



# Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

I Z T A C A L A

FRECUENCIA Y DISEMINACION INTRAFAMILIAR DE  
Escherichia coli ENTEROTOXIGENICA PRODUCTORA DE  
TOXINA TERMOLABIL (TTL) EN NIÑOS Y ADULTOS CON  
Y SIN DIARREA DE UNA COMUNIDAD RURAL

## Tesis Profesional

Que para obtener el título de

B I O L O G O

p r e s e n t a

MERCEDES MEJIA BOCANEGRA



Los Reyes Iztacala

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.

I.

A Valentín

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi Director de Tesis, Q.F.B. Silvia González Arroyo, su valiosa y constante asesoría durante las distintas etapas que comprendió el presente trabajo.

Así mismo, agradezco a la Q.B.P. Margarita Camorlinga Ponce su colaboración y ayuda en la realización de este trabajo.

Mi reconocimiento y admiración al Maestro en Ciencias Francisco Javier Torres López.

## I N D I C E

|  | PAG. |
|--|------|
| RESUMEN.....   | 1    |
| INTRODUCCION   |      |
| CLASIFICACION DE <u>Escherichia coli</u> .....                   | 2    |
| CARACTERISTICAS DE <u>Escherichia coli</u> ENTEROTOXIGENICA..... | 3    |
| MECANISMO DE ACCION DE TOXINA TERMOLABIL.....                    | 4    |
| ANTECEDENTES.....  | 6    |
| OBJETIVOS E HIPOTESIS.....                                       | 7    |
| DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO.....                             | 8    |
| MATERIAL Y METODO  |      |
| RECOLECCION DE LOS DATOS Y DE LA MUESTRA.....                    | 10   |
| CRECIMIENTO E IDENTIFICACION DE <u>Escherichia coli</u> .....    | 11   |
| CONDICIONES DE CRECIMIENTO Y PRODUCCION DE LA TOXINA             |      |
| TERMOLABIL.....  | 11   |
| CRECIMIENTO Y MANTENIMIENTO DE LA LINEA CELULAR.....             | 13   |
| METODO DE MICROCULTIVO.....                                      | 13   |
| EFECTO CITOPATICO DE TOXINA TERMOLABIL.....                      | 14   |
| RESULTADOS   |      |
| EFECTO CITOPATICO CELULAS CHO.....                               | 18   |
| DISTRIBUCION POR TIPO DE CASO.....                               | 20   |
| DISTRIBUCION POR EPOCA DEL AÑO.....                              | 23   |
| DISTRIBUCION POR EDAD.....                                       | 25   |
| DISTRIBUCION POR SINTOMATOLOGIA.....                             | 28   |
| DISTRIBUCION DE ACUERDO A CONDICIONES SANITARIAS.....            | 29   |
| DISTRIBUCION DE ACUERDO A COMPOSICION Y AMBIENTE FAMILIAR....    | 30   |

IV.

PAG.

|   |    |
|---|----|
| INFECCION INTRAFAMILIAR.....            | 31 |
| ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS..... | 32 |
| CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS.....         | 35 |
| APENDICE.....                           | 38 |
| BIBLIOGRAFIA.....                       | 42 |

FRECUENCIA Y DISEMINACION INTRAFAMILIAR DE Escherichia coli  
ENTEROTOXIGENICA PRODUCTORA DE TOXINA TERMOLABIL (TTL)  
EN NIÑOS Y ADULTOS CON Y SIN DIARREA DE UNA COMUNIDAD RURAL

RESUMEN

En nuestro país el papel de E. coli productora de toxina termolábil (T.L.) en la etiología de la diarrea aguda solo se ha evaluado en comunidades urbanas por lo que se consideró necesario evaluar su importancia en una comunidad rural del altiplano mexicano; en donde se determinó cuál es la frecuencia de Escherichia coli enterotoxigénica (T.L.) y la diseminación intrafamiliar de este microorganismo.

Se realizó coprocultivo a todos los individuos con diagnóstico de diarrea y a los miembros de su familia se aislaron cuatro colonias características de E. coli identificándose pruebas bioquímicas. Se midió su capacidad de producir la toxina (T.L.) "in vitro" por el efecto citopático que producen en cultivo de tejidos de ovario de hamster chino (CHO).

Durante el estudio fueron analizadas 90 familias que correspondían a 486 individuos; encontrando en individuos con diarrea (sintomáticos) una distribución de aislamiento del 16.1% y en individuos sin diarrea (asintomáticos) una distribución de aislamiento del 8.5%. El índice de mayor prevalencia de Escherichia coli enterotoxigénica productora de toxina termolábil (ECET-TTL) fué durante la primavera y el verano. Las principales características sanitarias, de composición y ambiente familiar de la comunidad rural no favorecieron la aparición de episodios de diarrea por Escherichia coli (ECET-TTL) con respecto a los episodios causados por otros agentes etiológicos. La población de más alto riesgo a enfermarse por Escherichia coli

(ECET-TTL) fueron los individuos menores de 5 años en tanto que los mayores de esta edad actúan como portadores asintomáticos.

#### INTRODUCCION.

Las infecciones producidas por bacterias entéricas que causan diarrea y disentería son uno de los problemas más graves de salud en el mundo, particularmente para niños pequeños que viven en los países subdesarrollados. Durante el año 1975, fueron observados 500 millones de episodios de diarrea en recién nacidos y en niños pequeños de Asia, Africa y América Latina causando la muerte a 8 millones de ellos. (2,22,55,58,62).

La diarrea infecciosa en humanos puede ser debida a varios agentes etiológicos: Entamoeba histolytica, Shigella spp, Salmonella spp, Vibrio cholerae, Rotavirus, Yersinia enterocolítica, Campylobacter spp, Escherichai coli son los de mayor importancia (47,48,55,62).

El papel patogénico de Escherichia coli en la diarrea humana fué reconocido hace tiempo (5,8,39,47). Escherichia coli causante de diarrea puede clasificarse en cuatro grupos de acuerdo a sus mecanismos de patogenicidad: E. coli enteropatógena, E. coli enteroinvasiva, E. coli enterohemorrágica y E. coli enterotoxigénica (30,45,47,57).

E. coli enteropatógena fué clasificada de acuerdo a sus propiedades serológicas porque permite diferenciar la E. coli de la flora normal, pero los mecanismos de patogenicidad son pobremente conocidos en este grupo, debido a la incapacidad de reproducir la enfermedad humana en animales de experimentación (8,13,16,22,39,56).



E. coli enteroinvasiva tiene la capacidad de penetrar y multiplicarse en las células epiteliales del intestino distal provocando la necrosis de las mismas, modificando de esta manera la anatomía de la mucosa del intestino y la formación de heces con sangre, pus y moco siendo este mecanismo de patogenicidad muy similar al de Shigella (8,34,50,52).

E. coli enterohemorrágica produce una citotoxina termolábil semejante a la toxina shiga producida por Shigella, se ha observado que la actividad tóxica de la toxina producida por E. coli se neutraliza con antisuero anti-toxina shiga por lo que se le ha denominado shiga-like (8,21,43,47).

E. coli enterotoxigénica produce dos toxinas codificadas por plásmidos: una termoestable (TTE) y una termolábil (TTL), la toxina termoestable produce la acumulación de fluido en el intestino del ratón lactante y no tiene la capacidad de ser inmunogénica (6,12,14,49,50,58), la toxina termolábil causa la alteración a nivel de crecimiento y morfología en las células adrenales de ratón (Y-1) y de ovario de hamster chino (CHO) en cultivo de tejidos, debido al aumento en la concentración de AMPc intracelular, que altera la estructura de los microtúbulos de las células, provocando el efecto citopático en ambas líneas celulares (arredondamiento y elongación respectivamente) (19,36). La utilización de cultivo de tejidos para medir el efecto citopático y el ensayo del asa ligada de conejo han permitido conocer mejor el mecanismo de patogenicidad de E. coli enterotoxigénica (ECET). La información genética para la síntesis de la toxina termolábil y termoestable se encuentra codificada por plásmidos (45). Evans encontró que una condición importante para que el mecanismo de patogenicidad de E. coli enterotoxigénica pueda llevarse a cabo, es la presencia de un factor de adherencia, codifi -

cado por plásmidos, que le permite a la bacteria superar uno de los mecanismos de resistencia natural del intestino que es el peristaltismo del intestino delgado (3,14,16,17,18,23,25).

La toxina termolábil de E. coli comparte muchas características con la toxina colérica (tabla 1), (10,33,46).

En la actualidad sabemos que la entotoxina termolábil de E. coli es una exotoxina, aunque gran parte se encuentra en el espacio periplásmico (26,39,41). Es una proteína multimérica con un contenido muy pobre en lípidos y carbohidratos (32). El primer evento en la acción de la toxina es una fuerte y rápida unión a los receptores de la membrana celular, en forma específica al Gangliósido  $G_{M1}$ , Holman en 1973 demostró una correlación directa entre el contenido celular del Gangliósido  $G_{M1}$  y el número de moléculas de toxina que la célula puede unir (41). La subunidad (B) tiene un papel muy importante en el proceso de entrada de la subunidad A y no solo actúa como ancla sobre el Receptor  $G_{M1}$  de la membrana, sino que debido a cambios conformacionales en dicha subunidad expone sus regiones hidrofóbicas que son capaces de unirse a los componentes hidrofóbicos o lípidos de la membrana plasmática, produciéndose una interacción hidrofóbica que facilita la entrada de la subunidad A a la membrana interna (19). Después que la subunidad A de la toxina termolábil entra a la célula se disocia en dos péptidos, llevándose a cabo la activación de la enzima adenilato ciclasa (37,41). La activación de la ciclasa por la subunidad A se lleva a cabo a través de un componente regulador (2,55) una proteína que tiene actividad GTPasa y cuya ADP ribosilación, catalizada por la subunidad A, es responsable en los cambios en la función de la adenilato ciclasa (32,41,44). También se ha demostrado que uno de los

TABLA 1

CARACTERISTICAS DE LA TOXINA DE Vibrio cholerae (TC) Y DE LA  
TOXINA TERMOLABIL DE Escherichia coli (TTL)

| PROPIEDAD                            | TOXINA COLERICA<br>(TC)                                       | TOXINA TERMOLABIL<br>(TTL)                                    |
|--------------------------------------|---|---|
| PESO MOLECULAR                       | 83,000 DALTONES   | 73,000 DALTONES   |
| NATURALEZA QUIMICA                   | PROTEICA  | PROTEICA  |
| SUBUNIDADES                          | B y A   | B y A   |
| RECEPTORES EN MUCOSA                 | GANGLIOSIDO G <sub>M1</sub>                                   | GANGLIOSIDO G <sub>M1</sub>                                   |
| ACCION BIOQUIMICA                    | ACTIVA LA ADENILATO   | ACTIVA LA ADENILATO   |
| ACCION FISIOLÓGICA                   | HIPERSECRECION PROLONGADA                                     | HIPERSECRECION PROLONGADA                                     |
| PROPIEDADES INMUNOLÓGICAS            | DESARROLLA RESPUESTA INMUNE                                   | ESTRECHAMENTE RELACIONADAS A OTRAS TOXINAS TERMOLABILES       |
| MÉTODOS DE ENSAYO                    | MODELOS ANIMALES, CULTIVO DE TEJIDOS, Y MÉTODOS INMUNOLÓGICOS | MODELOS ANIMALES, CULTIVO DE TEJIDOS, MÉTODOS INMUNOLÓGICOS   |
| CONTROL GENÉTICO                     | CROMOSOMAL  | PLASMIDO  |
| FACTORES DE COLONIZACIÓN             | NINGUNA PROPIEDAD ESTRUCTURAL CONOCIDA                        | CFA/I, CFA/II MEDIADA POR PLASMIDOS                           |
| SEROTIPOS                            | EL-TOR-OGAWA<br>EL-TOR-INABA                                  | LOS MAS COMUNES: O6K15<br>H16, O8K4049, O7OH12 Y OTROS MUCHOS |
| RESISTENCIA AL CALOR (100°C, 15 MIN) | SE INACTIVA   | SE INACTIVA   |
| RESISTENCIA A LOS ACIDOS             | SE INACTIVA   | SE INACTIVA   |

