

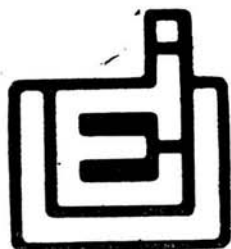


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACION
DE ENTEROPATOGENOS EN NIÑOS Y ADULTOS
CON Y SIN DIARREA DE UNA COMUNIDAD
URBANA DE LA CIUDAD DE MEXICO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
CARMEN RAMIREZ PADILLA



Los Reyes Iztacala

1990



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
ANTECEDENTES.....	18
OBJETIVO.....	20
AREA DE ESTUDIO.....	20
MATERIAL Y METODOS.....	20
RESULTADOS.....	32
ANALISIS DE RESULTADOS.....	38
DISCUSION.....	41
CONCLUSIONES.....	43
BIBLIOGRAFIA.....	44

Dedico este trabajo con mucho cariño

A mis padres:

Isidro y Lidia

A mis hermanos

A ti Gervacio

A Elsita

Quiero manifestar mi más sincero agradecimiento a la Q.F.B. Silvia González Arroyo por su ayuda y asesoría durante la realización de este trabajo.

Agradezco de manera muy especial al profesor Agustín Ruíz por su colaboración e interés en la terminación de este trabajo.

A la Dra. Josefina Torres y al Biol. Jesús Medina, por sus acertados comentarios para mejorar este trabajo, les doy las gracias.

A todas aquellas personas que de alguna u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo les doy las gracias.

Este trabajo fue realizado en la Unidad de
Investigación Clínica en Enfermedades Infecciosas y
Parasitarias, del Instituto Mexicano del Seguro
Social, bajo la dirección de la Q.F.B. Silvia
González Arroyo.

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE

ENTEROPATOGENOS EN NINOS Y ADULTOS CON Y SIN

DIARREA DE UNA COMUNIDAD URBANA DE LA

CIUDAD DE MEXICO

FRECUENCIA DE AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE
ENTEROPATOGENOS EN NIÑOS Y ADULTOS CON Y SIN
DIARREA DE UNA COMUNIDAD URBANA DE LA CIUDAD DE
MEXICO.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la etiología de la diarrea infecciosa aguda en niños y adultos de consulta externa, y de igual manera determinar microorganismos potencialmente patógenos en individuos sin problemas gastrointestinales.

De mayo a diciembre de 1987, en la clínica de primer nivel de atención médica # 22 del Instituto Mexicano del Seguro Social se estudiaron 184 pacientes y 44 controles.

A las muestras se les realizó: búsqueda de Giardia y Amiba en fresco, coprocultivo e identificación de rotavirus.

En la investigación de Entamoeba histolytica y Giardia lamblia sólo fueron considerados los trofozoítos. Una preparación teñida con la técnica de ácido-resistencia modificada por Kinyoun se realizó para la investigación de ooquistes de Cryptosporidium. Se efectuó la cuenta diferencial de células polimorfonucleares con el colorante azul de metileno. Para el aislamiento de Shigella y Salmonella se emplearon los medios selectivos; agar Mac Conkey, agar SS, agar XLD, agar Tergitol-7 y agar entérico de Hektoen (He), en forma directa y con previo enriquecimiento en caldo Selenito-F. El aislamiento de Aeromonas hydrophila se efectuó utilizando gelosa sangre con ampicilina y agar XDCA. Campylobacter spp. se aisló con el medio de Skirrow modificado en forma directa e indirecta utilizando caldo

tioglicolato. Para el aislamiento de Yersinia enterocolitica se empleó agar-Yersinia con y sin previo enriquecimiento en caldo-Yersinia. La identificación de rotavirus se realizó empleando la técnica inmunoenzimática de Rotazyme II.

La frecuencia de determinación para los enteropatógenos investigados en pacientes y controles fueron respectivamente: Shigella spp. (11.4 y 4.5 %), rotavirus (6.7 y 4.5 %), Salmonella spp. (3.8 y 6.8 %), Aeromonas hydrophila (1.6 y 2.3 %), Campylobacter spp. (1.6 y 2.3 %), Giardia lamblia (2.7 y 0.0 %), Entamoeba histolytica (0.5 y 0.0 %) y Cryptosporidium spp. (0.5 y 0.0 %). No se aisló Yersinia enterocolitica. De los enteropatógenos estudiados, los rotavirus fueron las entidades más frecuentes encontradas en el grupo de pacientes menores de cinco años de edad, y Shigella spp. en los demás grupos etáneos. Las infecciones mixtas representaron 2.2%. En el estudio de moco fecal en 52.4% de los cuadros producidos por Shigella spp. y en el 14.3% de los producidos por Salmonella spp. se observaron de 10 a más leucocitos polimorfonucleares por campo.

INTRODUCCION

La diarrea infecciosa aguda es causa de enfermedad en todo el mundo, y constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad, siendo un padecimiento frecuente en niños de los países en desarrollo. Aproximadamente 750 millones de niños menores de cinco años enferman de gastroenteritis cada año en América Latina, Asia y África (47).

Las diarreas causan casi 5 millones de muertes por año en menores de 5 años en países en desarrollo, con exclusión de China. En cada 100 niños de dicha edad se registran en promedio 220 episodios de diarrea y 1.4 muertes por año son atribuidas a ella (47).

Aunque la mortalidad por gastroenteritis muestra una marcada tendencia a disminuir en nuestro país principalmente por el mejoramiento de las condiciones básicas de saneamiento y la extensión de los servicios médico asistenciales, Para 1981 ocupaba el cuarto lugar como causa de mortalidad general (50.2 por 100,000 habitantes) (21). En los menores de 5 años es más elevada (379.3 por 100,000 habitantes); y representa el 42.7% de las defunciones (8).

En la República Mexicana la gastroenteritis ocupó el segundo lugar de morbilidad, con 3,204,419 casos notificados durante 1985 (21), con una prevalencia lápsica de 16.3% en los niños menores de cinco y un promedio de 4.9 episodios diarreicos por niño por año.

Estudios socioeconómicos confirman, que cuando la vivienda cuenta con servicios sanitarios adecuados y a ello se asocia la educación higiénica, disminuye significativamente la morbilidad y la mortalidad por enfermedades diarreicas. Por otra parte, existe una acción sinérgica entre las enfermedades infecciosas entéricas y la

malnutrición, esta última sea como causa básica o asociada de muerte (20). En los países en desarrollo, es de particular importancia el fomento de la nutrición adecuada, el abastecimiento suficiente de agua potable y el saneamiento básico; los que deben formar parte esencial de la atención primaria de salud.

En investigaciones realizadas en nuestro país, se ha observado que la mayoría de las defunciones por diarrea infecciosa aguda son consecuencia de la deshidratación, el manejo dietético y el tratamiento inadecuado (8, 16, 17, 18).

El estudio realizado por Gutiérrez, G. y cols. (18) en 1982 y 1983 en el medio rural mexicano, logró establecer que la alta morbilidad y mortalidad por diarrea infecciosa es debida a la deshidratación y al tratamiento inadecuado del padecimiento; la información obtenida destaca la necesidad de promover campañas de hidratación oral, y otras igualmente intensivas de educación médica para el correcto uso de antimicrobianos, mediante la difusión de normas terapéuticas de fácil aplicación en la práctica médica.

En la Ciudad de México, Guiscafré, H. y cols. (17), realizaron una investigación en 1987, con el objeto de evaluar una estrategia para modificar la conducta terapéutica de los médicos de dos unidades de atención primaria, en relación con la diarrea aguda; lo anterior fue mediante la impartición de un taller de trabajo dirigido al personal médico. El objetivo de la estrategia fue lograr un incremento en el uso de la hidratación oral en los niños menores de cinco años y disminuir el uso de antimicrobianos y de dietas restrictivas o ayuno en todos los pacientes. Se observó una modificación significativa en la conducta terapéutica de los médicos que asistieron al taller: a) reducción en la frecuencia de prescripción de antimicrobianos; de

76.3% a 40.6%; b) incremento en el uso de la hidratación oral en los niños menores de cinco años: 33.5% a 62.3%; y c) incremento en la prescripción de dietas no restrictivas: de 53.5% a 88.3%. Las diferencias fueron estadísticamente significativas.

La etiología de la diarrea infecciosa aguda puede ser de origen viral, bacteriano o parasitario. Las diarreas se pueden dividir en dos grupos: las causadas por patógenos invasores, que característicamente destruyen la mucosa intestinal (*Salmonella*, *Shigella*); y las originadas por patógenos no invasores que secretan enterotoxinas que ocasionan secreción rápida y profusa de fluido a través de la mucosa del intestino delgado (*E. coli* enterotoxigenica, *V. cholerae* y *G. lamblia*). Los cuadros diarreicos producidos por enteropatógenos con poder invasor, se acompañan de una característica clínica constituida por la existencia de leucocitos polimorfonucleares en el moco fecal. Este fenómeno nos lleva a considerar la importancia del estudio del moco fecal, dato clínico que orienta al diagnóstico etiológico, a la localización anatómica del daño y el grado de inflamación de la mucosa (34, 37, 42). En el estudio realizado por Muñoz, O. y cols. (34) un hallazgo clínico lo constituyó la diferente correlación de los agentes invasores con la existencia de leucocitos polimorfonucleares en el moco fecal; en el 75 por ciento de los casos con *Shigella*, y en el 40 por ciento de los producidos por *Salmonella* se observaron leucocitos polimorfonucleares en el moco fecal.

