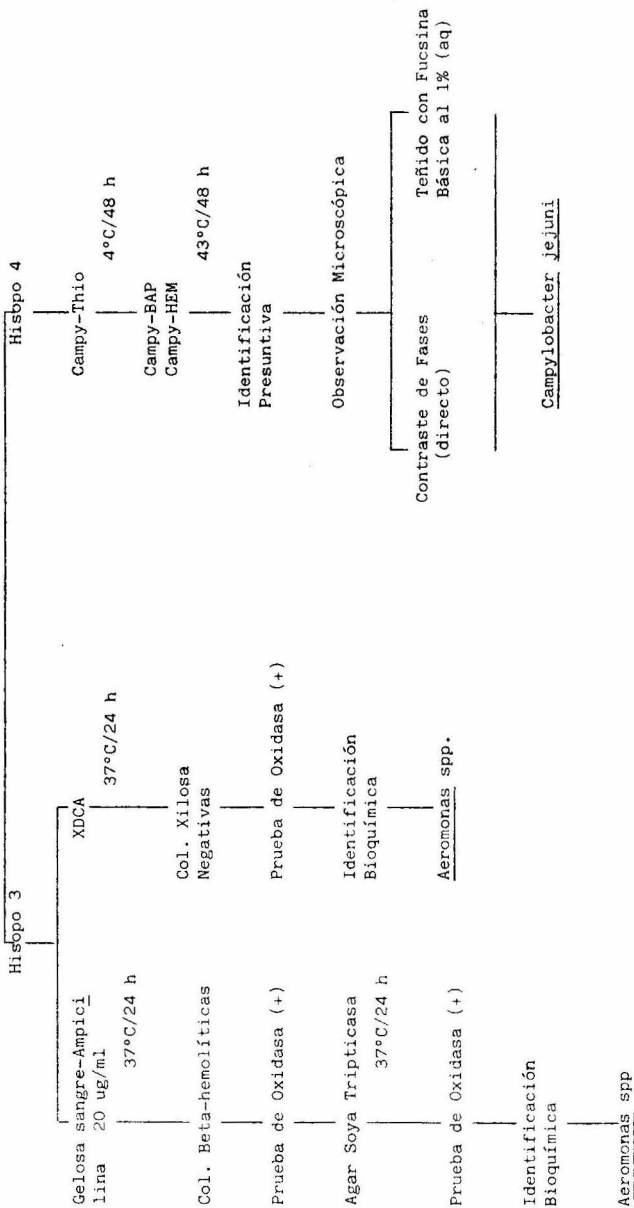
En individuos con diarrea de 18 aislamientos que se lograron de C. jejuni, 15 (83.3%) ocurrieron en menores de 2 años; Salmonella spp. que después de C. jejuni fué la bacteria que se aisló con mayor frecuencia, de aislamientos 9 (60.0%) ocurrieron en menores de 1 año. En individuos asintomáticos de 26 aislamientos de C. jejuni 19 (73.1%) ocurrieron en mayores de 5 años, y de modo similar para Salmonella spp. que de 18 aislamientos 15 (83.3%) ocurrieron también en mayores de 5 años.

M U E S T R A



Esquema 1. Procesamiento de muestras para el aislamiento de Salmonella spp., Shigella spp. y de Yersinia enterocolitica.

M U E S T R A



Esquema 2. Procesamiento de muestras para el aislamiento de Aeromonas spp. y Campylobacter jejuni.

Las principales características clínicas de la diarrea por C. jejuni fueron la fiebre (56.2%) y el vómito (43.7%). Para Salmonella spp. el vómito (36.4%) (Tabla 4). El único caso con aislamiento de Aeromonas spp. presentó diarrea con una duración de 3 días, con un promedio de 4 evacuaciones diarias además de fiebre y vómito. Cabe señalar que se encontraron 6 infecciones mixtas: 2 C. jejuni - Salmonella, 3 C. jejuni - Rotavirus y 1 Salmonella - Rotavirus.

VIII. DISCUSION

De las bacterias enteropatógenas que se investigaron, Y. enterocolítica fué la única que no se aisló de ninguna de las muestras analizadas. Consideramos que ello pudo deberse al hecho de que otras bacterias gram-Negativas por ser antagónicas al crecimiento de Y. enterocolítica (44) impidieron su desarrollo, o bien simplemente ninguna muestra contenía al organismo. Este hallazgo contrasta con la frecuencia del 3.1% encontrada por Morales y col. en un estudio realizado con niños en la Ciudad de México (24), pero coincide con lo reportado por Pedroza en un estudio similar (33).