B: Binding A:Active CFA Colonization Factor Antigen (57)

péptidos de la subunidad A es capaz de activar per se la adenilato ciclasa de la membrana de eritrocitos lisados (16,28). Los cambios en la función de la adenilato ciclasa provocan un aumento en la concentración de AMPc in tracelular alterando el transporte de iones a dos niveles: sobre la absorción activa y la secreción respectivamente, la absorción de cloro y sodio se realiza a través de las células epiteliales con microvellosidades, por medio de los canales acarreadores para iones a través de los cuales son in troducidos a la célula, y que resultan inhibidos por la toxina termolábil. La activación de la secreción por la toxina termolábil, probablemente tenga lugar en las células crípticas, donde un aumento de AMP<sub>c</sub> estimula la se creción (58). El resultado es la secreción neta en el lumen del intestino delgado proximal de un fluido rico en electrolitos (58). La que produce la diarrea que clínicamente se presenta con: náusea, vómitos, dolor abdominal, fiebre y deshidratación con una duración de 5 a 7 días (48).

En nuestro país los estudios de carácter epidemiológico que se han realiza do para determinar la prevalencia e incidencia de E. coli enterotoxigénica productora de toxina termolábil (ECET-TTL), no han permitido determinar en forma confiable su papel como agente etiológico de la diarrea, a pesar del cúmulo de conocimientos adquiridos en los últimos 20 años con respecto a ECET-TTL, según lo muestran los estudios epidemiológicos realizados en la Ciudad de México; en el año de 1974 Donta encontró en individuos con diarrea una frecuencia del 13.0% (20), en 1975 Evans encuentra una frecuencia del 24.2% en individuos con diarrea (28), en 1976 y 1977 Muñoz, en niños con diarrea reporta una frecuencia del 7.0% (51), en 1978 Chacón encuentra en niños con diarrea de un hospital de pediatría una frecuencia del 9.0% (10), en un estudio reciente realizado en una zona marginada del sur de la

Ciudad de México, Gallardo Reséndiz encuentra una frecuencia del 12.0% (35) Observamos variación entre las frecuencias encontradas de ECET-TTL como agente etiológico de la diarrea infecciosa en los estudios realizados en nuestro país.

En México los estudios para evaluar la importancia de E. coli productora de toxina termolábil solo se ha llevado a cabo en comunidades urbanas, ante esto consideramos necesario llevar a cabo la determinación de la frecuencia de Escherichia coli enterotoxigénica productora de toxina termolábil en niños y adultos con y sin diarrea de una comunidad rural, suponiendo que la frecuencia de (ECET-TTL) en la comunidad rural deberá ser mayor o igual a las frecuencias observadas en las comunidades urbanas estudiadas, debido a que las condiciones de composición y ambiente familiar son más desfavorables en la comunidad rural (65).

Así mismo tampoco se han llevado a cabo estudios epidemiológicos que nos indiquen como es la diseminación de (ECET-TTL) en un grupo cerrado, por lo cual decidimos determinar la tasa de ataque secundario de Escherichia coli productora de toxina termolábil, así como, la tasa de infectividad de este germen, esperamos que los individuos menores de 5 años se enfermen e infecten más fácilmente que los mayores de esta edad.

El presente es un estudio de investigación en el área biomédica que aborda el problema de la diarrea infecciosa en nuestro país, se espera que la información obtenida permita prevenir el padecimiento causado por la toxina y de esta manera contribuir a la superación de los problemas de salud en México.

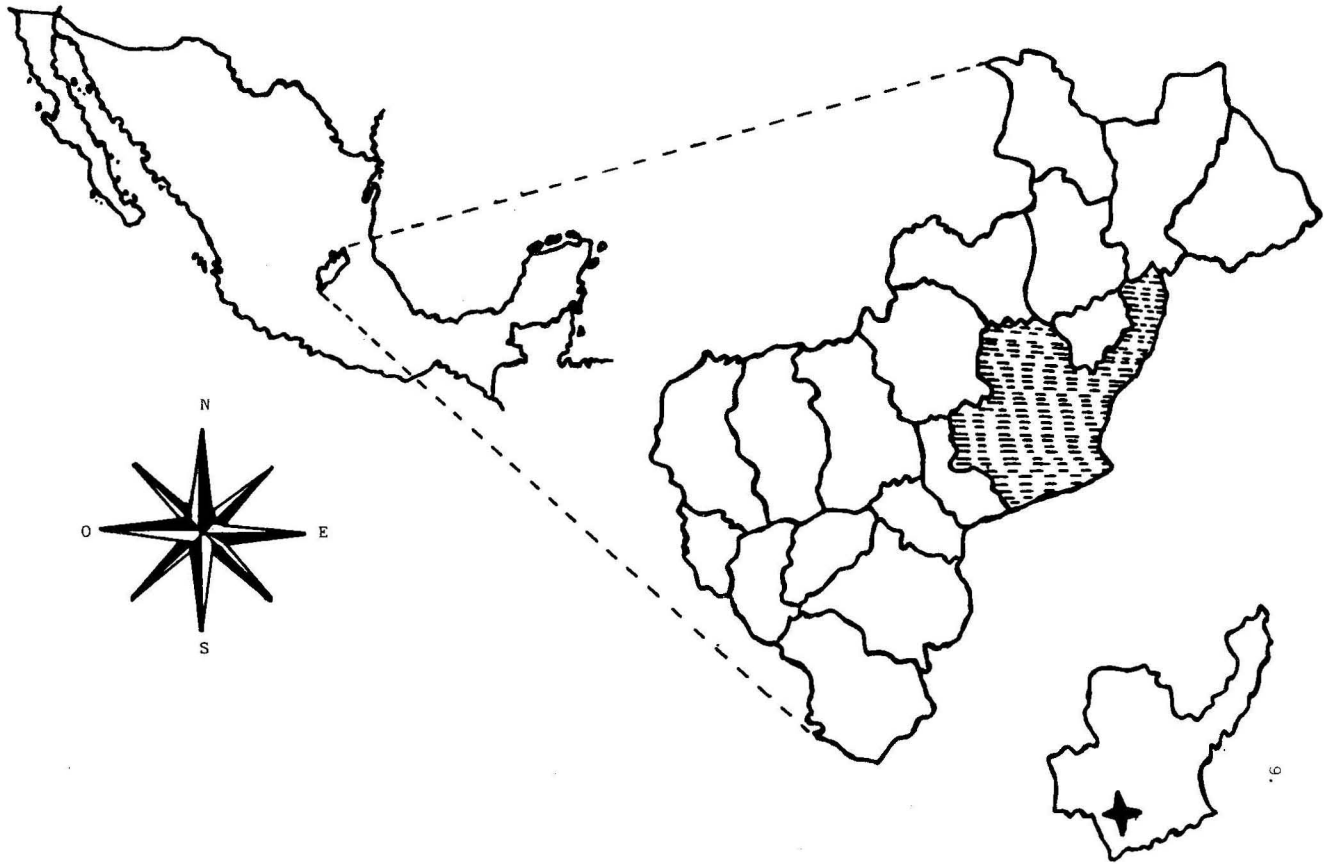
Descripción del área de trabajo.

La investigación se realizó en la comunidad de Cadereyta de Montes Queré - taro (mapa 1) durante más de dos años (marzo de 1983 a junio de 1985). Cadereyta de Montes Qro., tiene una extensión de 1,131 km<sup>2</sup> y se encuentra a 2060 m. sobre el nivel del mar, tiene una temperatura anual promedio de 26°C, las lluvias son escasas y predominan en los meses de mayo a octubre. En la mayor parte del municipio las comunicaciones son adecuadas y existe una carretera que permite la comunicación entre la ciudad de México y la Cabecera Municipal. Para 1985 se calculó que habitan en el área de estudio 42,624 habitantes, distribuidos en 142 localidades, 120 menores de 500 habitantes, 18 de 500 a 999 habitantes, 3 de 1000 a 2000 habitantes y una de más de 2500 habitantes (11,54,59).

Se distinguen en el área dos tipos de población: la urbana y la rural, la primera asentada en la Cabecera Municipal, es de aproximadamente 4000 habitantes, el 45.0% son menores de 15 años y de los mayores de esta edad el 19.1% son analfabetas, el 75.0% de la población económicamente activa se dedica a las actividades agrícolas, el 15.0% al comercio y el 15.0% restante a otras actividades, la mayoría de las viviendas están construidas de concreto y tienen piso de cemento, el 88.0% cuenta con agua potable intradomiciliaria y el 81.0% tiene drenaje y fosa séptica. La población rural incluye aproximadamente 38,588 habitantes, 47.2% son menores de 15 años y de los mayores de esta edad el 42.1% son analfabetas, la mayoría de la población económicamente activa se dedica a la agricultura, gran parte de ellos son ejidatarias y peones solo un pequeño porcentaje se emplea en las localidades suburbanas vecinas. Las viviendas son de adobe, carrizo y

MAPA 1

LOCALIZACION DEL MUNICIPIO DE CADEREYTA DE MONTES, QUERETARO.



otros materiales locales. Solo el 57.8% de las viviendas cuenta con agua entubada y más del 90.0% de los habitantes practica el fecalismo al aire libre (11,54).

#### METODOS

Se incluyeron en el estudio a los individuos niños y adultos con diagnóstico de diarrea aguda, con un tiempo de evolución menor o igual a 5 días y que no hubieran recibido antibióticos durante ese lapso de tiempo, se consideró como diarrea al aumento en el contenido de líquidos de las evacuaciones y que en general se repiten más de tres veces al día (47,48). Se estudiaron además a todos los miembros de la familia del caso índice, tomando en cuenta el tiempo de incubación del germen y si se trató de un caso sintomático, se tomaron muestras de materia fecal de todos los miembros de la familia en los tres y cinco días siguientes así como una semana después (63).

Recolección de los datos y de la muestra.

Se aplicó un cuestionario a la familia en estudio, cuando la misma acudió al Hospital Rural de Zona, para la toma de la muestra de materia fecal, obteniéndose la siguiente información:

- Dirección de la vivienda, nombre, ocupación y escolaridad del jefe de familia, ocupación y escolaridad de la madre de familia, número de familiares, número de dormitorios, tipo de abastecimiento de agua, eliminación de excretas y convivencia con animales domésticos y de granja.
- Descripción de la sintomatología en los casos de diarrea: días de dura - ción de diarrea, número de evacuaciones durante 24 horas, evacuaciones con sangre, fiebre, vómitos y eritema glúteo.