En el presente siglo se han realizado esfuerzos a nivel mundial para disminuir la morbilidad y mortalidad por diarrea, logrando avances sustanciales en la identificación de nuevos agentes causales, sus mecanismos de patogenicidad y los trastornos fisiopatológicos que caracterizan al síndrome diarreico agudo. Aproximadamente hace 15

años, el agente etiológico podía ser determinado en solo 15-20% de los casos; en la actualidad es posible establecer el diagnóstico etiológico en un 70-80%, lo cual facilita el tratamiento oportuno y contribuye al reconocimiento temprano de epidemias y permite la evaluación y aplicación de medidas de intervención específicas (27).

El presente trabajo incluye la determinación de: rotavirus, Salmonella spp., Shigella spp., Yersinia enterocolitica, Aeromonas hydrophila, Campylobacter spp., Entamoeba histolytica, Giardia lamblia y Cryptosporidium spp.; de los cuales a continuación se describen algunos aspectos relevantes.

Rotavirus

Patogénesis. El virus invade la mucosa del duodeno y otras partes superiores del intestino delgado, multiplicándose en los enterocitos de la región terminal de las vellocidades, sin que se afecten las células indiferenciadas de las criptas. Las vellocidades se acortan y se pierde gran parte del epitelio columnar, el cual se transforma en cuboide o escamoso simple. Las alteraciones observadas en las células que poseen las funciones de absorción inclusive la disminución de disacaridasas, podrían ser la causa de la diarrea. Sin embargo, al igual que ocurre con el agente Norwalk, se desconoce el mecanismo íntimo del proceso patológico (38).

Características Clínicas. Las manifestaciones que presentan los pacientes con infección por rotavirus pueden incluir: diarrea de menos de una semana de duración, con fiebre poco importante, evacuaciones líquidas abundantes, regularmente sin presencia de moco ni sangre, ausencia de polimorfonucleares, vómito que puede preceder a la diarrea, deshidratación de diversa intensidad e intolerancia

transitoria a la lactosa (34). Han sido reportados casos de muerte en recién nacidos y lactantes, en los cuales la infección se acompaña de deshidratación severa (35, 37).

Características Epidemiológicas. Los rotavirus son la causa más común de diarrea en el niño menor de dos años; presenta una distribución universal. En México los estudios practicados han determinado a rotavirus como causa del 15 al 25% de los casos de diarrea aguda (35, 46). Las infecciones asintomáticas o de curso subclínico pueden presentarse en el recién nacido y en el adulto (4). El mecanismo de transmisión es de manera directa, por vía fecal-oral y diseminación nosocomial en hospitales pediátricos. La incubación se estima en un período de 24 a 42 horas. Se han reportado rotavirus en heces o evacuaciones diarreicas de numerosas especies de mamíferos (4).

Salmonella spp.

Patogénesis. Salmonella es una bacteria con poder invasor y algunas cepas elaboran una enterotoxina. Aparentemente a nivel de mucosa la invasión y producción de enterotoxina son necesarias para producir el daño. El microorganismo invade la pared del ileon y colon, provocando reacción inflamatoria; con frecuencia penetra hasta los ganglios linfáticos mesentéricos y corriente sanguínea, provocando bacteremia. La enterotoxina descrita es una enterotoxina termoestable, aún no bien caracterizada. S. typhimurium elabora una enterotoxina que está relacionada antígenicamente con la toxina del cólera (37, 44).

Características Clínicas. Salmonella causa gastroenteritis de diversa intensidad y duración. La presentación típica de la gastroenteritis

por especies de *Salmonella* es diarrea autolimitable, náusea, molestias abdominales, cefalea, fiebre, deshidratación y malestar general. Ocasionalmente puede haber vómito y escalofríos. Las evacuaciones diarreicas a veces presentan sangre, moco y leucocitosis, siendo en ocasiones de tipo francamente disenteriforme (23,44). La fiebre entérica (tifoidea y paratifoidea) presenta un espectro de severidad amplio, que va de fiebre ligera y malestar, a toxemia con fiebres elevadas y ulceraciones de las placas de Peyer, resultando en ocasiones hemorragia y perforación del intestino. La bacteremia es una complicación que generalmente se presenta en lactantes y huéspedes debilitados (23,44).

Características Epidemiológicas. *Salmonella* es cosmopolita e infecta al hombre y a varias especies animales. Las fuentes de infección son alimentos, bebidas y productos de origen animal (carne, leche, huevos, etc.). La dosis mínima infectante para el hombre es de $10^6 - 10^7$ microorganismos. El mecanismo de transmisión es de forma directa por vía fecal-oral, o bien de manera indirecta por alimentos, bebidas o utensilios contaminados (44). *Salmonella typhi* está restringida al huésped humano; una complicación con consecuencias epidemiológicas importantes es que del 2 al 5% de las personas infectadas con *S. typhi* y *S. paratyphi* B, se convierten en portadores crónicos (23, 44).

Shigella spp.

Patogénesis. La bacteria coloniza temporalmente ileon terminal, de manera extensiva el intestino grueso e invade el epitelio colónico; se multiplica intracelularmente y la dispersión resulta en la invasión de las células de la submucosa y Lámina Propia, causando una destrucción local de la región invadida, provocando una respuesta inflamatoria

aguda con subsecuente ulceración difusa. Adicionalmente la bacteria produce una citotoxina que también exhibe efectos enterotóxicos y neurotóxicos (36, 44).

Características Clínicas. Las infecciones por especies de *Shigella* incluyen: infecciones asintomáticas, diarrea aguda y disentería severa. Después de un corto período de incubación (2 a 72 horas) se presenta un inicio repentino que comprende fiebre de intensidad y duración variable, toxemia y dolor abdominal, marcada deshidratación y ocasionalmente vómito. Por lo general la diarrea es inicialmente líquida y abundante, pero luego puede disminuir, mostrando moco, sangre y leucocitos polimorfonucleares; entonces el cuadro clínico se transforma en una verdadera disentería (38). Las infecciones por *Shigella* en general se limitan al sistema digestivo, las posibles complicaciones incluyen: vaginitis, Síndrome Urémico-Hemolítico, etc; la invasión del torrente circulatorio es poco común (38, 44).

Características Epidemiológicas. La shigelosis es universal. Por lo general la transmisión de la infección es directa de persona a persona, este modo de transmisión es posible, debido a que el inóculo infeccioso es muy pequeño ($10^1 - 10^2$ microorganismos). Ocasionalmente *Shigella* es transmitida por alimentos y agua contaminada. En los trópicos, la participación de la mosca doméstica en epidemias por *Shigella*, ha sido reportada (44).

Yersinia enterocolitica.

Patogénesis. Las propiedades patogénicas de Y. enterocolitica son: 1) producción de enterotoxina termoestable; 2) penetración a células HeLa; y 3) producción de queratoconjuntivitis en cobayo (33).

La secuencia de aminoácidos de la enterotoxina de Y. enterocolitica tiene cierta similitud con la enterotoxina termoestable de Escherichia coli, sugiriendo que está relacionada con las propiedades biológicas e inmunológicas (40, 49). Las alteraciones morfológicas causadas durante la yersiniosis aguda son: atrofia de microvelocidades acentuada a nivel de ileon; invasión y formación de microabscesos en placas de Peyer, apéndice y colon (39).

Características Clínicas. Y. enterocolitica causa una amplia variedad de cuadros clínicos, entre los que se incluyen: gastroenteritis aguda, adenitis mesentérica (semejando apendicitis), iliocolitis crónica, septicemia, etc. La infección gastrointestinal se presenta con diarrea de corta duración (3 a 4 días), sin presencia de sangre en el 95% de los casos, dolor en el cuadrante inferior derecho, pérdida de peso por la reducción de ingesta, mala absorción y mala digestión de nutrimentos, contribuyendo a la diarrea en la enfermedad; la fiebre es frecuente en el cuadro clínico (19, 25). Existen reportes en donde se ha asociado al organismo con absceso y granulomas hepáticos y manifestaciones extraintestinales, tales como artritis, eritema nodoso y glomerunolefritis (19, 39).

Características Epidemiológicas. Este microorganismo es reconocido como causa importante de enteritis en poblaciones pediátricas (39). Cepas de Y. enterocolitica se han aislado de humanos, animales y fuentes medioambientales (50). Las fuentes potenciales de transmisión

son leche, agua y alimentos contaminados con heces de perro, cerdo o rata. El período de incubación es de 12 a 72 horas (42).

Aeromonas hydrophila

Patogénesis. Los posibles mecanismos patogénicos por los cuales este organismo causa enteritis, incluyen los siguientes factores de virulencia: adherencia a células buco epiteliales, hemaglutinación, producción de exotoxinas (incluyendo hemolisinas) y actividad enterotoxigénica. Las cepas de A. hydrophila patógenas para el hombre producen una enterotoxina termolábil que es neutralizada con la antitoxina del cólera (1).