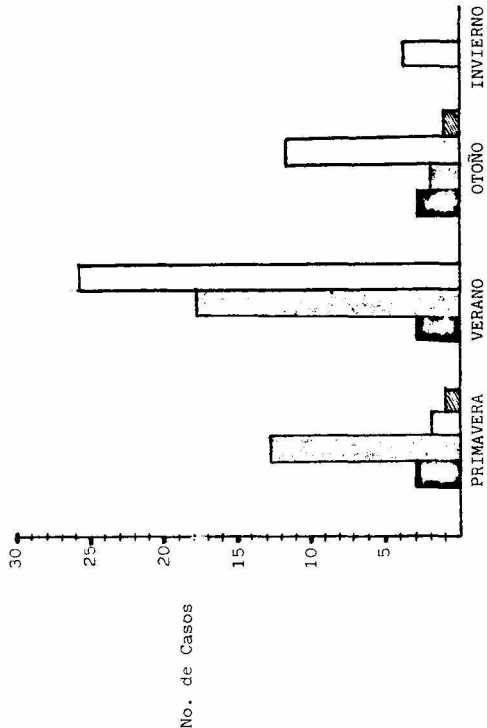
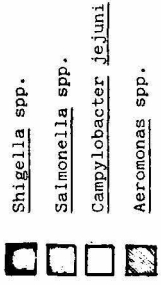
Las frecuencias de aislamiento de especies de Salmonella y de Shigella resultaron inferiores a las reportadas por Morales y col., Muñoz y col. y Pedroza en estudios previos realizados en la Ciudad de México (24, 27, 33). Asimismo, la frecuencia de aislamiento de C. jejuni fué menor a la encontrada por Morales y col. y Muñoz y col. (24, 28).

Consideramos que dos aspectos que pudieron haber influido en el hecho de que las frecuencias de aislamiento de este estudio fueran más bajas que las de los estudios efectuados en la Ciudad de México fueron: - que aquéllos consideraron exclusivamente población infantil, en tanto - que éste tomó en cuenta además a los contactos intrafamiliares sin hacer distinción de la edad, y que el manejo que se hizo de las muestras no - siempre estuvo bajo nuestro control, ya que con excepción de la muestra del caso índice que se procesaba de inmediato, las muestras de los contactos intrafamiliares tenían que ser colectadas y casi siempre transportadas al laboratorio del hospital rural por algún miembro de la familia estudiada, lo cual nos planteó algunas dudas sobre la calidad de toma de esas muestras.

Cualquier trabajo que pretenda determinar tasas de ataque requiere que el grupo por analizar este completo, en nuestro caso particular las familias, ya que de no ser así, las posibilidades de obtener resultados satisfactorios se ven disminuidas. En la población estudiada por diversas causas no se pudo lograr que todas las familias estudiadas cumplieran este requisito. Las principales causas fueron: la ausencia de uno o varios familiares al momento de la toma de la muestra y, en algunos - casos, la falta de cooperación por parte de algunas familias. A lo anterior hay que agregar que el mayor número de aislamientos se obtuvo de familias incompletas o de casos aislados, lo cual sin duda pudo afectar nuestros resultados.

La mayor frecuencia de aislamiento de C. jejuni en individuos con diarrea, como se esperaba, ocurrió en niños menores de 5 años. La frecuencia de portadores de C. jejuni encontrada en este trabajo (2%) -

FIG. 1. DISTRIBUCION ESTACIONAL DE LOS AISLAMIENTO DE BACTERIAS ENTEROPATOGENAS DE UNA COMUNIDAD RURAL DEL ALTIPLANO MEXICANO (CADEREYTA, QRO. 1983-1985).



La figura muestra que el mayor número de aislamientos ocurrió en verano, correspondiendo la mayoría de estos a C. jejuni y a Salmonella spp. Sólo C. jejuni se aisló en todas las estaciones. Los únicos 2 aislamientos de Aeromonas spp. ocurrieron en primavera y verano respectivamente.

TABLA 1. Frecuencia de aislamiento de bacterias enteropatógenas en individuos con diarrea y sin diarrea de una comunidad rural del altiplano mexicano (Cadereyta, Qro. 1983 - 1985).