- A cada individuo se le tomó una muestra de materia fecal, durante los tres y cinco días siguientes a la aparición del caso índice y una semana después.

Crecimiento e identificación de las cepas de Escherichia coli.

Las muestras de materia fecal se sembraron inicialmente en los medios de Mc. Conkey agar y Xilosa-lisina-desoxicolato agar (XLD), para la obtención de 4 colonias de Escherichia coli por individuo, posteriormente se sembraron en medio gelosa especial para su transporte de el Hospital Rural de Zona de Cadereyta de Montes Qro., al laboratorio de bacteriología perteneciente a la División de Investigación Clínica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias UICEIP, donde fueron identificadas mediante pruebas bioquímicas (tabla 2).

Las cepas identificadas fueron crecidas en un medio rico sin inhibidores, tripticaseína-soya-agar (TSA), con dos finalidades: la obtención de un crecimiento masivo para almacenar las cepas a -70°C en un medio con crioprotector (glicerol), medio de infusión cerebro corazón-glicerol al 15.0% y la obtención de un inóculo fresco de las cepas de Escherichia coli, para identificar cuáles de ellas producen toxina termolábil (47).

Condiciones de crecimiento y producción de la toxina termolábil.

Los cultivos fueron crecidos en matraces erlenmeyer de 250 ml. que contienen 20 ml. de medio CAYE descrito por Evans en 1976 (26,28,29) adicionando 45 g/ml. de lincomicina (38), en un medio ambiente aeróbico a 37°C durante 24 horas a 60 rpm. en un baño metabólico, después del crecimiento de los cultivos fueron centrifugados a 10,000 rpm. durante 30 minutos a 5°C, de donde se colectó 1 ml. de sobrenadante de cada muestra (1,4,13,21,26).

TABLA 2  
 PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACION DE Escherichia coli

| PROPIEDAD                      | % DE POSITIVIDAD PARA LA REACCION |       |       |
|--------------------------------|-----------------------------------|-------|-------|
|                                | ( + )                             | ( - ) | ( v ) |
| PRODUCCION DE INDOL            | 99.2                              |       |       |
| MOVILIDAD                      |                                   |       | 69.1  |
| UTILIZACION DE CITRATO         |                                   | 0.0   |       |
| PRODUCCION DE H <sub>2</sub> S |                                   | 0.0   |       |
| DESCARBOXILACION DE LISINA     | 90.0                              |       |       |
| DESCARBOXILACION DE ORNITINA   |                                   |       | 63.4  |
| MALONATO                       |                                   | 0.0   |       |
| PRODUCCION DE GAS DE GLUCOSA   | 90.0                              |       |       |
| UTILIZACION DE UREA            | 90.0                              |       |       |
| UTILIZACION DE LACTOSA         | 90.0                              |       |       |

TOMADO DEL LENNETTE ED. 1985 (47).

Crecimiento y mantenimiento de la línea celular (CHO).

La línea celular de ovario de hamster chino (CHO), fué cultivada en el medio de Ham-F<sub>12</sub>, suplementado con glutamina al 1 mM, NaHCO<sub>3</sub> al 0.15% suero fetal de bovino 10.0%, 44 ug/ml de Anfotericina B y 1 ml. de una solución de penicilina-estreptomicina que contiene 10,000 U de cada antibiótico(10). Las células fueron crecidas en botellas de plástico de 25 cm<sup>3</sup> a una temperatura de 37°C con una atmósfera al 6.0% de CO<sub>2</sub>, cuando las células formaban una monocapa confluyente fueron desprendidas con una solución de tripsina al 0.25% a 37°C durante 2 ó 3 minutos, las células fueron transferidas a botellas que contenían de 5 a 7 ml. del medio de crecimiento y continuaron su crecimiento en las condiciones ya descritas (10,21,42). Los cultivos fueron observados periódicamente en microscopio invertido para verificar la ausencia de contaminación. El medio de crecimiento de los cultivos fué reemplazado generalmente a los 3 y 5 días, cuando la acidez del medio se veía incrementada, lo cual se podía observar por la presencia del indicador de pH en el medio (19,36,38).

Método de microcultivo en placa para la detección de la actividad citotóxica de la toxina termolábil.

El método utilizado fué el descrito por Donta en 1974 (19) y por Guerrant en 1974 (36). Las células CHO fueron cosechadas como se describió previamente llevándolas a una concentración de 10<sup>5</sup> células en 20ml. de medio de mantenimiento MEM, las células en suspensión fueron sembradas en microplacas de titulación para que se pegaran al sustrato durante 20 minutos a 37°C al 6.0% de CO<sub>2</sub>, al final de la incubación se adicionaron 30 ml. de los sobrenadantes obtenidos de las cepas de Escherichia coli del estudio y se in

cubaron a 37°C durante 24 horas en una atmósfera de CO<sub>2</sub> añ 6.0%. Los controles positivos incluidos fueron la toxina de cólera al 0.001 mg/ml y el sobrenadante obtenido de la cepa H-10407 H<sup>-</sup> de origen humano productora de toxina termolábil en tanto que los controles negativos fueron la cepa de Escherichia coli K-12 nativo y sobrenadante del medio CAYE (5,7,10,19,28, 38). (Fig. 1).

Después de la incubación de la línea celular en presencia de los sobrenadantes problema y de los testigo, se leyó la microplaca en microscopio invertido. Una reacción positiva debida a la toxina termolábil se observó a nivel de crecimiento y morfología celular, como la deformación de las células en más del 70.0% del número total de las células observadas (19, 36,56,60,61,, fotografías A y B.

Para determinar la significancia de las frecuencias observadas, con respecto de las esperadas se realizó la prueba de Ji-cuadrada para tablas de contingencia de YXC, utilizándose  $p < .01$  (64).

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^r \sum_{i=1}^c \frac{(O-E)^2}{E}$$

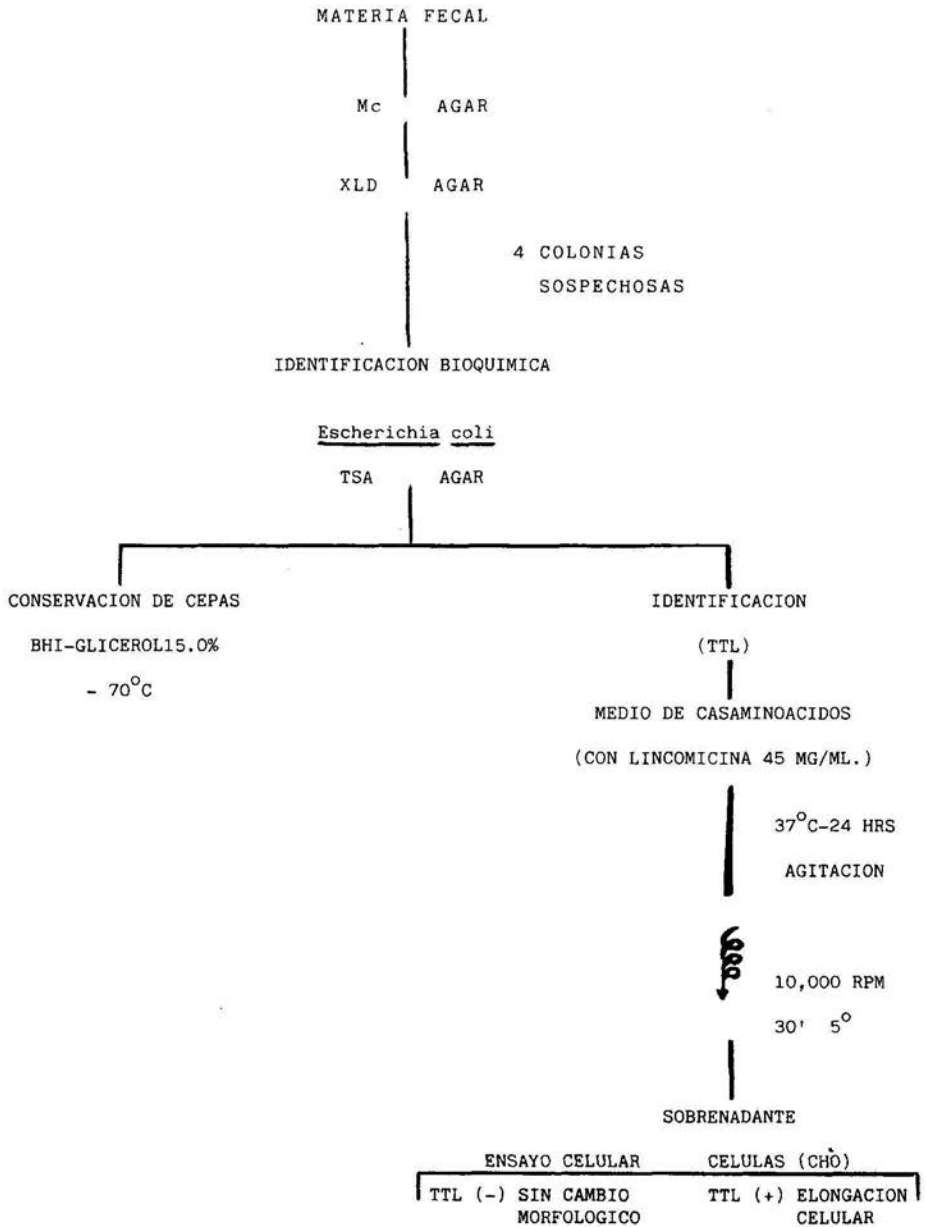
(r) renglones

(c) columnas

FIGURA 1

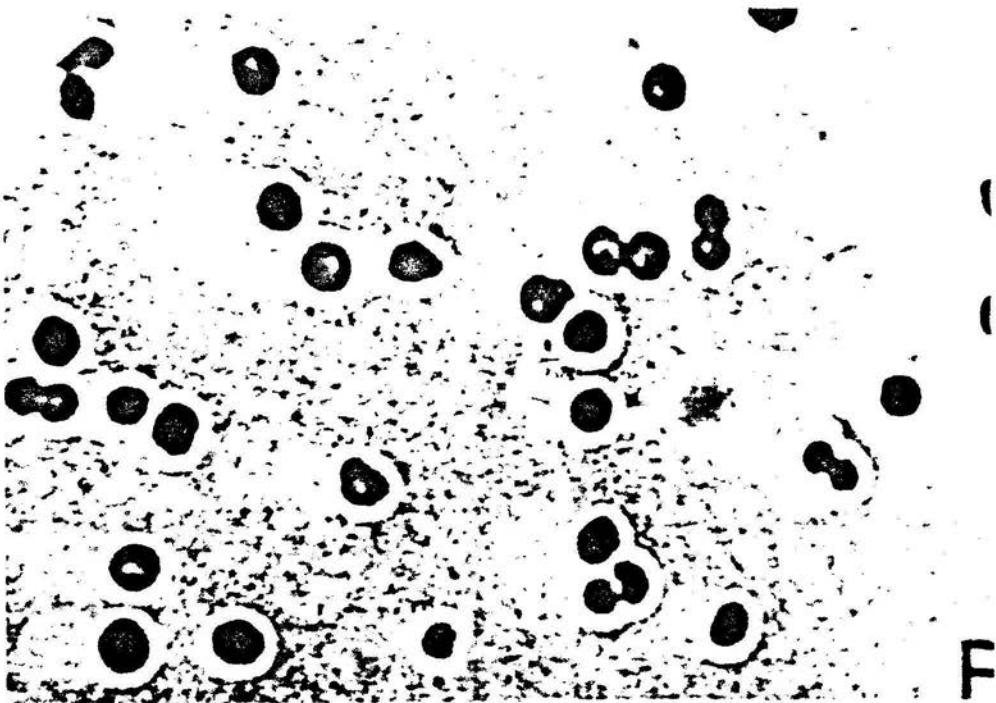
PROCEDIMIENTO PARA LA IDENTIFICACION DE ESCHERICHIA COLI  
Y DE LA TOXINA TERMOLABIL ( TTL )

15.