Características Clínicas. Aeromonas hydrophila es la especie de este grupo más comunmente hallada en la práctica clínica. El organismo ha estado reconocido como patógeno asociado a una amplia variedad de infecciones humanas, entre ellas se incluyen: 1) gastroenteritis aguda en niños y adultos; 2) heridas infectadas con agua o tierra contaminada y complicadas con celulitis; 3) septicemia en huéspedes inmunocomprometidos; 4) infecciones menos frecuentes del tracto urinario, miositis, conjuntivitis, meningitis, etc. (1, 13). La infección entérica está caracterizada por diarrea generalmente de corta duración, con presencia de sangre y moco, dolor abdominal, fiebre y vómito en pacientes pediátricos (1).

Características Epidemiológicas. Las Aeromonas tienen una distribución cosmopolita. Tanto humanos como animales pueden ser portadores. Las bacterias se han recuperado de aguas corrientes y destiladas, siendo fuentes potenciales de infecciones hospitalaria (13, 25).

Campylobacter spp.

Patogénesis. La capacidad de Campylobacter para producir diarrea aguda se relaciona con el poder invasor de éste hacia la mucosa del colon o ileon, donde por acción de una citotoxina altera morfológica y funcionalmente el epitelio. Se ha identificado además actividad enterotóxica, derivada de la presencia de una sustancia semejante a la toxina del cólera y la toxina termolábil de Escherichia coli (15, 24, 46).--Como las anteriores, la toxina producida por Campylobacter reconoce los receptores gangliosídicos. (GMI) en la mucosa del intestino delgado y provoca aumento de la concentración de AMP. cíclico, lo que determina que las células entren en fase secretora, típica de la diarrea ocasionada por este agente (11, 52).

Características Clínicas. Las manifestaciones de la diarrea aguda asociada a Campylobacter son autolimitadas (de 3 a 5 días). Existen dos días de síntomas prodrómicos caracterizados por deposiciones líquidas, frecuentes y generalmente con presencia de sangre, moco y leucocitos polimorfonucleares, la fiebre y vómito son comunes, pudiendo presentar mialgias, artralgias, náuseas, malestar general y dolor abdominal severo, este último probablemente es el signo más constante. Las manifestaciones extraintestinales en la infección incluyen, colecistitis, pancreatitis, cistitis y artritis (5, 11, 32).

Características Epidemiológicas. Campylobacter spp. es a nivel mundial uno de los agentes que más comunmente producen diarrea (5,48). La campylobacteriosis es considerada una zoonosis (5, 11, 25), numerosas especies animales presentan a Campylobacter en su flora intestinal. La

transmisión es por contacto directo con animales contaminados o productos de ellos; o indirectamente mediante la ingestión de agua o comida contaminada. La transmisión de persona a persona también ha sido reportada, incluyendo transmisión perinatal (5). La dosis infectiva está estimada en 500 microorganismos, con un período de incubación variable de 1 a 7 días (52).

Entamoeba histolytica.

Patogénesis. E. histolytica causa enfermedad invasiva por:

- 1) adherencia a la capa mucosa del colon, resultando en colonización intestinal;
- 2) rompimiento de las barreras intestinales por secreción de enzimas proteolíticas o toxinas;
- 3) lisis de las células epiteliales del intestino e inflamación celular, provocando ulceración del colone invasión de tejidos profundos y a órganos como el hígado; y
- 4) resistencia hacia los mecanismos de defensa inmune (43).

Características Clínicas. Los síndromes clínicos que resultan por la infección por E. histolytica incluyen, infección intestinal asintomática, colitis invasiva crónica o aguda, y absceso hepático. La enfermedad colónica invasiva normalmente se presenta con diarrea mucosanguinolenta, dolor abdominal tipo cólico, pujo, tenesmo y ocasionalmente fiebre. Pueden existir ulceraciones no específicas de la mucosa, las clásicas ulceraciones en forma de botón que se extienden dentro de la submucosa. Puede formar lesiones crónicas localizadas (denominadas amebomas). De los abscesos hepáticos por contiguidad puede ser invadido pulmón, pericardio, pleura, etc., y abrirse a piel, o bien por vía hemática diseminarse a distancia (cerebro, bazo, etc.) (29,43).

Características Epidemiológicas. E. histolytica infecta aproximadamente un 10% de la población mundial, manifestándose en 50 millones de casos de colitis invasiva o abscesos hepáticos, y de 50,000 a 100,000 muertes por año (43). Estudios serológicos en la Ciudad de México indican que por arriba del 5% de los residentes experimentan alguna forma de amibiasis invasiva cada dos años (43). La fuente de contagio siempre es el humano enfermo o portador. El mecanismo de transmisión se establece por la ingestión de alimentos o agua contaminada o bien, por contacto directo vía fecal-oral. La dosis mínima infectiva es de 10 ¹⁻² quistes. El periodo de incubación es variable, de 1 a 3 semanas hasta varios meses (29, 37).

Giardia lamblia

Patogénesis. El epitelio del intestino delgado es el sitio principal de la interacción huésped-parásito. G. lamblia adherido mediante los cuerpos parabasales y el disco succionador a las microvelocidades provoca la deformación y aplanamiento de esas estructuras con degeneración enteroepitelial y disfunción enterocelular, con deficiencia transitoria de las disacaridasas, mala absorción de grasas y vitamina B12. Es posible que la lesión entérica se deba a la interacción física por competencia nutricional directa, aunque también se ha postulado la existencia de una enterotoxina (7, 29).

Características Clínicas. La giardiasis humana presenta un espectro patológico amplio, desde la infección asintomática hasta diarrea aguda explosiva, y diarrea crónica. Cuando Giardia se adhiere en grandes cantidades a las microvelocidades se observa aplanamiento de las

mismas y por tanto mala absorción de lípidos y vitamina B12, de igual manera se atrofia el epitelio de la mucosa intestinal, lo que se manifiesta por flatulencia, dolor epigástrico, anorexia, náusea, vómito y diarrea, a veces con síndrome de absorción deficiente, en el que a los síntomas mencionados se agregan meteorismo, esteatorrea con heces fétidas voluminosas, hipoalbuminemia y disminución de peso. Las evacuaciones mucosanguinolentas y la leucocitosis son excepcionales. La fase aguda suele durar de 3 a 4 días, pudiéndose prolongar el cuadro clínico por varios meses, afectando el estado general con mialgias, heces amarillentas y espumosas y meteorismo acentuado (7,37).

Características Epidemiológicas. G. lamblia es cosmopolita y común en niños menores de cinco años de edad. Los mecanismos de transmisión son a través de agua contaminada y por contacto de persona a persona. El período de incubación es variable, de un par de días a varias semanas, con promedio de 9 días (7). La dosis infectiva está calculada en 10^{1-2} quistes (37).

Cryptosporidium spp.

Patogénesis. Se ha identificado al tracto intestinal como el sitio de infección por Cryptosporidium en el cuerpo humano. Encontrándose adherido a la superficie de las células epiteliales y criptas del intestino delgado, de igual manera se ha observado a nivel de estómago, apéndice, recto, ductos pancreáticos y tracto respiratorio. Los cambios histológicos en el tracto intestinal incluyen vellocidades con bordes romos o pérdida de las mismas, criptas alargadas e infiltración de la Lámina Propia con linfocitos, leucocitos y células

plasmáticas (10). El mecanismo por el cual *Cryptosporidium* causa enfermedad en humanos no ha sido establecido. La interferencia en la absorción a nivel de intestino delgado está causada por el daño físico del borde en cepillo de los enterocitos; falta por esclarecerse la producción de exotoxina, metabolitos o una reacción inmunológica. La diarrea líquida voluminosa semeja a la del cólera y posiblemente el proceso sea mediado por una toxina (22).

Características Clínicas. Las infecciones por *Cryptosporidium* están divididas clínicamente en dos categorías: 1) pacientes con función inmune normal que presentan diarrea líquida profusa, fétida con presencia ocasional de moco y sangre, sin presencia de leucocitos, pérdida de peso, dolor epigástrico, cólico, náuseas, vómito y febrícula. Ocasionalmente síntomas no específicos como anorexia, mialgia, malestar general, cefalea y debilidad. 2) Pacientes inmunocomprometidos, tales como los portadores del Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida (SIDA) o que reciban terapia inmunosupresora, desarrollan una infección más severa y de larga duración. La enfermedad se presenta con diarrea profusa, persistente por semanas o meses, llegando en algunos casos a ser un factor determinante en la muerte del paciente. Los pacientes con deficiencia nutricional pueden presentar un curso de la infección semejante a pacientes con deficiencia inmune (10, 29).

Características Epidemiológicas. La infección en humanos por *Cryptosporidium* ha sido descrita en países desarrollados y en vías de desarrollo, tanto en áreas urbanas como rurales. En los niños menores de dos años puede presentarse la mayor incidencia. En la transmisión de *Cryptosporidium* las fuentes potenciales de infección son: agua contaminada, animales parasitados; la participación de la comida

contaminada no está bien documentada. En la transmisión de persona a persona está la más alta prevalencia. Es posible la transmisión por vía aérea, lo que explica la colonización del tracto respiratorio en animales y pacientes con SIDA. El microorganismo está comúnmente asociado con diarrea en animales, por lo que la transmisión zoonótica es de importancia. La dosis infectiva esta reportada en $1 < 1000$ ooquistes. El periodo de incubación en humanos es de 5 a 21 días (10).