Bacteria	Individuos con diarrea (N=433)		Individuos sin diarrea (N=1264)	
	Aislamientos	Frecuencia %	Aislamientos	Frecuencia %
<i>Salmonella</i> spp.	15	3.5	18	1.4
<i>Shigella</i> spp.	5	1.2	4	0.3
<i>C. jejuni</i>	18	4.2	26	2.0
<i>Aeromonas</i> spp.	1	0.2	1	0.1
Sin aislamiento bacteriano	394	-	1,215	-
T O T A L		9.1		3.8

TABLA 2. Distribución por edad de 88 individuos con diarrea y sin diarrea a quienes se les aislaron bacterias enteropatógenas en una comunidad rural del altiplano mexicano (Cadereyta, Qro. 1983 - 1985)

Grupo de edad (*)	Individuos con diarrea		Individuos sin diarrea	
	Número	(%)	Número	(%)
0 - 11 meses	18	(46.1)	1	(2.0)
12 - 23 meses	9	(23.0)	3	(6.1)
2 - 4 años	4	(10.3)	6	(12.3)
5 - 14 años	4	(10.3)	20	(40.8)
15 años	4	(10.3)	19	(38.8)
T O T A L	39	100.0	49	100.0

(*) Criterio pediátrico.

TABLA 3. Análisis estadístico (Chi cuadrada con corrección de Yates) de la relación de individuos con diarrea y sin diarrea con respecto al aislamiento de las bacterias enteropatógenas investigadas.

Individuos	Aislamiento bacteriano		Total
	Con	Sin	
Sintomáticos	39	394	433
Asintomáticos	49	1,215	1,264
T o t a l	88	1,609	1,697 = N

De la tabla de contingencia de 2 X 2 tenemos que:

$$X^2 = \frac{N((a d - b c) - n/2)^2}{(a+c) (b+d) (a+b) (c+d)}$$

$$\text{Sustituyendo } X^2 = \frac{1,697 \left(\frac{(39)(1,215) - (394)(49) - (1,697/2)^2}{(88)(1,609)(433)(1,264)} \right)^2}{7.5^{10}}$$

$$X^2 = \frac{1,697 (28,079 - 848.5)^2}{7.5^{10}}$$

$$X^2 = 16.23$$

X^2 con valores corregidos de Yates = 10.83 < X^2 calculada = 16.23

Con 1 grado de libertad

p < 0.001

TABLA 4. Principales características clínicas de las diarreas por C. jejuni (16 casos)
Salmonella spp. (11 casos) y Shigella spp. (4 casos)
 (Cadereyta, Qro. 1983 - 1985).

Datos Clínicos	<u>C. jejuni</u>		<u>Salmonella spp.</u>		<u>Shigella spp.</u>	
	Número de Casos	%	Número de Casos	%	Número de Casos	(%)
Evacuaciones con sangre	3	(18.7)	1	(9.1)	-	-
Disenteria	5	(31.2)	2	(18.2)	-	-
Fiebre	9	(56.2)	1	(9.1)	-	-
Vómito	7	(43.7)	4	(36.4)	-	-
Duración (días)	4.4		5.6		1.5	
Valores extremos	17 - 1		15 - 1		4 - 1	
Número de evacuaciones/24 h	5.6		5.7		1.5	

resultó mayor a la frecuencia reportada para este enteropatógeno (1%) en una publicación de la Organización Mundial de la Salud (52).

La mayor frecuencia de aislamiento de C. jejuni y de Salmonella spp. con respecto a las otras bacterias investigadas, podría explicarse por el hecho de que la mayoría de las familias (31/37) tuvieran animales, ya que se sabe que la enteritis causada por ambos patógenos es una zoonosis que puede transmitirse al hombre por aves, perros, bovinos y, en general, por casi cualquier animal de tipo doméstico (52, 53).

El hallazgo de C. jejuni, Aeromonas spp. y de especies de Salmonella y de Shigella en individuos asintomáticos concuerda con lo reportado por Pickering y col., Burke y col. y Prassana y col. de estudios realizados en Estados Unidos, Australia y la India respectivamente (34, 3, 37). Es importante señalar que el estado de portador representa un importante foco de infección para la población susceptible, principalmente la formada por los niños menores de 5 años.

IX. CONCLUSIONES

A diferencia de los resultados obtenidos en estudios realizados en la Ciudad de México, en los que C. jejuni ocupó un lugar secundario entre los principales agentes bacterianos causantes de diarrea, los resultados de este trabajo mostraron a C. jejuni como el principal agente bacteriano causante de la enfermedad. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que este trabajo no incluyó la búsqueda de E. coli en sus distintas formas de patogenicidad, la cual probablemente tiene aún mayor importancia como causa de diarrea que C. jejuni.