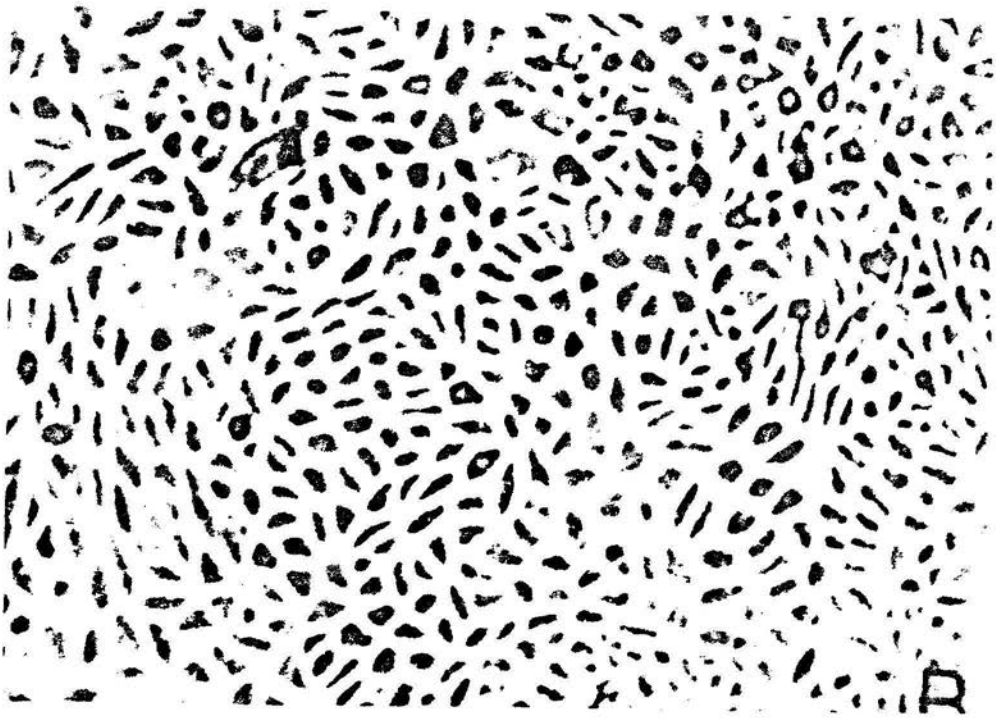


A



F

ELULAS CHO (OVARIO DE HAMSTER CHINO) SEMBRADAS EN EL MEDIO F12, AH -  
 0.0% DE SUERO FETAL DE BOVINO, INCUBADAS CON UN FILTRADO DE *E. coli* -  
 10407 H- CRECIDA EN MEDIO TSB (A), CONTROL NEGATIVO MEDIO TSB (B), -  
 MBOS A UNA DILUCION 1:10 EN MEDIO PBS X 133 (36).



CELULASCHO, SEMBRADAS EN EL MEDIO F12, SIN SUERO, INCUBADAS 24 HORAS EN UN FILTRADO DE E. coli H10407 H<sup>-</sup> CRECIDA EN MEDIO TSB (A), CONTROL NEGATIVO MEDIO TSB, AMBAS A UNA DILUCION 1:10 EN PBS X 133 (36).

(B)

## RESULTADOS.

CELULAS CHO (OVARIO DE HAMSTER CHINO), SEMBRADAS EN MEDIO MEM, AL 50% DE SUERO FETAL DE BOVINO, INCUBADAS CON UN FILTRADO DE E. coli H10407 H<sup>-</sup>; - EL EFECTO CITOPATICO PRODUCIDO POR LA TOXINA TERMOLABIL PROVOCA LA ELONGACION DE LAS CELULAS DE LA MONOCAPA (C), EL CONTROL NEGATIVO LO CONSTITUYEN CELULAS INCUBADAS CON UN FILTRADO DE E. coli K-12, LA MORFOLOGIA - DE LAS CELULAS CHO PERMANECE SIN ALTERARSE FORMANDO UNA MONOCAPA QUE CONSERVA LAS CARACTERISTICAS DE LA LINEA CELULAR (D). AMBAS A UNA DILUCION 1:10 EN EL MEDIO MEM DONDE FUERON SEMBRADAS LAS CELULAS. X 130. (FOTOGRAFIAS TOMADAS EN EL LABORATORIO DE BACTERIOLOGIA - UICEIP).





C



D

TABLA 3

DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA  
 TERMOLABIL (ECET-TTL) EN FAMILIAS COMPLETAS DE LA  
 COMUNIDAD DE CADEREYTA, QRO.

| CASO          | No. DE INDIVIDUOS<br>ESTUDIADOS | No. DE INDIVIDUOS<br>CON AISLAMIENTO<br>DE (ECET-TTL) | %    |
|---------------|---------------------------------|---|------|
| SINTOMATICOS  | 124                             | 20  | 16.1 |
| ASINTOMATICOS | 362                             | 30  | 8.5  |
| T O T A L     | 486                             | 50  | 10.1 |

90 FAMILIAS ESTUDIADAS.

LA DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO EN INDIVIDUOS CON DIARREA (SINTOMATI-  
 COS) FUE MAYOR A LA OBTENIDA EN INDIVIDUOS SIN DIARREA (ASINTOMATI-  
 COS). EL ANALISIS DE  $\chi^2$  MOSTRO DIFERENCIA ESTADISTICAMENTE SIGNIFI-  
 CATIVA.  $\chi^2 = 6.8$   $P < .01$

TABLA 4

DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA TERMOLABIL (ECET-TTL) EN LOS DIFERENTES TIPOS DE CASOS

| TIPO DE CASO                  | CASOS CON AISLAMIENTO |               |             |
|-------------------------------|-----------------------|---------------|-------------|
|                               | No. CASOS             | No. POSITIVOS | %           |
| CASO INDICE PRIMARIO<br>(CIP) | 85                    | 15            | 17.6        |
| CASO COPRIMARIO<br>(CCP)      | 22                    | 4             | 18.0        |
| CASO SECUNDARIO<br>(CS)       | 17                    | 1             | 6.0         |
| CASO ASINTOMATICO<br>(CA)     | 362                   | 30            | 8.5         |
| <b>T O T A L E S</b>          | <b>486</b>            | <b>50</b>     | <b>10.3</b> |

MEDIANTE EL ANALISIS DE JI-CUADRADA ( $\chi^2$ ), SE ENCONTRO DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS CASOS INDICE PRIMARIOS Y COPRIMARIOS CON RESPECTO A LOS CASOS ASINTOMATICOS,  $\chi^2 = 7.28$  ( $p < .01$ ). EL PORCENTAJE DE AISLAMIENTO DE LOS CASOS SECUNDARIOS - FUE APROXIMADAMENTE 3 VECES MENOR A LOS OBSERVADOS EN LOS CASOS INDICE PRIMARIOS (CIP) Y CASOS COPRIMARIOS (CCP). EN LOS CASOS ASINTOMATICOS EL AISLAMIENTO FUE DEL 8.5%.

FIGURA 2

DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA TERMOLABIL (ECET-TTL) EN LOS DIFERENTES TIPOS DE CASOS

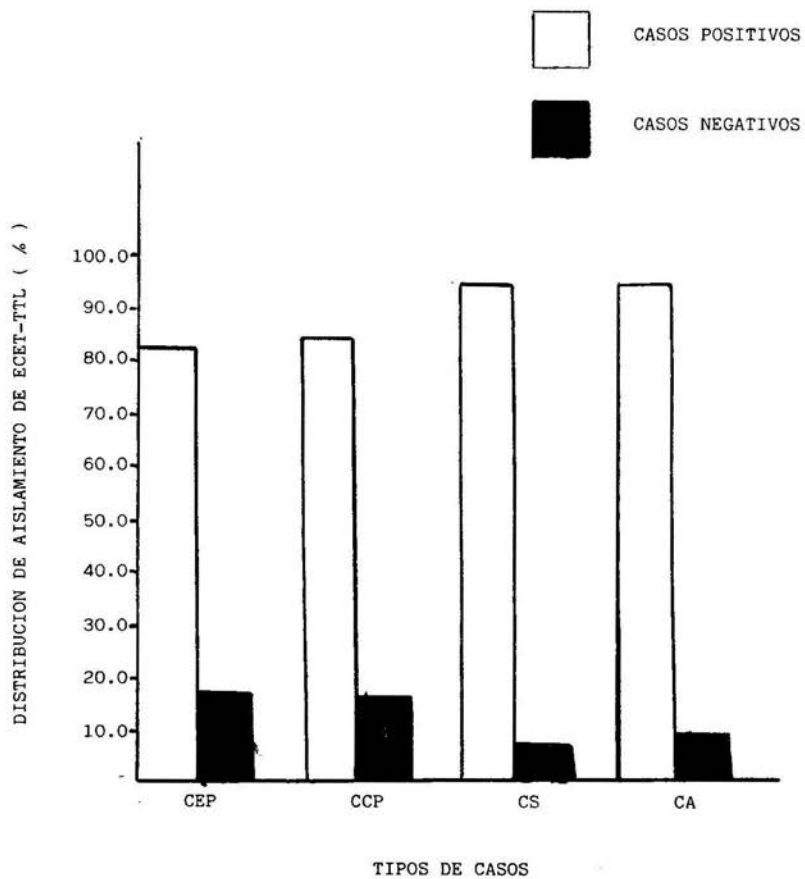


TABLA 5

DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA TERMOLABIL (ECET-TTL) DE ACUERDO A LA EPOCA DEL AÑO (MARZO 1983 - JUNIO 1985)

|           | SINTOMATICOS |        | ASINTOMATICOS |        |
|-----------|--------------|--------|---------------|--------|
|           | No.          | %      | No.           | %      |
| PRIMAVERA | 14/7         | (14.3) | 48/4          | ( 8.3) |
| VERANO    | 60/13        | (21.6) | 163/22        | (13.5) |
| OTOÑO     | 50/5         | (10.0) | 151/4         | ( 2.6) |
| INVIERNO  | S/M          | ( 0.0) | S/M           | ( 0.0) |

NO SE ENCONTRO DIFERENCIA SIGNIFICATIVA EN LOS CASOS ASINTOMATICOS CON RESPECTO A LOS CASOS SINTOMATICOS  $\chi^2 = P > 0.01$ . SE OBSERVA UNA MAYOR PREVALENCIA EN EL VERANO, EN TANTO QUE EN EL INVIERNO NO HUBO AISLAMIENTOS.