ANTECEDENTES

Los estudios epidemiológicos tendientes a determinar la etiología de las diarreas infecciosas agudas en nuestro país son numerosos, entre ellos se destacan los estudios realizados en niños hospitalizados (9, 34, 45), los que han demostrado que rotavirus es el principal agente etiológico de la diarrea aguda en niños menores de cinco años de edad, y es causa del 15 al 25% del total de los casos. En el caso de Salmonella y Shigella estas se identificaron, cada una de ellas, como agentes patógenos en el 10 al 13% de los episodios de diarrea; Entamoeba histolytica ocasionando 2-3%; Giardia lamblia 1.7%, en tanto que E. coli se identificó con una frecuencia variable (9, 34).

En las investigaciones anteriores sólo fueron objeto de estudio los enteropatógenos llamados clásicos, en la actualidad las nuevas técnicas de aislamiento y determinación permiten la detección de enteropatógenos tales como E. coli enteropatógena e invasora, Yersinia enterocolitica, Aeromonas hydrophila, Campylobacter spp., Clostridium difficile y Cryptosporidium spp.

Pedroza, B. (41) realizó un estudio en 1981 para determinar la importancia de Campylobacter fetus subespecie jejuni y Yersinia enterocolitica como agentes causantes de diarrea, en la Ciudad de México, determinando a E. coli con una frecuencia de 39.5%, rotavirus 28.1%, Campylobacter spp. 10.9%, Shigella spp. 9.4%, Salmonella spp. 5.9% no identificando a Y. enterocolitica en ningún caso. Otro estudio realizado en la Ciudad de México por Alvarado-Alemán y cols. (2), en 1984 determinó las siguientes frecuencias para los patógenos investigados: E. coli 41.8%, rotavirus 32.8%, Salmonella 12%, Shigella 7.5% Campylobacter jejuni 4.4%, E. histolytica 1.5% y Giardia lamblia

0.0%. Una amplia investigación realizada por González, S. (12) en una comunidad rural logró determinar las siguientes frecuencias en pacientes y contactos respectivamente: 12.4 y 7.6% para rotavirus, 15.4 y 11.4% para E. coli enterotoxigénica (E.T.E.C.), 3.4 y 2.9% para Salmonella, 0.59 y 0.89% para Shigella, 5.08 y 2.24% para Campylobacter spp., 0.56 y 0.22% para Aeromonas hydrophila, 0.56 y 0.0% para E. histolytica, 5.08 y 1.12% para Giardia lamblia, 1.03 y 0.42% para Cryptosporidium spp., Y. enterocolitica no se determinó en ninguno de los casos. En un estudio realizado por Mathewson, J. y cols. (28) en 1985 en la Ciudad de Guadalajara, se destacó la participación de E. coli y rotavirus en los cuadros de diarrea aguda.

En los trabajos anteriormente citados se ha logrado determinar el agente causal del episodio de diarrea aguda, hasta en un 75% de los casos, y han establecido la importancia relativa de los diversos agentes etiológicos. De igual manera algunos de los estudios citados (2, 12, 28) y otros llevados a cabo en otras áreas geográficas del mundo (6, 51), han demostrado una proporción variable de los agentes patógenos mencionados en individuos sin enfermedad diarreica aguda. Lo anterior hace notar la necesidad de un mayor número de estudios epidemiológicos en las comunidades rurales y urbanas de nuestro país, tendientes a determinar la participación de los diversos enteropatógenos en la producción de cuadros de diarrea aguda, y de igual manera la existencia de individuos portadores o con cuadros subclínicos de la enfermedad; lo que contribuirá a delinear un panorama más claro de la situación local, y así facilitar el diagnóstico diferencial y el tratamiento de los diversos niveles de atención médica.

OBJETIVO

Determinar la frecuencia de aislamiento e identificación de enteropatógenos en niños y adultos con y sin diarrea infecciosa aguda.

AREA DE ESTUDIO

Se seleccionó la unidad médica de primer nivel de atención # 22 del Instituto Mexicano del Seguro Social, localizada en la Delegación Política Magdalena Contreras, al sur de la Ciudad de México. Clínica en donde se atiende predominantemente población de clase socioeconómica baja.

MATERIAL Y METODOS.

Características y tamaño de la muestra.

Se incluyeron en el estudio a los individuos que acudieron a consulta médica con diagnóstico de diarrea aguda, con evolución menor o igual a 15 días, y como controles a aquellos individuos atendidos en las unidades con diagnóstico diferente a diarrea, individuos apareados a los casos en edad y sexo; la selección de ambos grupos fue de manera aleatoria. La relación numérica de los individuos investigados fue un sujeto control por cuatro enfermos con diarrea.

La muestra de materia fecal se solicitó el día de la consulta, en el periodo de tiempo en el que el paciente se encontraba en la clínica, para su inmediato estudio. De los casos seleccionados no se excluyeron los casos que habían recibido antimicrobianos y/o antiparasitarios, debido a que este tipo de pacientes era de interés para otra de las interrogantes del proyecto general. Todos los datos personales, clínicos y de laboratorio de cada paciente fueron recabados en un cuestionario especialmente diseñado para ello (Figura 1 y 2).

para evaluar las diferencias estadísticas se utilizó la prueba de Chi cuadrada con corrección de Yates.

1. Coproparasitoscópico.

A partir de la materia fecal recientemente emitida (con tiempo no mayor a 30 minutos), se realizaron dos tipos de preparaciones para su observación al microscopio. una en fresco con solución salina isotónica, para la búsqueda de trofozoitos de Entamoeba histolytica y Giardia lamblia , observandose a seco fuerte (27). Otra preparación fijada se tiñó con la técnica de Ziehl Neehlisen modificada por Kinyoun, para la investigación de ooquistes de Cryptosporidium spp., la observación se hizo a seco fuerte (27) y a inmersión (3, 10).

Para el estudio de la citología fecal, se realizó una preparación en fresco de moco fecal para la cuenta diferencial de células polimorfonucleares (PMNs), con la utilización del colorante azul de metileno, la observación se hizo a seco fuerte (27).

2. Coprocultivo.

2.1 Salmonella spp. y Shigella spp. (Figura 3)

2.1.1 Aislamiento. Se sembró la muestra con un hisopo estéril en los siguientes medios selectivos, agar Mac Conkey, agar Salmonella-Shigella (SS), agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD), agar Tergitol-7 y agar entérico de Hektoen (He). Las placas se estriaron para el aislamiento y se incubaron a 37 ° C durante 24 horas, y se seleccionaron las colonias lactosa negativas (23, 27)

- 2.1.2 Enriquecimiento y subcultivo. Simultáneamente a la siembra directa, se inoculó la muestra en caldo Selenito-F, se incubó a 37 °C durante 18 horas, y el subcultivo se hizo en agar XLD y He (23, 27).
- 2.1.3 Identificación Bioquímica. Las colonias lactosa negativas se inocularon en una batería de pruebas bioquímicas conformada por los siguientes medios diferenciales: agar de hierro Kligler (KIA), agar citrato de Simmons, agar fenilalanina, caldo lisina descarboxilasa (LIA), medio para determinar movilidad-indol-ornitina (MIO), caldo rojo de metilo Voges-Proskauer (MR-VF), caldo urea y caldo malonato. Los medios inoculados se incubaron a 37 °C, y la lectura se realizó a las 24 horas, de acuerdo a manuales especializados (25, 26), los resultados de las pruebas fueron comparados con el comportamiento bioquímico de especies de Salmonella y Shigella, presentado en tablas de identificación para enterobacterias (23).
- 2.1.4 Identificación serológica. La identificación final de cepas de Salmonella y Shigella se realizó mediante tipificación serológica, con el uso de antisueros específicos (23,27).
- 2.1.5 Conservación de cepas. Las cepas identificadas fueron crecidas en un medio rico sin inhibidores, tripticaseína-soya agar (TSA); para la obtención de un crecimiento masivo. El almacenamiento de las cepas se

hizo por duplicado con el empleo de dos métodos que a continuación se describen:

a) Conservación en gelosa especial. De un cultivo puro en TSA se tomó una asada y se inocularon dos viales de 3 ml. por cada cepa. La incubación fue por 24 horas a temperatura ambiente, se rotularon los viales, almacenándose a 4°C (27).

b) Conservación en medio de infusión cerebro corazón (BHI) con glicerol al 20%. A partir de un cultivo puro en TSA, se tomó una asada y se suspendió en 2 ml. de caldo por duplicado, los viales se rotularon y se almacenaron uno a -20°C y el otro a -70°C (27).

2.2 Yersinia enterocolitica (Figura 3).

2.2.1 Aislamiento. La muestra se sembró de manera directa en el medio selectivo agar-Yersinia (Schieman-Cin medium; Cm653; Oxoid, Basingstroke, Hants, England) (19, 23). Las placas se incubaron a 25°C durante 48 horas. La selección de colonias sospechosas se realizó a las 24 y 48 horas, colonias puntiformes lactosa negativas (27).

2.2.2 Enriquecimiento y subcultivo. Se inoculó la muestra en tubos con caldo-Yersinia. El cultivo se sometió a enriquecimiento a 4°C durante 15 días, subcultivándose en placas de agar-Yersinia (27).