De acuerdo con los resultados, Aeromonas spp. tiene poca importancia en la etiología de la diarrea aguda en esta comunidad, en tanto que Y. enterocolítica aparentemente no tiene ninguna importancia.

El hecho de que no se haya detectado diseminación intrafamiliar de ninguna de las bacterias que se investigaron, indica que este no fué el modo más común de diseminación, y que tal vez alguna fuente común como agua o alimentos contaminados tuvo mayor importancia.

Creemos que es necesaria la realización de un mayor número de estudios en el área rural que incluyan la búsqueda de estos patógenos para comprender la importancia de cada uno de ellos en la etiología y epidemiología de la diarrea aguda en estas zonas que en general son poco estudiadas.

Los resultados de este trabajo deben considerarse como preliminares para futuros estudios en el área rural que incluyan la búsqueda de C. jejuni, Salmonella spp., Shigella spp., Aeromonas spp. y Y. enterocolítica.

BIBLIOGRAFIA

1. Balakrish, N.G., Chowdhury, S., Das, P., Pal, S.C. 1984. Improved - Preservation Medium for Campylobacter jejuni. J Clin Microbiol. 19:298-299.
2. Bolton, F.J., Coates, D., Hinchliffe, P.M., Robertson, L. 1983. Comparison of Selective Media for Isolation of Campylobacter jejuni/coli. J Clin Pathol. 36:78-83.
3. Burke, V., Gracey, M., Robinson, J., Peck, D., Beaman, J., Bundell, - C. 1983. The Microbiology of Childhood Gastroenteritis: Aeromonas species and other Infective Agents. J Infect Dis. 148:68-74.
4. Burke, V., Robinson, J., Berry, R.J., Gracey, M. 1981. Detection of Enterotoxins of Aeromonas hydrophila by a suckling-mouse Test. - J Med Microbiol. 14:401-408.
5. Chou, S.P., Dular, R., Kasatiya, S. 1983. Effect of Ferrous Sulfate, Sodium Metabisulfite, and Sodium Pyruvate on Survival of Campylobacter jejuni. J Clin Microbiol. 18:986-987.
6. Edwards, P.R., Ewing, W.A. 1972. Identification of Enterobacteriaceae. 3a Burges Publishing Co. E.U.A.
7. Evans, D.G., Olarte, J., Dupont, H.L., Evans, D.J., Galindo, E., Portnoy, B.L., Conklin, R.H. 1977. Enteropathogens Associated with - Pediatric Diarrhea in Mexico City. J Pediatr. 91:65-68.
8. Ewing, W.H., Davis, B.R. 1973. Media and Test for Differentiation of Enterobacteriaceae. DHEW Publication. D.D.C., Atlanta. E.U.A. 22 Págs.
9. Gini, G.A., Torres, M.F. 1980. Primeros Aislamientos de Yersinia enterocolítica en Centro América. En: Universidad de San Carlos - (ed.) Serie Separatas Anuario. Vol. 26. Ed. Universitaria. Guatemala. Págs. 179-194.
10. Graevenitz, A.V. 1985. Aeromonas and Plesiomonas. En: Lennette, E. H., Balows, A., Hausler Jr. W.J., Shadomy, H.J. (ed.) Manual of Clinical Microbiology. 4a. American Society for Microbiology. - Washington, D.C., E.U.A. Págs. 278-281.
11. Hawkins, T.M., Brenner, D.J. 1978. Isolation and Identification of - Yersinia enterocolítica. C.D.C., Atlanta, E.U.A. 9 Págs.
12. Hoffman, P.S., Krieg, N.R., Smibert, R.M. 1979. Studies of the Microaerophilic Nature of Campylobacter fetus subsp. jejuni. Physiological Aspects of Enhanced Aerotolerance. Can J Microbiol. 25:1-7.
13. Hunt, L.K., Overman, T.L., Otero, R.B. 1981. Role of pH Oxidasa variability of Aeromonas hydrophila. J Clin Microbiol. 13:1054-1059.
14. Janda, J.M., Dixon, A., Raucher, B., Clark, R.B., Botton, E.J. 1984. Value of Blood Agar for Primary Plating and Clinical Implication of Simultaneous Isolation of Aeromonas hydrophila and Aeromonas caviae from a Patient with Gastroenteritis. J Clin Microbiol. - 20:1221-1222.
15. Janssen, D.J., Helstad, A.G. 1982. Isolation of Campylobacter fetus subsp. jejuni from Fecal Specimens by Incubation at 35 and 42°C. J Clin Microbiol. 16:398-399.