FIGURA 3

DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA TERMOLABIL (ECET-TTL) DE ACUERDO A LA EPOCA DEL AÑO (MARZO 1983 - JUNIO 1985)

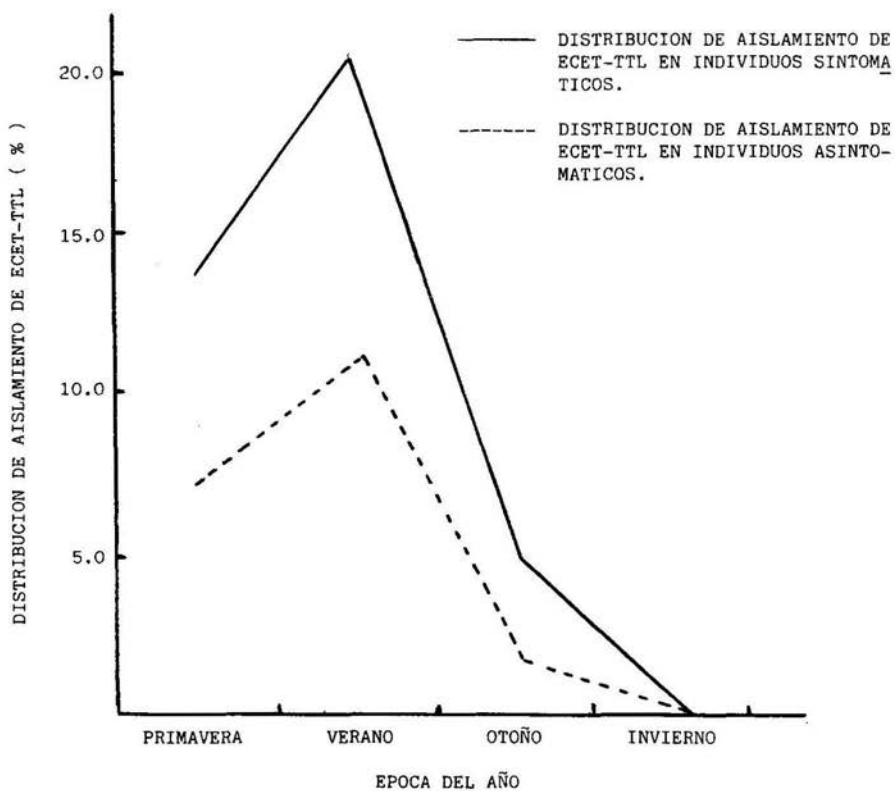


TABLA 6

DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA TERMOLABIL  
(ECET-TTL) DE ACUERDO A GRUPOS DE EDAD

| GRUPOS DE EDAD | T O T A L                   |      |  | INDIVIDUOS SINTOMATICOS     |      |  | INDIVIDUOS ASINTOMATICOS    |      |  |
|----------------|-----------------------------|------|--|-----------------------------|------|--|-----------------------------|------|--|
|                | No. POSITIVOS/<br>No. CASOS | %    |  | No. POSITIVOS/<br>No. CASOS | %    |  | No. POSITIVOS/<br>No. CASOS | %    |  |
| 0 - 11 M       | 7/45                        | 15.5 |  | 5/42                        | 11.9 |  | 2/3                         | 66.6 |  |
| 12 - 23 M      | 5/33                        | 15.0 |  | 4/22                        | 18.2 |  | 1/11                        | 9.1  |  |
| 2 - 4 A        | 14/74                       | 19.0 |  | 8/27                        | 29.6 |  | 6/47                        | 12.8 |  |
| 5 - 14 A       | 14/144                      | 10.0 |  | 1/8                         | 5.5  |  | 13/128                      | 10.2 |  |
| IV 15 A        | 10/190                      | 5.2  |  | 2/13                        | 15.4 |  | 8/173                       | 4.6  |  |
| T O T A L :    | 50/486                      | 10.3 |  | 20/124                      | 16.1 |  | 30/362                      | 8.3  |  |

EN LOS INDIVIDUOS SINTOMATICOS LA DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO FUE MAYOR EN EL GRUPO DE EDAD DE 2 A 4 AÑOS (29.6%) Y MENOR EN EL GRUPO DE 5 A 14 AÑOS, EN INDIVIDUOS ASINTOMATICOS, EL GRUPO DE MAYOR DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO - FUE EL DE 0 A 11 MESES (66.6%) Y EL DE MENOR DISTRIBUCION FUE EL DE MAYORES DE 15 AÑOS.

FIGURA 4

DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA  
TERMOLABIL (ECET-TTL) DE ACUERDO A LOS GRUPOS DE EDAD

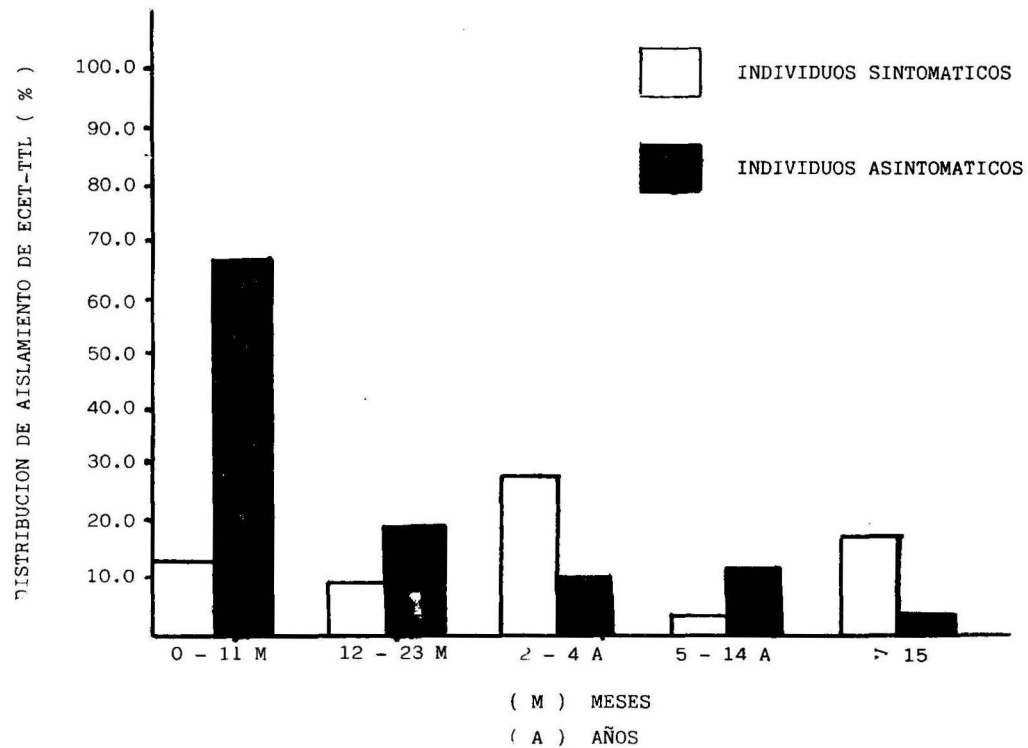




TABLA 7  
 FRECUENCIA DE DIARREA AGUDA CON AISLAMIENTO DE  
E. coli TTL (+) EN RELACION A LA EDAD

| EDAD      | No. DE INDIVIDUOS CON AISLAMIENTO DE E. coli (TTL (+)) |               |       |
|-----------|--|---------------|-------|
|           | SINTOMATICOS   | ASINTOMATICOS | %     |
| < 5 AÑOS  | 17   | 9             | 65.4* |
| > 5 AÑOS  | 3  | 21            | 12.5* |
| T O T A L | 20   | 30            | 40.0  |

\*  $\chi^2 = 13.3$       P < 0.01

EN ESTA TABLA SE OBSERVA UNA MAYOR DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO EN LOS INDIVIDUOS MENORES DE 5 AÑOS (SINTOMATICOS Y ASINTOMATICOS). EL ANALISIS DE JI-CUADRADA MOSTRO DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE MENORES Y MAYORES DE 5 AÑOS.

TABLA 8

DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE  
TOXINA TERMOLABIL (ECET-TTL) EN INDIVIDUOS CON  
DIARREA DE ACUERDO A LA SINTOMATOLOGIA

| SINTOMATOLOGIA                     | CASOS CON AISLAMIENTO<br>(20) |      | CASOS SIN AISLAMIENTO<br>(104) |      |
|------------------------------------|-------------------------------|------|--------------------------------|------|
|                                    | No.                           | %    | No.                            | %    |
| DIAS DE DURACION<br>DE LA DIARREA  |                               |      |                                |      |
| < 10 DIAS                          | 15                            | 75.0 | 80                             | 77.0 |
| > 10 DIAS                          | 5                             | 25.0 | 24                             | 23.0 |
| No. DE EVACUACIONES<br>EN 24 HORAS |                               |      |                                |      |
| < 10 EVACUACIONES                  | 8                             | 90.0 | 88                             | 85.0 |
| > 10 EVACUACIONES                  | 2                             | 10.0 | 16                             | 15.0 |
| EVACUACIONES CON<br>SANGRE         | 4                             | 20.0 | 17                             | 16.4 |
| DISENTERIA                         | 2                             | 10.0 | 29                             | 27.9 |
| ERITEMA GLUTEO                     | 6                             | 30.0 | 19                             | 18.3 |
| FIEBRE                             | 6                             | 30.0 | 39                             | 37.5 |
| VOMITOS                            | 3                             | 15.0 | 33                             | 31.4 |

( ) NUMERO DE CASOS

NO SE OBSERVA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA EN LOS DIAS DE DURACION DE DIARREA Y EL NUMERO DE EVACUACIONES EN 24 HORAS EN LOS CASOS DE DIARREA - POR (ECET-TTL) CON RESPECTO A LOS CASOS QUE ESTUVIERON ASOCIADOS A - OTROS GERMENES Y A LOS CASOS DE DIARREA QUE NO PRESENTARON AISLAMIENTO DE ALGUN AGENTE ETIOLOGICO.

TABLA 9

DISTRIBUCION DEL AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA TERMOLABIL (ECET-TTL) DE ACUERDO A LAS PRINCIPALES CARACTERISTICAS SANITARIAS DE LAS FAMILIAS ESTUDIADAS DE CADEREYTA, QRO.

| CARACTERISTICA                              | PORCENTAJE DE FAMILIAS CON LA CARACTERISTICA SEÑALADA |                               |
|---|---|-------------------------------|
|   | FAMILIAS CON ECET-TTL<br>(35)                         | FAMILIAS SIN ECET-TTL<br>(55) |
| No. DE INDIVIDUOS POR CUARTO (HACINAMIENTO) |   |                               |
| ≤ 3   | 40.0  | 57.5                          |
| 4 - 6                                       | 36.6  | 40.0                          |
| ≥ 7   | 5.4   | 2.5                           |
| TIPO DE ABASTECIMIENTO DE AGUA              |   |                               |
| INTRADOMICILIARIA                           | 77.1  | 69.1                          |
| HIDRANTE PUBLICO                            | 11.5  | 16.3                          |
| POZO  | 11.4  | 5.5                           |
| OTROS                                       | -   | 8.1                           |
| DISPOSICION DE EXCRETAS                     |   |                               |
| DRENAJE PUBLICO                             | 31.4  | 31.0                          |
| LETRINA                                     | 8.6   | 7.2                           |
| FECALISMO                                   | 60.0  | 68.8                          |
| CONVIVENCIA CON ANIMALES                    |   |                               |
| AVES DE CORRAL                              | 67.1  | 49.0                          |
| CERDOS                                      | 51.1  | 29.0                          |
| BOVINOS                                     | 20.0  | 9.0                           |

( ) NUMERO DE FAMILIAS.