2.2.3 Identificación bioquímica. Se empleó la batería de pruebas bioquímicas descrita para especies de Salmonella y Shigella. El medio MIO, el caldo urea y el caldo MR-VF

se inocularon por duplicado. Los medios se incubaron a 37 ° C durante 24 horas; los duplicados se incubaron a 25 ° C durante 24 horas (23, 27), los resultados de las pruebas fueron comparados con el comportamiento bioquímico de Y. enterocolitica presentado en tablas de identificación (23).

2.3 Aeromonas hydrophila (Figura 4).

2.3.1 Aislamiento. La muestra se sembró en: placas de gelosa sangre-ampicilina 20 µg/ml. (6,13), y en placas de agar xilosa-sodio desoxicolato citrato (XDCA) (13, 14, 30). Ambos medios se incubaron a 37 ° C durante 24 horas. La selección de las colonias sospechosas fue mediante los siguientes criterios, a partir del medio gelosa sangre-ampicilina, las beta hemolíticas y no hemolíticas y a partir de las placas de XDCA, las colonias no fermentadoras de xilosa (13). Las colonias sospechosas fueron crecidas en placas de TSA y probada su actividad citocromo oxidasa (6, 13).

2.3.2 Identificación Bioquímica. A las colonias con actividad citocromo oxidasa positiva, se les probó bioquímicamente, inoculándose en los siguientes medios diferenciales: agar de hierro Kligler, agar citrato de Simmons, agar fenilalanina, LIA, medio MID, caldo MR-VP, caldo urea, caldo malonato, caldo BHI con NaCl al 3.0, 6.5 y 7.5%, medio OF con glucosa al 1%, medio para nitratos, arginina y los azúcares glucosa, inositol, manitol y arabinosa. Los resultados de las pruebas se

compararon con el comportamiento bioquímico de Aeromonas spp., presentado en tablas de identificación (13).

2.3.3 Conservación de cepas. Se emplearon los métodos de conservación en gelosa especial y en BHI con glicerol al 20%, anteriormente descritos.

2.4 Campylobacter spp. (Figura 4)

2.4.1 Aislamiento. Se sembró de manera directa en el medio Skirrow modificado (32), las placas se incubaron a 42 C durante 48 horas, colocándose en jarras Gas-Pak en una atmósfera conteniendo la siguiente mezcla de gases: O₂ 5%, CO₂ 10% y N₂ 85% (27,32). Se realizó la selección de colonias sospechosas en base a su morfología; colonias planas, extendidas de apariencia acuosa y de bordes irregulares, o bien, colonias redondas, convexas y con bordes enteros (32).

2.4.2 Identificación presuntiva. Las colonias consideradas como sospechosas, se observaron al microscopio mediante la realización de dos tipos de preparación, una en fresco para la observación de la morfología bacteriana y el movimiento característico en forma de sacacorchos o lineal rápido, con la utilización de microscopio de contraste de fases. La segunda preparación fue teñida con solución acuosa de fucsina básica al 1% (1), y se observó por microscopía ordinaria con el objetivo de inmersión, en busca de bacterias con morfología semejante a alas de gaviota, S, o de varilla curvada (32). A las colonias con la morfología típica bacteriana

se les realizó la prueba de actividad citocromo oxidasa (27, 32).

2.4.3 Enriquecimiento y subcultivo. Simultáneamente a la siembra directa, se inoculó la muestra en caldo tioglicolato al 0.16% de agar, los tubos se guardaron en refrigeración a 4 °C durante 48 horas, realizándose posteriormente la resiembra en el medio Skirrow (27, 48).

2.4.4 Identificación final. Las colonias con prueba de oxidasa positiva, se crecieron a 42 °C en una atmósfera microaerofílica, a 37 °C sin la atmósfera apropiada, se realizó prueba de catalasa, resistencia a la cefalotina, sensibilidad al ácido nalidixico y capacidad de hidrólisis de hipurato (32).

2.4.5 Conservación de cepas. Se realizó empleando los métodos descritos para especies de Salmonella y Shigella.

3. Determinación de Rotavirus.

Las muestras fueron ensayadas para rotavirus con el empleo de Rotazyme II (Abbot Laboratories, Sydney Australia). El test Rotazyme II es un inmunoensayo enzimático de fase sólida, para la determinación del antígeno rotavirus, en muestras fecales humanas (4).

Principios biológicos del procedimiento. En el test Rotazyme II las esferas recubiertas con el anticuerpo anti-rotavirus se incuban con los materiales fecales diluidos y con los controles apropiados. Cualquier antígeno rotavirus presente se une a la esfera recubierta

con anticuerpo. Después de la aspiración del material no unido y del lavado de las esferas, la inmunoglobulina anti-rotavirus conjugada con peroxidasa de rábano picante se deja reaccionar con el complejo anticuerpo-antígeno en las esferas, se aspira el conjugado enzimático no unido y se lavan las esferas, se les agrega una solución de 0-fenilendiamina y después de la incubación, se desarrolla un color amarillo-anaranjado en proporción a la cantidad de antígeno en la muestra. Los resultados del control positivo, el control de diluyente para las muestras y de las muestras de los pacientes se evaluaron subjetivamente mediante la comparación visual frente a una escala de color.

El presente trabajo es parte integral del proyecto de investigación: **IMPLANTACION DE NORMAS TERAPEUTICAS PARA EL MANEJO DE LA DIARREA INFECCIOSA AGUDA EN EL PRIMER NIVEL DE ATENCION.** Realizado en la Unidad de Investigación Clínica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Instituto Mexicano del Seguro Social. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

Figura 2

LABORATORIO.

No. registro

Nombre :

Paterno

Materno

Nombre

Sexo masc=1; fem=2

Edad en

días = D

meses = M

años = A

Fecha de la toma de muestra

Día Mes Año

Características macroscópicas de la muestra (si=1; no=2)

Pastosa Líquida o semilíquida moco sangre

Moco fecal

Polimorfonucleares por campo _____

si se tomó = 1
no se tomó = 2

Trofozoitos de *E. histolytica* si = 1
Trofozoitos de *Giardia lamblia* no = 2

ELISA PARA

Rotavirus : Positiva si = 1; no = 2

si se tomó = 1
no se tomó = 2

Cryptosporidium :

si se hizo frotis = 1
no se hizo frotis = 2

Positivo si = 1; no = 2

Coprocultivo

Bacterias patógenas aisladas

si se tomó = 1
no se tomó = 2
hisopo rectal = 3

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Observaciones : _____

Figura 3

ESQUEMA DE INOCULACION PARA EL AISLAMIENTO DE BACTERIAS
 PATOGENAS DE HECES. Salmonella spp., Shigella spp. y
Yersinia enterocolitica.

MATERIA FECAL

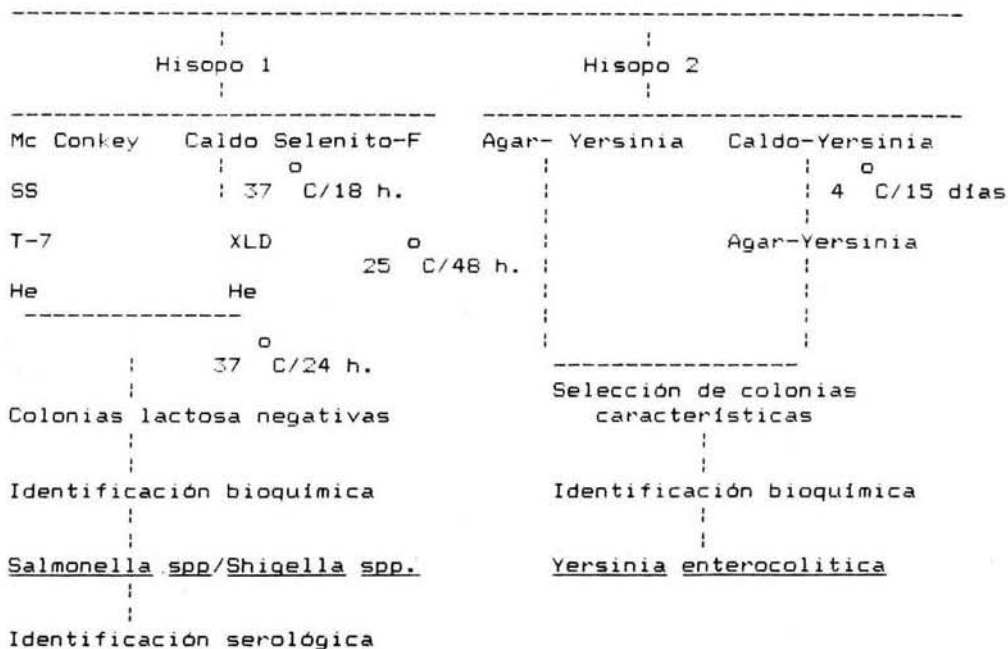


Figura 4

ESQUEMA DE INOCULACION PARA EL AISLAMIENTO DE Aeromonas hydrophila Y Campylobacter spp.



* 5% O₂ , 10% CO₂ , 85% N₂

Tabla I

FRECUENCIA DE ENTEROPATOGENOS DETERMINADOS
EN PACIENTES CON DIARREA Y CONTROLES.