16. Kapadia, C.R., Bhat, P., Baker, S.J., Mathan, V.I. 1984. A common - Source Epidemic of Mixed Bacterial Diarrhea with Secondary Transmission. Am J Epidemiol. 120:743-749.
17. Kelly, M.T., Brenner, D.J., Farmer III, J.J. 1985. Enterobacteriaceae. En: Lennette, E.H., Balows, A., Hausler Jr., W.J., Shadomy, H.J. (ed.) Manual of Clinical Microbiology. 4a American Society for Microbiology. Washington, D.C., E.U.A. Págs. 263-277.
18. Koneman, E., Allen, S., Dowell, V., Sommers, H. 1983. Diagnóstico Microbiológico. Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Págs. - 152-159.
19. Krieg, N.R., Holt, J.G. (ed.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. The Williams & Wilkins Co. Baltimore, E.U.A. Págs. xxiii a xxvii.
20. Le, M.L. 1984. Genus III. Salmonella Lignieres 1900, 389. En: - Krieg, N.R., Holt, J.G. (ed.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. The Williams & Wilkins Co. Baltimore, E.U.A. Págs. 427-457.
21. MacFaddin, J.F. 1980. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Médica. Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
22. Mata, L., Bolaños, H., Pizarro, D., Vives, M. 1984. Cryptosporidiosis in Children from some highland Costa Rica Rural and Urban - Areas. Am J Med Trop Hyg. 33:24-29.
23. Millership, S.E., Chattopadhyay, B. 1984. Methods for the Isolation of Aeromonas hydrophila and Plesiomonas shigelloides from faeces. J Hyg Camb. 92:145-152.
24. Morales, M., García, P.M., Pedroza, J.L., D'Amico, A., Palacios, T., - Muños, O. 1984. Frecuencia de Campylobacter ss. jejuni y Yersinia enterocolitica en niños con diarrea aguda. Bol Med Hosp - Infant. 41:86-89.
25. Morris, G.K., Patton, C.M. Campylobacter. En: Lennette, E.H., - Balows, A., Hausler Jr., W.J., Shadomy, H.J. (ed.) Manual of Clinical Microbiology 4a. American Society for Microbiology. Washington, D.C., E.U.A. Págs. 278-281.
26. Mota, H.F. 1984. La hidratación oral en niños con diarrea. Sal Publ Méx. 26:9-30.
27. Muñoz, H.O., Coello, R.P., Serafín, A.F., Olarte, J., Pickering, L.K. Dupont, H., Gutiérrez, G. 1979. Gastroenteritis Infecciosa Aguda. Etiología y su correlación con las manifestaciones clínicas y el moco fecal. Arch Inv Méd 10:135-145.
28. Muñoz, H.O., D'Amico, M., Pedroza, J.L. Importancia de Campylobacter fetus ss. jejuni y Yersinia enterocolitica como causantes de diarrea en niños de la Ciudad de México (en prensa).
29. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana. Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. - 1982. Las Condiciones de Salud en las Américas 1977-1980. Publicación Científica No. 427. Washington, D.C., E.U.A. Págs. 101-105.
30. Ørskov, F., Ørskov, I. 1984. Enterobacteriaceas. En: Braude, A.I., Davis, Ch. E., Fierer, J. (ed.) Microbiología Clínica. Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Págs. 386-402.