LAS PRINCIPALES CARACTERISTICAS SANITARIAS DE LAS FAMILIAS DE LA COMUNIDAD DE CADEREYTA, QRO. NO MOSTRARON DIFERENCIA SIGNIFICATIVA AL REALIZAR JI-CUADRADA.

|                                |                 |            |
|--------------------------------|-----------------|------------|
| No. DE INDIVIDUOS POR CUARTO   | $\chi^2 = 3.13$ | $P > 0.01$ |
| TIPO DE ABASTECIMIENTO DE AGUA | $\chi^2 = 1.38$ | $P > 0.01$ |
| DISPOSICION DE EXCRETAS        | $\chi^2 = 0.40$ | $P > 0.01$ |
| CONVIVENCIA CON ANIMALES       | $\chi^2 = 0.30$ | $P > 0.01$ |

TABLA 10

DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE *Escherichia coli* PRODUCTORA DE TOXINA TERMOLABIL (ECET-TTL) DE ACUERDO A LAS PRINCIPALES CARACTERISTICAS DE COMPOSICION Y AMBIENTE FAMILIAR DE CADEREYTA, QRO.

| CARACTERISTICA                    | PORCENTAJE DE FAMILIAS CON LA CARACTERISTICA SEÑALADA |                               |
|-----------------------------------|---|-------------------------------|
|                                   | FAMILIAS CON ECET-TTL<br>(35)                         | FAMILIAS SIN ECET-TTL<br>(55) |
| No. DE INDIVIDUOS<br>POR FAMILIA  |   |                               |
| ≤ 5                               | 34.3  | 54.5                          |
| > 5                               | 65.7  | 46.5                          |
| ESCOLARIDAD DE LA<br>MADRE        |   |                               |
| 0 - 3                             | 57.0  | 45.0                          |
| 4 - 6                             | 34.0  | 44.0                          |
| ≥ 7                               | 9.0   | 11.0                          |
| OCUPACION DEL ESPOSO              |   |                               |
| CAMPESINO                         | 45.8  | 40.0                          |
| OBRERO                            | 8.5   | 7.3                           |
| ALBAÑIL                           | 11.4  | 14.5                          |
| EMPLEADO PUBLICO<br>Y COMERCIANTE | 11.4  | 25.5                          |
| OTROS                             | 22.9  | 12.7                          |

NO SE OBSERVA DIFERENCIA SIGNIFICATIVA EN LA DISTRIBUCION DE AISLAMIENTO DE ACUERDO A LAS CARACTERISTICAS DE COMPOSICION Y AMBIENTE FAMILIAR.

|                               |                 |            |
|-------------------------------|-----------------|------------|
| No. DE INDIVIDUOS POR FAMILIA | $\chi^2 = 2.77$ | $P > 0.01$ |
| ESCOLARIDAD DE LA MADRE       | $\chi^2 = 2.20$ | $P > 0.01$ |
| OCUPACION DEL ESPOSO          | $\chi^2 = 2.18$ | $P > 0.01$ |

TABLA 11

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO DE Escherichia coli PRODUCTORA DE TOXINA TERMOLABIL (ECET-TTL) EN INDIVIDUOS ASINTOMATICOS EN RELACION A SI HABIA O NO UN CASO PRIMARIO DE DIARREA POR ESTE GERME EN LA FAMILIA

| AISLAMIENTO DE <u>E. coli</u> TTL (+) EN EL CASO PRIMARIO O COPRIMARIO | INDIVIDUOS ASINTOMATICOS DE ESAS FAMILIAS       |   |      |
|--|---|---|------|
|  | CON AISLAMIENTO DE <u>E. coli</u> TTL (+) (No.) | SIN AISLAMIENTO DE <u>E. coli</u> TTL (+) (No.) | %    |
| SI   | 9   | 46  | 16.9 |
| NO   | 21  | 288   | 6.7  |
| T O T A L  | 30  | 362   | 8.5* |

\*  $\chi^2 = 5.9$   $P < 0.025$

LOS INDIVIDUOS SIN DIARREA SE INFECTAN MAS FACILMENTE CUANDO LOS CASOS INDICE PRIMARIOS Y CASOS COPRIMARIOS ENFERMAN, TENIENDO COMO AGENTE CAUSAL A (ECET-TTL) COMO AGENTE ETIOLOGICO, QUE CUANDO DICHOS CASOS ENFERMAN POR ALGUN OTRO AGENTE ETIOLOGICO. EL ANALISIS DE - JI-CUADRADA ARROJO UNA  $\chi^2 = 6.0$  ( $P > 0.01$ ).

### ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

El método utilizado para determinar la presencia de (ECET-TTL) fué el más adecuado dadas las características de nuestro estudio. El modelo "in vitro" que determinó el efecto citopático producido por la toxina termolábil de Escherichia coli en cultivo de tejidos tiene una sensibilidad y especificidad mayor a la de las pruebas inmunológicas que existen en la actualidad. Con respecto al modelo "in vivo" del asa ligada de conejo, tiene la ventaja que incluye un número mayor de pruebas por ensayo (4-5 en el asa ligada y de 30-35 en cultivo de tejidos) aunque la sensibilidad y especificidad del asa ligada son mayores a los de la técnica empleada en la presente investigación (4,7,10,15,17,18,19,21,24,27,29,30,36,42,61) - fotografías C y D.

Durante el estudio se analizaron 124 episodios de diarrea, 20 de las cuales estuvieron asociados a (ECET-TTL) (16.1%) 20 a otras bacterias enteropatógenas (16.1%) 16 a Rotavirus (13.0%) y 13 a parásitos enteropatógenos (10.5%). La distribución de aislamiento de (ECET-TTL) es similar a la de otras bacterias enteropatógenas y mayor a la de otros agentes etiológicos de la diarrea (Rotavirus y parásitos). Por lo anterior podemos considerar a (ECET-TTL) como un agente etiológico importante de la diarrea en la comunidad rural, debido a que la distribución de aislamiento en los estudios de prevalencia realizados en la comunidad urbana fueron menores al - 16.1% encontrado en la comunidad rural, a excepción de la encontrada por Evans en 1975 del 24.2% (2,10,20,28,51).

La distribución de aislamiento fué aproximadamente tres veces mayor en los casos índice primarios y casos coprimarios con respecto a los casos secundarios (tabla No. 4) hecho que permite suponer que (ECET-TTL) se adquiere más fácilmente por una fuente comun que por contagio. La distribución de aislamiento en individuos sin diarrea (asintomáticos) fué del 8.5% la presencia de portadores asintomáticos en la comunidad rural se puede explicar si tomamos en cuenta que en el humano ocurre la respuesta inmune hacia

ECET-TTL (tanto en suero como en intestino) a los 8 y 10 días después de la infección en el 90.0% de los casos. Por otra parte en la tabla No. 7 se observa que los individuos asintomáticos que tuvieron mayor distribución de aislamiento fueron los mayores de 5 años, los que probablemente ya han estado infectados por ECET-TTL y desarrollaron respuesta inmune (13,17,18,48). En más del 50.0% de los casos colonizados por ECET-TTL se ha demostrado la presencia de anticuerpos específicos contra los factores de adherencia de la bacteria CFA/I y CFA/II (colonization factor antigen) que le permite a la bacteria adherirse a la mucosa del intestino delgado, impidiendo con ello la colonización y la elaboración de toxina "in situ" (18,23,25,40,49). Este fenómeno constituye quizá la base más importante de la inmunología en los individuos portadores que a pesar de ser infectados no enferman y de esta manera constituyen un reservorio de ECET-TTL para la comunidad.

La distribución de aislamiento en individuos sin diarrea (asintomáticos) fué del 8.5% (tabla 3), la presencia de estos portadores asintomáticos en la comunidad rural se explica si tomamos en cuenta que en el ser humano ocurre la respuesta inmune hacia ECET-TTL (tanto en suero como en el intestino) a los 8 y 10 días después de la infección en un 90% de los casos (2, 8,16,55).

Con respecto a la edad los individuos menores de 5 años se enferman e infectan más que los individuos mayores de 5 años (tablas 6 y 7) debido quizá a que como ya lo mencionamos, los mayores de 5 años han mantenido ya un contacto con ECET-TTL, lo que ha inducido en ellos la respuesta inmune contra los facotes de colonización CFA/I y CFA/II, o hacia la toxina termolábil de tal manera que aunque se encuentren infectados no enferman, en tan

to que los menores de 5 años si enferman por este germen, carentes quizá de respuesta inmune (3,12,13,17,18,29).

La diarrea provocada por ECET-TTL fue aguda (tabla No. 8) teniendo una duración de 5 a 7 días, los resultados obtenidos nos indican que 15 de los episodios (75.0%) tuvieron menos de 10 días de duración de diarrea. El número de evacuaciones fué en el 90.0% de los casos menor a 10 durante 24 horas. Por lo que respecta a otros síntomas las evacuaciones con sangre y la disentería se presentaron en el 20.0% y 10.0% de los casos respectivamente sin que se asociaran a la presencia de Shigella spp. (Enteropatógeno invasivo y Enterohemorrágico) lo que nos lleva a pensar en la posible presencia de Escherichia coli Enterohemorrágica productora de toxina shiga-like, causante de diarrea hemorrágica similar a la producida por Shigella spp., como causante de tales síntomas, en el presente estudio no se determinó la presencia de Escherichia coli enterohemorrágica productora de toxina shiga-like. Debido a que en los estudios de incidencia y prevalencia de Escherichia coli invasiva en nuestro país y la prevalencia e incidencia de Escherichia coli invasiva ha sido muy baja considero importante descartar la participación de E. coli invasiva como la causante de estos síntomas (10, 20,28,35).

Las características de composición y ambiente familiar de Cadereyta de Montes, Qro. (tablas 9 y 10) no determinaron que existiese una menor o mayor prevalencia de ECET-TTL asociada a los casos de diarrea y a que tanto en familias con aislamiento de ECET-TTL las características son similares y no presentaron diferencias significativas, sin embargo en las tablas se observa claramente que la práctica del fecalismo al aire libre, la convivencia



con animales domésticos, el analfabetismo y la ocupación en las labores del campo, favorecen una mayor distribución de aislamiento de ECET-TTL en las familias con dichas características con respecto a aquéllas con otros hábitos y otras ocupaciones (63). Por lo anterior podemos inferir que ECET-TTL se ve favorecida, al igual que otros agentes etiológicos, por estos hábitos y ocupaciones de tal manera la prevalencia e incidencia es mayor en una comunidad rural con respecto a la comunidad urbana (63).

El análisis de diseminación de ECET-TTL en las familias completas (tasas de ataque secundario y tasa de infectividad) no arrojó resultados significativos que permitan extrapolarlo. Observamos que, aparentemente ECET-TTL es adquirida por una fuente común y no por contagio y que el efecto producido por ECET-TTL no prevalece en las segundas muestras, pero que los individuos se infectan más fácilmente cuando han estado en contacto con un miembro de la familia que ha enfermado por ECET-TTL tabla 11.

#### CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

De la discusión anterior podemos concluir que Escherichia coli enterotoxigénica productora de toxina termolábil (ECET-TTL) es una causa importante de diarrea en la comunidad rural estudiada. La mayor distribución de aislamiento de ECET-TTL en la comunidad rural con respecto a la comunidad urbana se ve favorecida por la práctica del fecalismo al aire libre, la convivencia con animales domésticos, el analfabetismo y la ocupación en las labores del campo, que en la comunidad rural estudiada juegan un papel muy importante como factores de riesgo. Por lo anterior se considera importante sugerir para estudios posteriores en comunidades rurales el análisis para la determinación de ECET-TTL en el agua, animales domésticos jóvenes y

excretas y alimentos de la comunidad y de esta forma determinar de manera simultánea cuál es la fuente o las fuentes comunes de infección.

Durante el verano se observa la mayor prevalencia e incidencia de episodios de diarrea causados por ECET-TTL, por lo que se considera indispensable fomentar las campañas de higiene donde se traten diversos temas como: planificación familiar, alimentación durante el primer año de vida, higiene personal, desnutrición, complicaciones de la diarrea, deshidratación y rehidratación oral así como el control del niño sano.

Ya que los individuos menores de 5 años enfermos cuando son colonizados por ECET-TTL, en tanto que los mayores de esta edad se infectan pero no enferman, aparentemente porque un contacto previo con este germen desencadena en ellos la respuesta inmune del huésped, se sugiere para estudios poste - riores determinar si existe alguna correlación entre la infección por (ECET-TTL) y la respuesta inmune específica a los factores de colonización (CFA/I y CFA/II).

Siendo los individuos menores de 5 años los más susceptibles a enfermarse por ECET-TTL y tomando en cuenta que la subunidad B de la toxina termolábil tiene la habilidad de introducir la respuesta antitoxigénica en la mucosa intestinal del ratón cuando se inyecta intraperitonealmente y si la correlación entre la infección por ECET-TTL y los factores de colonización sea significativa, sería importante llevar a cabo un estudio para elaborar una vacuna que antagonice a ECET-TTL y utilizarla como método inmunoproláctico durante los primeros 6 meses de vida, y de esta manera poder reducir la incidencia y prevalencia de diarreas por ECET-TTL en los menores de 5 años.

Debido a que parte de los episodios de diarrea causados por ECET-TTL presentaron evacuaciones con sangre y disentería (20.0% y 10.0% respectivamente) sin que se hubiese aislado Shigella, sugerimos para estudios epidemiológicos posteriores que se determina la presencia de Escherichia coli enterohemorrágica productora de toxina Shiga-like que provoca diarreas con evacuaciones con sangre y disentería (8,13,21) ya que debido a la aparición de estos síntomas en los episodios de diarrea asociados a ECET-TTL suponemos que Escherichia coli enterohemorrágica pudiera ser una causa importante de diarrea en la comunidad rural.

En el anterior trabajo se abordó parte de un problema de salud importante para nuestro país como es la diarrea (10,20,28,35) por lo que se espera que los resultados obtenidos en este estudio sean utilizados para prevenir el padecimiento causado por este germen y de esta manera contribuir a superar los problemas de salud de nuestro país.

A P E N D I C ECepas bacterianas

| Clase                                  | Características o propiedades   |
|--|---|
| <u>E. coli</u> H-10407 H <sup>-</sup>  | Producción de toxina termolábil, efecto citopático en células CHO-K1        |
| <u>E. coli</u> nativa o silvestre K-12 | No productora de toxina termolábil, sin efecto citopático en células CHO-K1 |

Antibióticos

| Tipo           | Laboratorio o proveedor                                  |
|----------------|--|
| Anfotericina B | E.R. Squibb and Sons Inc. Princeton N.J. 09540 USA       |
| Lincomicina    | Donado por Laboratorios UP-JOHN de México. México, D. F. |

Solución de penicilina/  
Estreptomina 10,000 U/meg/ml.

Enzimas

|                   |   |
|-------------------|---|
| Tripsina 0152/159 | Difco Laboratories. Detroit Michigan U.S.A. |
|-------------------|---|

Toxinas

|                 |   |
|-----------------|---|
| Toxina colérica | Sigma Chemical Company P.O. Bos 1450 St. Louis, M.D. 63178 U.S.A. |
|-----------------|---|

Medios de cultivo

Caldo de infusión cerebro corazón-glicerol (BHI-glicerol (BHI-glicerol 15.0%.

Difco

31.4 g/850 ml. de agua DD más 150 ml. de glicerol (100.0%), esterilizar por 15 minutos a 121°C pH final 7.4

Medio CAYE, descrito por Evans (38)

Casaminoácidos (Merck) ..... 20 g/l

Extracto de levadura (Difco)... 1.5 g/l

NaCl..... 2.5 g/l

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ..... 0.05 M.

Esterilizar en el autoclave por 20 minutos a 10 lb/sq in por 20 minutos, antes de adicionar las siguientes sales, a la concentración indicada.

MgSO<sub>4</sub>..... 0.005%

MnCl<sub>2</sub>..... 0.005%

FeCl<sub>3</sub>..... 0.005%

Adicionar 1 ml. de lincomicina (antibiótico), a la concentración indicada.

Lincomicina..... 45 microgramos por ml. pH final 8.5

Gelosa especial

Base para gelosa sangre..... 20 g/l

Agar bacteriológico..... 15 g/l BIOXON

Extracto de carne..... 1.5 g/l

pH final 7.4

Esterilizar a 15 lb/sq in por 20 minutos.

Mc. Conkey agar Bioxon

50 g/l esterilizar en el autoclave, 15 lb/sq in por 15 minutos.

Tripticaseína soya agar (TSA).

31 g/l esterilizar en el autoclave 15 lb/sq in por 15 minutos.

Xilosa lisina desoxicolato agar (XLD agar). BIOXON

55 g/l calentar y transferir inmediatamente a un baño maría a 50°C, vaciar en las placas tan pronto como se haya enfriado.

#### Medios para la identificación bioquímica

Agar de hierro de Kigler (producción de H<sub>2</sub>S, producción de gas, (utilización de lactosa).

52 g/l esterilizar en el autoclave 15 lb/sq in por 15 minutos.

Agar de hierro lisina (LIA) Bioxon.(descarboxilación de lisina) 24.2 g/l esterilizar en el autoclave 15 lb/sq in por 15 minutos.

Agar citrato de Simons (utilización de citrato). Bioxon 33.1 g/l esterilizar en el autoclave 15 lb/sq in por 15 minutos.

Malonato Bioxon (utilización de malonato).  
9.3 g/l esterilizar en el autoclave 15 lb/sq in por 15 minutos.

Medio para movilidad MIO Bioxon (movilidad, producción de indol utilización de ornitina).  
31 g/l. esterilizar en el autoclave 15 lb/sq in por 15 minutos.

Urea Bioxon (utilización de urea).  
10 g/l esterilizar en el autoclave 15 lb/sq in por 15 minutos.

#### Medios para cultivo de células.

| Medio o complemento   | Proveedor                         |
|---|-----------------------------------|
| Medio basal de Eagle MEM 10X, con sales de Earle, L-glutamina sin bicarbonato de sodio. ME-001. | In Vitro, S.A. México, D.F. 06700 |
| Medio de Ham-F <sub>12</sub> 10X con L-glutamina, sin bicarbonato de sodio.                     | In Vitro, S.A. México, D.F. 06700 |
| Buffer para tripsina, solución de fosfatos EN-004.  | In Vitro, S.A. México, D.F. 06700 |
| L-glutamina 200 mM.   | In Vitro, S.A. México, D.F. 06700 |
| Microplacas para microensayo 96 pozos (0.3 cm <sup>3</sup> /pozo).                              | In Vitro, S.A. México, D.F. 06700 |
| Suero fetal de bovino 100 ml. S 01  | In Vitro, S.A. México, D.F. 06700 |

#### Reactivos químicos.

|                       |  |
|-----------------------|--|
| Acido clorhídrico     | J.T. Baker, S.A. de C.V. México            |
| Bicarbonato de calcio | Merck de México, S.A. México, D.F.         |
| Cloruro férrico       | Maallin Ckrodt Chemical Works<br>St. Louis |
| Cloruro de manganeso  | Merck de México, S.A. México, D.F.         |
| Cloruro de magnesio   | Merck de México, S.A. México, D.F.         |
| Cloruro de potasio    | Merck de México, S.A. México, D.F.         |
| Cloruro de sodio      | Merck de México, S.A. México, D.F.         |

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| E.D.T.A. (disódica)         | J.T. Baker, S.A. de C.V. México                              |
| Etanol                      | Productos Químicos Monterrey, S.A.<br>Monterrey, N.L. México |
| Fosfato de potasio dibásico | Productos Químicos Monterrey, S.A.                           |
| Fosfato de sodio dibásico   | Productos Químicos Monterrey, S.A.                           |
| Glicerol                    | Merck de México, S.A. México, D.F.                           |
| Hidróxido de sodio          | Merck de México, S.A. México, D.F.                           |
| Sulfato de Manganeso        | Merck de México, S.A. México, D.F.                           |
| Sulfato de magnesio         | Merck de México, S.A. México, D.F.                           |

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alleva J.J. and Lammana C. Characterization of Uterine Growth Response to Cholerae Toxin in Hamsters and Test of Heat-Labile Enterotoxin from Escherichia coli. J. of Clinical Microbiology 1984, 20:506-508.
- 2.- Black R. Incidence and Severity of Rotavirus and Escherichia coli - Diarrhoea in Rural Bangladesh. The Lancet 1981, 17:141-143.
- 3.- Bergman M. and Udpiké W.S. Attachment Factors Among Enterotoxigenic - Escherichia coli from Patients with Acute Diarrhea from Diverse Geographic Areas. Infection and Immunity 1981, 32:881-888.
- 4.- Beutin L. and Bodeville. Rapid Visual Detection of Escherichia coli and Vibrio cholerae Heat-Labile Enterotoxins by Nitrocellulose Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. J. of Clinical Microbiology 1984, 19:371-375.
- 5.- Brayle R.S. Enterotoxigenic Escherichia coli: Identification and characterization. The Journal of Infectious Diseases 1980, 142:279-286.
- 6.- Bramucci M.G. and Twiddy E.M. Isolation and Characterization of Hyper-toxigenic (htx) Mutants of Escherichia coli KL320 (PC686). Infection - and Immunity 1981, 32:1034-1044
- 7.- Brill B.M. and Wasilauskas B.L. Adaptation of Stafilococcal Coagulatin Technique for Detection of Heat-Labile Enterotoxin of Escherichia coli. J. of Clinical Microbiology 1979, 9:49-55.
- 8.- Candy D.C. and Neish Mc. Human Escherichia coli Diarrhea. Archive of Disease in Childhood 1984, 59:395-396.
- 9.- Callahan L. and Richardson S. Biochemistry of the Vibrio cholerae virulence. Infection and Immunity 1973, 7:567-572
- 10.- Chacón G.A. Determinación de la Toxina Termolábil e Invasividad en Cepas de Escherichia coli en Niños Internados en el Hospital de Pediatría



del Centro Médico Nacional 1979. Tesis Profesional IMSS-ENCB.