Microorganismo	Casos N=184		Grupo Control N=44	
<u>Shigella spp.</u>	21	11.4	2	4.5
Rotavirus	12	6.5	2	4.5
<u>Salmonella spp.</u>	7	3.8	3	6.8
<u>G. lamblia</u> trofozoitos	5	2.7	0	0
<u>Aeromonas hydrophila</u>	3	1.6	1	2.2
<u>Campylobacter spp.</u>	3	1.6	1	2.2
<u>E. histolytica</u> trofozoitos	1	0.5	0	0
<u>Cryptosporidium spp.</u>	1	0.5	0	0

Tabla II

FRECUENCIA DE LOS MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS EN PACIENTES CON DIARREA Y
CONTROLES DE ACUERDO A LA EDAD

Microorganismos	0 - 59 MESES		5 - 14 ANOS		>= 15 ANOS	
	PACIENTES		PACIENTES		PACIENTES	
	No.	%	No.	%	No.	%
	N=73		N=26		N=85	
	N=26		N=6		N=12	
	No.	%	No.	%	No.	%
Rotavirus	7	9.5	1	3.8	4	4.7
<u>Shigella spp.</u>	5	6.8	5	19.0	11	12.0
<u>Salmonella spp.</u>	2	2.7	2	7.6	3	3.5
<u>Campylobacter spp.</u>	0	0	0	0	3	3.5
<u>Aeromonas hydrophila</u>	0	0	0	0	3	3.5
<u>E. histolytica</u> trofozoitos	1	1.3	0	0	0	0
<u>G. lamblia</u> trofozoitos	1	1.3	2	7.6	2	2.3
<u>Cryptosporidium spp.</u>	1	1.3	0	0	0	0

AISLAMIENTOS POSITIVOS Y NEGATIVOS EN PACIENTES CON DIARREA Y CONTROLES

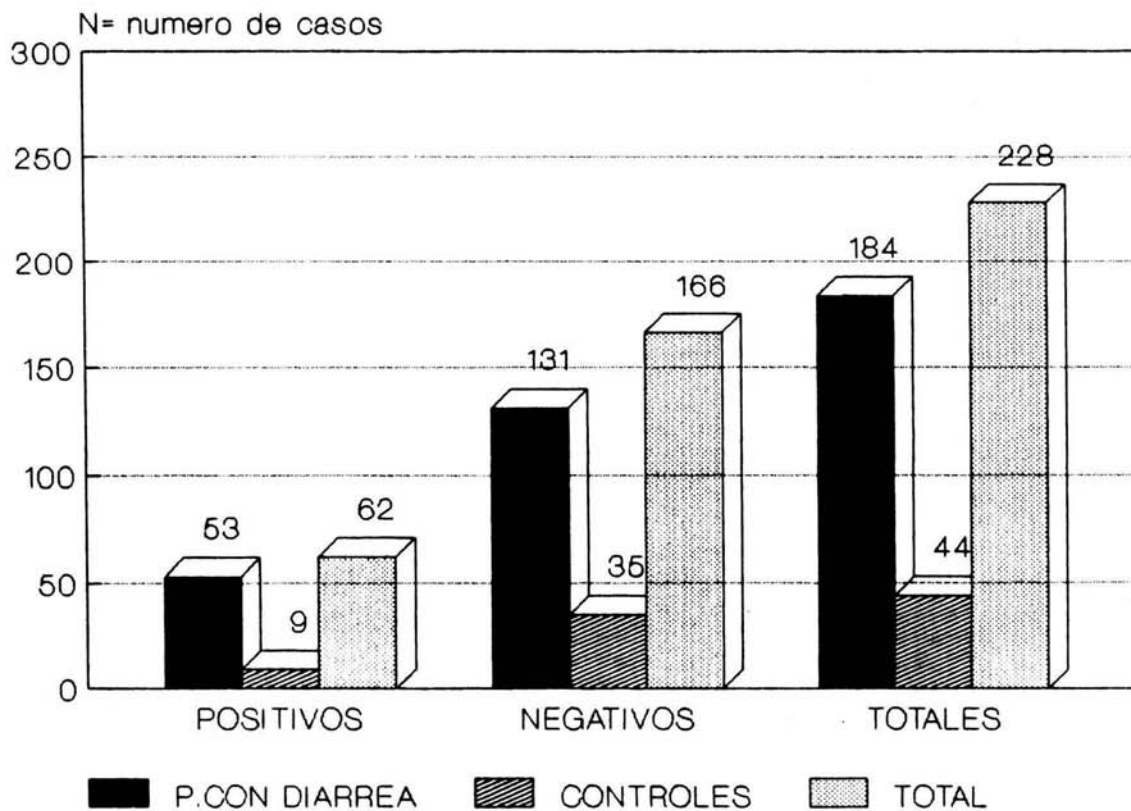
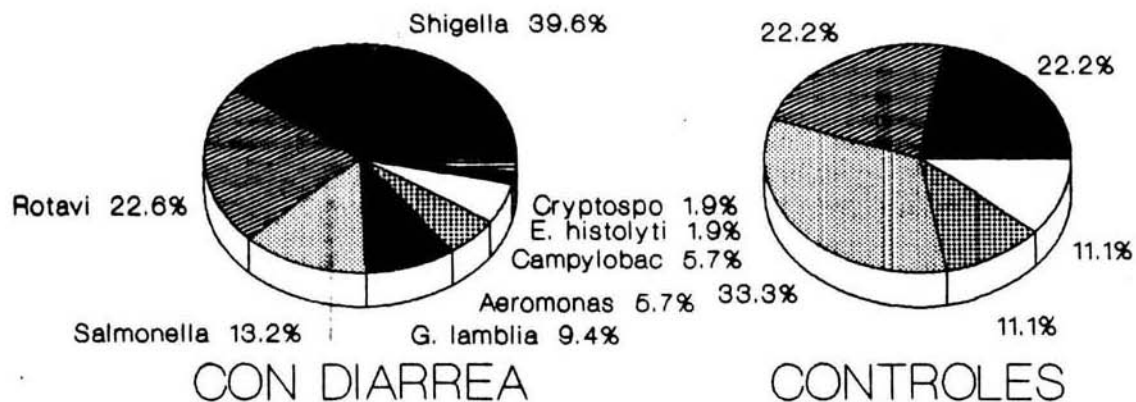