31. Pai, Ch. H., Sorger, S., Lafleur, L., Lackman, L., Marks, M.I. 1979. Efficacy of Cold Enrichment Techniques for Recovery of Yersinia enterocolitica from Human Stools. J Clin Microbiol. 9:712-715.
32. Park, Ch. H., Hixon, D.L., Polhemus, A.S., Ferguson, C.B., Hall, S. L., Risheim, C.C. 1983. A Rapid Diagnosis of Campylobacter Enteritis by Direct Smear Examination. Am J Clin Pathol. 80:388-390.
33. Pedroza, B. 1981. Frecuencia de Campylobacter fetus subespecie jejuni y Yersinia enterocolitica como agentes causantes de diarrea aguda en niños de la Ciudad de México. Tesis para obtener el Título de Químico-Farmacéutico-Biólogo. 37 Págs.
34. Pickering, L.K., Dupont, H.L., Evans, D.G., Evans, D.J., Olarte, J. 1977. Isolation of Enteric Pathogens from Asymptomatic Students from United States and Latin America. J Infec Dis. 135:1003-1005.
35. Pitarangsi, Ch., Echeverría, P., Whitmire, R., Tirapat, Ch., Formal, S., Dammin, J., Tingtalapong, M. 1982. Enteropathogenicity of Aeromonas hydrophila and Plesiomonas shigelloides. Prevalence - Among Individuals with and without Diarrhea in Thailand. Infect Immun. 35:666-673.
36. Popoff, M. 1984. Genus III. Aeromonas Kluyver and Van Niel 1936, - 398. En: Krieg, N.R., Holt, G.J. (ed.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. The Williams & Wilkins Co. Baltimore, E.U.A.
37. Prassana, R.D., Mathan, V.I. 1982. Prevalence of Campylobacter fetus subsp. jejuni in Healthy Populations in Southern India. J Clin Microbiol. 15:749-751.
38. Retting, P.J. 1979. Campylobacter Infections in Human Being. J - Pediatr. 94:855-864.
39. Robinson, J., Burke, V., Worthy, P.J., Beaman, J., Wagener, L. 1984. Media for Isolation of Aeromonas spp. from Faeces. J Med Microbiol. 18:405-411.
40. Rowe, B., Gross, R.J. Genus II. Shigella Castellani and Chalmers - 1919, 936, 1984. En: Krieg, N.R., Holt, J.G. (ed.) Bergey's - Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. The Williams & Wilkins Co. Baltimore, E.U.A. Págs. 423-427.
41. Ruíz-Palacios, G.M., Torres, J., Torres, N.I., Escamilla, E., Ruíz-Palacios, B.R., Tamayo, J. 1983. Cholera-like enterotoxin produced by Campylobacter jejuni. Lancet. ii:250-253.
42. Secretaría de Programación y Presupuesto 1980. X Censo General de - Población y Vivienda 1980. Estado de Querétaro. Vol. 1. Tomo 22. México.
43. Sector Salud 1986. Información Estadística sobre Enfermedades Transmisibles. Boletín Mensual de Epidemiología. Enero. Vol. 1. - México. Pág. 8.
44. Shiemann, D.A., Olson, S.A. 1984. Antagonism by Gram-Negative Bacteria to Growth of Yersinia enterocolitica in Mixed Cultures. - Appl Environment Microbiol. 48:539-544.
45. Smibert, R.M. 1984. Genus Campylobacter Sebald and Veron 1963, 907. 1984. En: Krieg, N.R., Holt, J.G. (ed.) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. The Williams & Wilkins Co. Baltimore, W.U.A. Págs. 111-117.

46. Skirrow, M.B. 1977. Campylobacter Enteritis: A New Disease. Brit - Med J. 2:9-11.
47. Vidon, D.J., Delmas, C.L. 1981. Incidence of Yersinia enterocolitica in Raw Milk in Eastern France. Appl Environment Microbiol. 41: - 355-359.
48. Walder, M. 1982. Epidemiology of Campylobacter Enteritis. Scand J - Infec Dis. 14:27-33
49. Wang, W.L., Reller, L.B., Luechtefeld, N.W., Blaser, M.J. 1983. Evaluation of Transport Media for Campylobacter jejuni in Human Fecals Specimens. J Clin Microbiol. 18:803-807.
50. Wimblad, S., Niléhn, B., Sternby, N.H. 1966. Yersinia enterocolitica (Pasteurella X) in Human Enteric Infections. Brit Med J. 2:1363-1366.
51. World Health Organization. 1980. A Manual of Treatment of Acute Diarrhoea. WHO/CDD/SER/80.2.
52. World Health Organization. 1980. Enteric Infections Produced for - Campylobacter, Yersinia, Salmonella and Shigella. WHO/CDD/EPE/ - 80.4. Ginebra 14-16 November 1979.
53. World Health Organization. 1984. Report of the WHO Consultation of - Veterinary Public Health Aspects of Prevention and Control of - Campylobacter Infections. WHO/CDD/84.1. Moscow 20-22 February 1984.
54. World Health Organization. 1985. Programme for Control of Diarrhoeal Diseases. Fourth Programme Report 1983-1984. WHO/CDD/85.13.