- 11.- Censo General de Población y Vivienda (X) 1980. Estado de Querétaro. Volumen II, Tomo 22, México 1982. Secretaría de Programación y Presupuesto, Coordinación General de Servicios Nacionales de Estadística, - Geografía e Informática.
- 12.- Clements J. D. and Marshid Y.E. Construction of Potential Live Oral - Vaccine for Typhoid Fever and Cholera Escherichia coli Related Diarrhea. *Infection and Immunity* 1984, 151:114-123.
- 13.- Cushing A.H. and Smart J. Gastrointestinal Carriage of Toxigenic and - Non Enterotoxigenic Escherichia coli. *J. of Clinical Microbiology* 1980, 12:264-270.
- 14.- De Boy M. and Wachmuth K. Antibiotic Resistance in Enterotoxigenic and Non Enterotoxigenic Escherichia coli. *J. of Clinical Microbiology* 1980, 12:193-198.
- 5.- De Boy M. and Wachmuth K. Hemolytic Activity in Enterotoxigenic and - Non Enterotoxigenic Escherichia coli. *J. of Clinical Microbiology* 1980, 12:193-198.
- 16.- De Boy M. and Wachmuth K. Serotypes of Attachment Pili of Enterotoxigenic Escherichia coli Isolated in the United States. *Infection and Immunity* 1980, 29:361-168.
- 17.- Deez T.R. and Evans D.J. Serologic Responses to Somatic O and Colonization Factors Antigens of Enterotoxigenic Escherichia coli in Travelers. *J. of Infectious Diseases* 1979, 140:114-118.
- 18.- Deneke C.F. and Thorne G.M. Serotypes of Attachment Pili of Enterotoxigenic Escherichia coli Isolated from Humans. *Infectious and Immunity* 1981, 32:1254-1260.

- 19.- Donta S.T. Detection of Heat-Labile Escherichia coli Enterotoxins with the Use Adrenal Cell in Tissue Culture. Science 1974, 183:324-336.
- 20.- Donta W.R. and Whipp S.C. Enterotoxigenic Escherichia coli and Diarrhoea Disease in Mexican Children. J. of Infectious Diseases 1977, 135:452-457.
- 21.- Echeverria P. and Verhert L. Detection of Heat-Labile Enterotoxin-Like Activity in the Stools of Patients with Cholera and Escherichia coli - Diarrhea. Infection and Immunity 1978, 19:343-344.
- 22.- Echeverria P. and Serivatona J. Prevalence of Heat-Stable II Enterotoxigenic Escherichia coli in Pigs, Water and, People at Farms in Thailand as Determines by DNA Hibridization. J. of Clinical Microbiology 1984, - 19:489-491.
- 23.- Eshdat Y. Isolation of Mannose Specific Lecitin from Escherichia coli and Hs Role in the Adherence of the Bacteria to Epitelial Cells. Biochemical and Biophysical Research Coomunications 1978, 85:1151-1159.
- 24.- Evans D.G. and Evans D. Jr. Identification of Enterotoxigenic Escherichia coli and Serum Antitoxin Activity by Vascular Permeability Factor Assay. Infection and Immunity 1973, 18:731-735.
- 25.- Evans D.G. and Evans D. Jr. Plasmid Controlled Colonization Factor - Associated with Virulence in Escherichia coli Enterotoxigenic from Humans. Infection and Immunity 1975, 12:656-667.
- 26.- Evans D. Jr. and Evans D.G. Purification of the Polimyxin Released, - Heat-Labile Enterotoxin of the Escherichia coli. J. of Infectious Diseases 1976, 133:S79-S102.
- 27.- Evans D. Jr. and Evans D.G. Hemmagglutination typing of Escherichia coli: Definition of Seven Hemmagglutination Types. J. of Clinical Microbiology 1980, 12:235-242.

- 28.- Evans D.G. and Olarte D. Enteropathogens in Children with Diarrhoea - in Mexico City. J. of Pediatr. 1977, 91:65-67.
- 29.- Evans D.G. and Evans D. Jr. Hemmagglutination of Human Group A Erythrocytes by Enterotoxigenic Escherichia coli Isolated from Adults with Diarrhea: Correlation with Colonization Factor. Infection and Immunity - 1977, 18:430-437.
- 30.- Evans D.G. and Evans D. Jr. Hemmagglutination Typing of the Escherichia coli: Definition. J. of Clinical Microbiology 1980, 12:235-242.
- 31.- Finkestein R. and Zhengshi Y. Rapid Test for the Identification of the Heat-Labile Enterotoxin Producing Escherichia coli colonies. J. of - Clinical Microbiology 1983, 18:23-28.
- 32.- Finkestein R. and La Rue M.K. Isolation and Properties of Heat-Labile Enterotoxigenic Escherichia coli. J. Infectious Diseases 1976, 133: - S120-S137.
- 33.- Formal S.B. Summary. J. of Infectious Diseases 1977, 136:S130-S131.
- 34.- Formal S. and Hornick R.B. Invasive Escherichia coli. J. of Infectious Diseases 1978, 137:641-644.
- 35.- Gallardo R.G. Aislamiento e Identificación de Cepas de Escherichia coli Enterotoxigénica en Muestras Diarreicas. 1984, SSA-UFM.
- 36.- Guerrant R.B. and Schautman D. Cyclic Adenosine Monophosphate and - Alteration of Chinese Hamster Ovary Cell Morphology: A Rapid, Sensitive in vitro Assay for the Enterotoxins of Vibrio cholerae and Escherichia coli. Infection and Immunity 1974, 10:320-327.
- 37.- Guill D.M. and Evans D. Jr. Mechanism of the Activation of Adenylate Cyclase in vitro by Polymixin Released Enterotoxin of Escherichia coli. J. of Infectious Diseases 1976, 133:S103-S107.

- 38.- Giugliano L.G. and Drasar B.S. The Influence of the Drugs in the Response of a Cell Culture Preparation to Bacterial Toxins. *J. of Medical Microbiol.* 1984, A:151-158.
- 39.- Gurwith M. and Wiseman D.A. Clinical and Laboratory Assessment of the Pathogenicity of Serotyped Enteropathogenic Escherichia coli. *J. of Infectious Diseases* 1977, 135:736-743.
- 40.- Hartley C.L. and Robbins C.M. Quantitative Assessment of Bacterial Adhesion to Eucariotic of Human Origin. *J. of Applied Bacteriology* - 1978, 45:91-97.
- 41.- Hirst T. and Randall L. Cellular Localization of Heat-Labile Enterotoxin in Escherichia coli. *Journal of Infectious Diseases* 1984, 157: 637-642.
- 42.- Honda T. and Arita M. Further Evaluation of the Biken Test to Sampling (Modified Elek Test) for the Detection of Enterotoxigenic Escherichia coli Producing Heat-Labile Enterotoxin. *J. of Clinical Microbiology* - 1984, 16:60-62.
- 43.- Konowalchutk J. Properties of an Escherichia coli Cytotoxin. *Infection and Immunity* 1980, 20:575-577.
- 44.- Kunkel S.L. and Robertson D. Factor Affecting Release of Heat-Labile - Enterotoxin Escherichia coli. *Infection and Immunity* 1979, 22:652-659.
- 45.- Henriqueta M. and Matos D.P. Relationship Among Enterotoxigenic Phenotypes, Serotypes and Sources of Strains Enterotoxigenic Escherichia coli. *Infection and Immunity* 1980, 28:24-27.
- 46.- Holgren J. Actions of Cholera Toxin and Prevention and the Treatment Cholera. *Nature* 1981, 292:13-16.

- 47.- Lennete E.H. and Balows A. Manual of Clinical Microbiology. Fourth Edition 1985. Enterobacteracea 263-278.
- 48.- Levine M. and Kaper J. New Knowledge on Pathogenesis of Bacterial Enteric Infections as Applied to Vaccine Development. Microbiological - News 1983, 47:510-550.
- 49.- Mc. Connell M. and Smith H.R. Plasmid Coding for Colonization Factor Antigen I and Heat-Stable Enterotoxin Producing Isolated from Enterotoxigenic Escherichia coli. J. Medical Microbiol. 1983, 12:13-14.
- 50.- Mullan N.A. and Burges M.N. Characterization of Partially Purified - Methanol-Soluble Heat-Stable Escherichia coli Enterotoxin in Infant - Mice. Infection and Immunity 1978, 19:779-784.
- 51.- Muñoz H.O. y Coello R.P. Gastroenteritis Infecciosa Aguda. Etiología y su Correlación con las Manifestaciones Clínicas y el Moco Fecal. - Arch. Invest. Med. 1979, 10:135-137.
- 52.- O'Brien A.O. and Gentry M.K. Shigellosis and Escherichia coli Diarrhea: Relative Importance of Invasive and Toxigenic Mechanism. The American Journal of Clinical Nutrition 1980, 32:229-233.
- 53.- Payne S.M. and Finkestein R.A. Detection and Differentiation of Iron Responsive Avirulent Mutants on Congo Red Agar. Infection and Immunity 1977, 18:94-98.
- 54.- Programa IMSS-COPLAMAR (1985). Diagnóstico Situacional del Hospital - Rural "S" No. 42 de Cadereyta de Montes, Qro. México.
- 55.- Rappaport F. Stimulation of Heat-Labile Escherichia coli Enterotoxin by Tripsin. J. of Infectious Diseases 1976, 133:S41-S54.
- 56.- Ryder R. and Kaslov R.A. Evidence for the Enterotoxin Production by a Classic Enteropathogenic Serotyped of Escherichia coli. J. of Infectious Diseases 1979, 140:626-628.

- 57.- Sack B. Enterotoxigenic Escherichia coli Identification and Characterization. J. of Infectious Diseases 1980, 142:279-286.
- 58.- Sánchez C.J. Expression of the Gene Encoding the Subunit B of the Heat-Labile Enterotoxin of Escherichia coli When Cloned in PBR-322 of the PACYC 184, 1982. A dissertation Submitted for the Degree of Doctor. University of Bristol.
- 59.- Secretaría de Salud y Gobierno del Estado de Querétaro (1982). Diagnóstico de la Situación de Salud del Estado de Querétaro. Secretaría de Programación y Presupuesto. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- 60.- Scotland N.P. and Daj A. Production of Heat-Labile of Heat-Stable Enterotoxins by Strains of Escherichia coli Belonging to Serogroups O44, O124 and O128. Infection and Immunity 1981, 31:500-503.
- 61.- Sistema de Encuestas de Salud, Marco Muestral Maestro, Prueba Piloto. Prueba Piloto para la Formación del Marco de Muestreo del Sistema de Encuestas sobre Morbilidad, Mortalidad y Tratamiento de Diarreas. Secretaría de Salud, Subsecretaría de Servicios de Salud, Subsecretaría de Planeación; Secretaría de Programación y Presupuesto; Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Julio-Agosto 1985.
- 62.- Velasco A. and Mateos M. Three Years Prospective Study of Intestinal Pathogens in Madrid Spain. J. of Clinical Microbiology 1984, 20:290-292.
- 63.- Vendale T.S. y colaboradores. Glosario Breve de Epidemiología. Rev. Fac. Med. Méx. 1980, 23:14-25.
- 64.- Wayne W.O. Bioestadística: Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. 3va. Ed. 1982.