Figura 5

**FR. DE ENTEROPATOGENOS DETERMINADOS EN
PACIENTES CON DIARREA Y CONTROLES**



FRECUENCIAS RELATIVAS

**CARACTERISTICA CLINICA DE LAS MUESTRAS
(AUSENCIA/PRESENCIA DE SANGRE)**

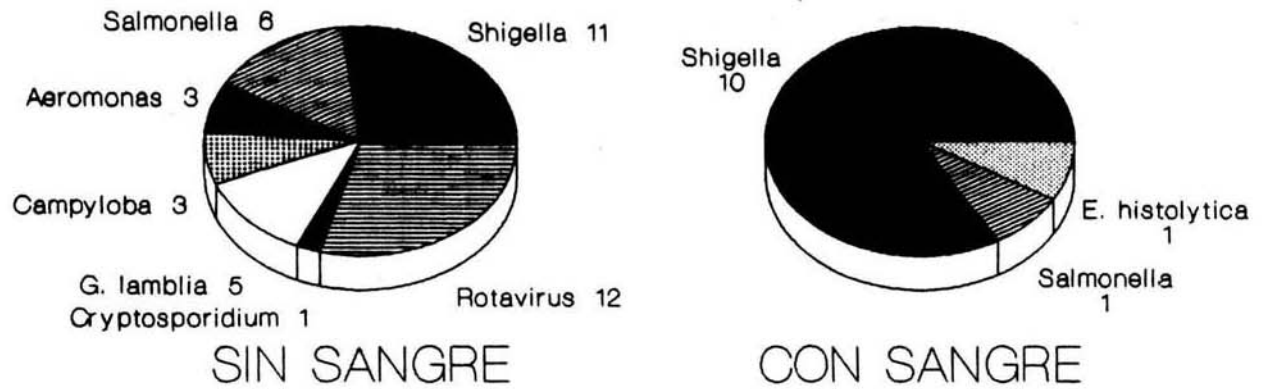


Figura 7

VARIACION EN EL AISLAMIENTO DE ENTEROPATOGENOS SEGUN ESTACION

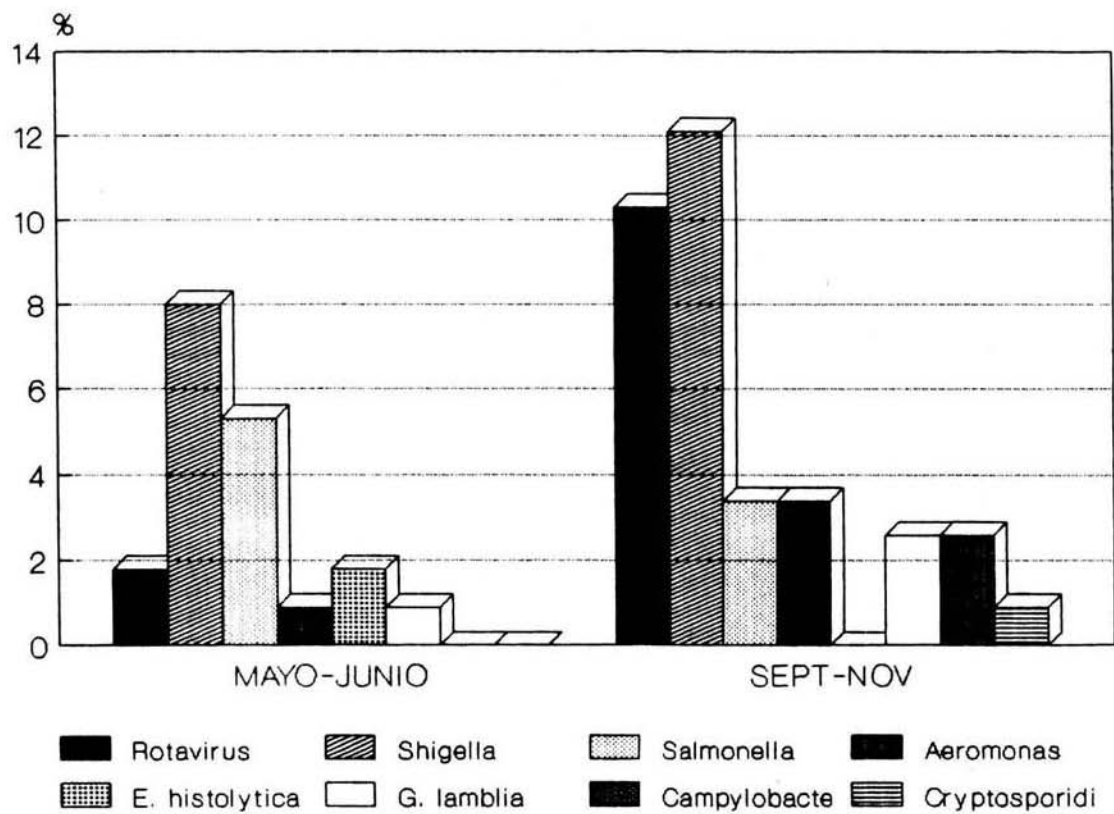


Figura 3

ANALISIS DE RESULTADOS

El estudio comprendió el análisis de 184 muestras de individuos con diarrea y 44 de sujetos controles, todos ellos pacientes ambulatorios de consulta externa.

La distribución por edad de los casos y controles fue respectivamente: 23.4 y 34.1% niños menores de dos años, 16.3 y 25% entre 2 y 4 años, 14.1 y 13.6% de 5 a 14 años, y 46.2 y 27.3% de 15 o más años de edad.

El total de enteropatógenos determinados fueron 62, al grupo de pacientes correspondieron 53 y 9 al grupo control. (Figura 5.)

El porcentaje de identificación de los microorganismos investigados se muestran en la Tabla 1. En 21 (11.4%) de los pacientes y en 2 (4.5%) de los controles, Shigella spp. fué el patógeno aislado; Salmonella spp. se aisló en 7 (3.8%) y 3 (6.8%) pacientes y controles respectivamente, Campylobacter spp. se identificó en 3 (1.6%) y 1 (2.3%); Aeromonas hydrophila se encontraron en 3 (1.6%) y 1 (2.3%); Yersinia enterocolitica no fue aislada en ningún caso.

Del grupo de pacientes con diarrea, 179 casos y los 44 controles fueron investigados para rotavirus con la técnica Rotazyme II. Se excluyeron 5 casos, porque la muestra fue insuficiente para el estudio. En los pacientes 12 (6.9%) casos fueron positivos, y en los controles 2 (4.5%).

Trofozoítos de G. lamblia fueron detectados en 5 de los pacientes representando el 2.7%. E. histolytica se identificó en un caso (0.5%). ooquistes de Cryptosporidium s.p.p. se identificaron en un sólo caso (0.5%). No hubo identificación de los parásitos investigados en

ninguna de las muestras de los sujetos controles.

Considerando el número total de microorganismos determinados (53 en el grupo de pacientes y 9 en el grupo control), se observó mayor frecuencia de Shigella spp. y rotavirus en el grupo problema, en tanto que en el grupo control la mayor frecuencia de aislamiento correspondió a Salmonella spp., seguida de Shigella spp. y rotavirus (Figura 6).

La distribución de los gérmenes identificados con respecto a los diferentes grupos de edad se muestra en la Tabla II. En pacientes menores de cinco años, el agente que se identificó con mayor frecuencia fue rotavirus; en los mayores de cinco años, Shigella spp. fue el germen más frecuentemente aislado. En el grupo control, por el contrario, Shigella spp. fue el germen más común en menores de cinco años, y en individuos mayores de cinco años, rotavirus y Salmonella spp.

Los microorganismos restantes no muestran un predominio por algún grupo etáreo, aunque el número de cepas identificadas de varios de los gérmenes es muy escaso para poder hacer interpretaciones confiables.

Las infecciones mixtas se presentaron en 2.2% de los casos; las asociaciones observadas fueron: Shigella-Salmonella, Shigella-Aeromonas, Shigella-rotavirus y Giardia-Salmonella.

En el estudio de la citología fecal, se observó la presencia de 10 o más polimorfonucleares en moco fecal, en el 52.4% de los cuadros producidos por Shigella spp. y en el 14.3% de los producidos por Salmonella spp.

Del grupo de pacientes con diarrea el 12% presentó sangre en las evacuaciones. En el 54.5% de las muestras de diarrea con sangre se

aisló un patógeno; Shigella spp. en el 45.5%, E. hystolytica en 4.5% y Salmonella spp. en 4.5% (Figura 7).

La distribución de los enteropatógenos con respecto a las estaciones del año durante el tiempo de estudio se muestra en la Figura 8. De septiembre a noviembre se observó el mayor porcentaje de determinación de los enteropatógenos investigados.

DISCUSION

La determinación de uno o más agentes potencialmente patógenos fue en un 28.8% de los pacientes con diarrea y en 20.4% de los individuos controles.

En el presente estudio, los patógenos bacterianos fueron predominantes, con una identificación porcentual de 64.2% seguida de 22.6% de rotavirus y 13.2% de parásitos en pacientes con diarrea.

En los pacientes, los gérmenes que se identificaron con mayor frecuencia fueron: Shigella spp. y rotavirus, y en controles Salmonella spp., seguida por Shigella spp. y rotavirus.

Los rotavirus están reportados; como el agente etiológico más frecuente identificado en niños menores de cinco años (34, 35, 45); el resultado obtenido en el presente estudio fue similar. En general el porcentaje de positividad para rotavirus varía enormemente en los diferentes trabajos. Los datos obtenidos en el presente estudio confirman la importancia de rotavirus como causa de gastroenteritis en niños menores de cinco años; y que su máxima incidencia se observa en el otoño e invierno (35, 51). En la población en general Shigella spp. fue el germen más frecuentemente aislado, su determinación predominó en los pacientes mayores de cinco años, como ya también ha sido descrito (34). Del resto de los microorganismos, la frecuencia de identificación fue baja, lo anterior limita las posibles interpretaciones; a pesar de esta limitación, la información epidemiológica que proporciona este estudio es necesaria para integrar el panorama de la etiología de la diarrea aguda en nuestra población.

Respecto a la baja frecuencia de aislamiento de Campylobacter spp., este germen se ha identificado más frecuentemente en pacientes

hospitalizados (31) y en comunidades rurales de México (12). No se tiene una explicación clara para esta diferencia. En cuanto a la baja frecuencia de identificación de Entamoeba histolytica, este hallazgo se ha repetido en otros estudios (2, 12, 34), a pesar de lo cual se sigue pensando, por parte del personal médico, que la diarrea aguda por amiba es frecuente, lo que se refleja en el amplio uso de metronidazol, observaciones realizadas en otros trabajos de esta serie (16, 17, 18).

De los patógenos investigados, Y. enterocolitica fue el único germen que no se aisló en ningún caso, este resultado coincide con lo reportado en otros trabajos (12, 41), sin embargo en un estudio previo (31), se determinó a Y. enterocolitica en 3.1%, lo anterior hace notar la necesidad de un mayor número de estudios tendientes a determinar la participación de Y. enterocolitica en la producción de diarrea aguda.

Resultados obtenidos de investigaciones previas (12, 28, 31, 34), indican que el aislamiento de un patógeno intestinal no significa que exista la enfermedad. La frecuencia de determinación del grupo control en el presente estudio fue alta (20.4%), en solo una de las investigaciones citadas (2), se obtuvo una frecuencia aun más alta (38%) de individuos sin diarrea a quienes se les identificó un germen potencialmente patógeno. Este hecho se explica en base al estado portador; el resultado indica la existencia de un número importante de individuos convalecientes crónicos, los cuales constituyen una fuente importante de contagio, especialmente si son manejadores de alimentos. En las grandes urbes subdesarrolladas la existencia de portadores asintomáticos es común, siendo un reflejo de las deficientes condiciones sanitarias en que vive la población.

CONCLUSIONES

La frecuencia de identificación de grupo con diarrea en comparación con el grupo control, no fué estadísticamente significativa.

Se destaca la participación de Shigella spp. como productora del cuadro diarreico en la población estudiada. A los rotavirus se les identificó como la principal causa de diarrea aguda en los niños menores de cinco años.

En los pacientes de diarrea con sangre, se identificó con mayor frecuencia Shigella spp. y E. histolytica que en los casos de diarrea sin sangre (45.5% y 4.5%) vs. (6.8% y 0.0%, $p < 0.05$). Para los microorganismos restantes, las diferencias no fueron significativas. Otros datos clínicos o características de la evolución de los pacientes no permiten sospechar, con cierto grado de seguridad, otros microorganismos.

El estudio del moco fecal, aunque no fue analizado en forma extensa por el bajo número de algunos gérmenes, permite concluir, sobre todo en los casos de diarrea con sangre, que es orientador del diagnóstico de shigelosis, como ya ha sido mencionado.

Se destaca el predominio de rotavirus durante los meses de septiembre a diciembre; la distribución de los demás microorganismos no mostró diferencias con respecto a meses o estaciones del año, comprendidas dentro del tiempo de estudio.

La identificación de los microorganismos potencialmente patógenos en diarrea aguda permitió a los médicos familiares tener información sobre el tipo de pacientes que manejan. Les permitió comprobar que la frecuencia relativa de microorganismos fue semejante a lo referido en otras series de pacientes hospitalizados.

BIBLIOGRAFIA

1. Agger, W.A., McCormick, J.D., Gurwith, M.J.: Clinical and Microbiological Features of Aeromonas hydrophila-Associated Diarrhea. J. Clin. Microbiol., 1985; 21(6): 909-913.
2. Alvarado-Alemán, F., Guardo-Bustillo, C., Galindo, E., Mendez-Tena, E.: Frecuencia de microorganismos enteropatógenos aislados en niños con y sin diarrea aguda. Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.), 1985; 42(6): 354-359.
3. Baron, E.J., Schenone, C., Tenembaum, B.: Comparison of three Methods for Detection of Cryptosporidium Oocysts in a Low-Prevalence Population. J. Clin. Microbiology. 1989; 27(1): 223-224.
4. Blacklow, N.R., Cukor, G. Viral Gastroenteritis Agents. En: Lennette, E.H., Balows, A., Hausler Jr., W.J., Shadomy, H.J. (Eds.). Manual of Clinical Microbiology. 4a ed., Washington, D.C., E.U.A. American Society for Microbiology. 1985, pp.805-812.
5. Blaser, M.J., Taylor, D.N., Feldmen, R.A.: Epidemiology of Campylobacter jejuni infections. Epidemiologic Reviews. 1983; 5: 157-172.
6. Burke, V., Gracey, M., Robinson, J., Peck, D. Beaman, J., Bundell, C.: The Microbiology of Childhood Gastroenteritis: Aeromonas Species and Other Infective Agents. J. Infec. Dis., 1983; 148(1): 68-74.

7. Carrada, B.T.: Giardiasis Intestinal: Epidemiología, Diagnóstico y Tratamiento . Revista Mexicana de Pediatría. 1984; 11 y 12: 497-505 y 525-533.
8. Encuesta sobre morbilidad, mortalidad y tratamiento de la diarrea. noviembre-diciembre de 1985. Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salud. México.
9. Evans, D.G., Olarte, J., DuPont, H.L., Evans, D.J., Galindo, E.: Enteropathogens Associated with Pediatric Diarrhea in México City. J. Pediatr., 1977; 91(1): 65-68.
10. Fayer, R., Ungar, B.L.: Cryptosporidium spp. and Cryptosporidiosis. Microbiol. Rev., 1986; 50(4): 458-483. 11.
11. Figueroa, G., Araya, M.: Infecciones Asintomáticas y Sintomáticas por Campylobacter jejuni. Rev. Chil. Pediatr., 1985; 56(6): 486-490.
12. González, A.S. 1990. Epidemiología intrafamiliar de la diarrea aguda en comunidad rural del altiplano mexicano. Tesis para obtener el título de M. en C. IMSS.
13. Graevenitz, A.V. Aeromonas and Plesiomonas. En: Lennette, E. H., Belows, A., Hausler Jr., W.J., Shadomy, H.J. (Eds.). Manual of Clinical Microbiology. 4a ed., Washington, D.C., E.U.A. American Society for Microbiology. 1985, pp. 278-281.
14. Graevenitz, A.V., Bucher, C.: Evaluation of Differential and Selective Media for Isolation of Aeromonas and Plesiomonas spp. from Human Feces. J. Clin. Microbiol., 1983; 17(1): 16-21.

15. Guerrant, R.L., Wanke, C.A., Pennie, R.A.: Production of a Unique Cytotoxin by Campylobacter jejuni. Infection and Immunity. 1987; 55(10): 2526-2530.
16. Guiscafré, H., Muñoz, O., Gutiérrez, G.: Normas para el tratamiento de la diarrea infecciosa aguda. Bol. Med. Hosp. Infant. (Méx.), 1986; 43(11): 702-707.
17. Guiscafré, H., Muñoz, O., Padilla, G.: Estrategias para mejorar los patrones terapéuticos utilizados en diarrea aguda, en unidades de atención médica primaria. VI. Evaluación de una estrategia dirigida a los médicos familiares para incrementar el uso de hidratación oral y disminuir el de antimicrobianos y dietas restrictivas. Arch. Invest. Méd. (Méx.), 1988; 19: 395-408.
18. Gutiérrez, G., Martínez, M.C.: Encuesta sobre el uso de antimicrobianos y de hidratación oral, en la diarrea infecciosa aguda en el medio rural mexicano. Boletín Mensual de Epidemiología. Sector Salud. 1986; 66-71.
19. Hoogkamp-Korstanje, J.A., Koning, J., Samsom, J.P.: Incidence of Human Infection with Yersinia enterocolitica Serotypes O3, O8, and O9 and the Use of Indirect Immunofluorescence in Diagnosis. J. Infec. Dis., 1986; 153(1): 138-141.
20. Horwitz, A.: Ingeniería sanitaria y ambiental; importancia de la planificación en relación con las necesidades de salud. Bol. Of. Sanit. Panam., 1986; 101(3); 193-204.
21. Información estadística sobre enfermedades transmisibles. Boletín mensual de Epidemiología. Sector Salud. México. 1986; 1: 56-59.

22. Jannoff, E.N., Reller, L.B.: Cryptosporidium Species, a Protean Protozoan. J. Clin. Microbiol., 1987; 25(6): 967-975.
23. Kelly, M. T., Brenner, D.J., Farmer III, J.J. Enterobacteriaceae. En: Lennette, E.H., Balows, A., Hausler Jr., W.J., Shadomy, H.J. (Eds.). Manual of Clinical Microbiology. 4a ed., Washington, D.C., E.U.A. American Society for Microbiology. 1985, pp.263-277.
24. Klipstein, F.A., Engert, R.F., Short, H., Schenk, E.A.: Pathogenic Proprieties of Campylobacter jejuni: Assay and Correlation with Clinical Manifestations. Infec. Immunity., 1985; 50(1): 43-49.
25. Koneman, E., Allen, S., Dowell, V., Sommers, H. Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires, Argentina. Panamericana. 1983. Págs. 152-256.
26. MacFaddin, J.F. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Médica. Buenos Aires, Argentina. Panamericana. 1980.
27. Manual for Laboratory Investigation of Acute Enteric Infections. World Health Organization. 1987. Control of Diarrhoeal Diseases.
28. Mathewson, J.J. Oberherman, R.A., DuPont, H.L., Cabada, F.J.: Enteroadherent Escherichia coli as a Cause of Diarrhea among Children in Mexico. J. Clin. Microbiol., 1987; 25: 1917-1919.
29. Melvin, D.M., Healy, G.R. Intestinal and Urogenital Protozoa. En: Lennette, E.H., Ballows, A., Hausler Jr. W.J., Shadomy, H.J. (Eds.). Manual of Clinical Microbiology. 4a ed., Washington, D.C., E.U.A. American Society for Microbiology. 1985, pp.631-650.

30. Millership, S.E., Chattopadhyay, B.: Methods for the isolation of Aeromonas hydrophila and Plesiomonas shigelloides from faeces. J. Hyg. Camb., 1984; 92: 145-152.
31. Morales, M., García, P.M., Pedroza, J.L., D'Amico, A.: Frecuencia de Campylobacter ss jejuni y Yersinia enterocolitica en niños con diarrea aguda. Bol. Med. Hosp. Infant. (Méx.), 1984; 41(2): 86-89.
32. Morris, G.K., Patton, C.M. Campylobacter. En: Lennette, E.H., Ballows, A., Hausler Jr., W.J., Shadomy, H.J. (Eds.). Manual of Clinical Microbiology, 4a ed., Washington, D.C., E.U.A. American Society Society for Microbiology. 1985, pp. 302-307.
33. Mors, V., Pai, C.H.: Pathogenic Properties of Yersinia enterocolitica. Infec. Immun., 1980; 28(1): 292-294.
34. Muñoz, H.O., Coello, R.P., Serafin, A.F., Olarte, J., Pickering, L.K.: Gastroenteritis Infecciosa Aguda. Etiología y su correlación con las manifestaciones clínicas y el moco fecal. Arch. Invest. Med., 1979; 10: 135-145.
35. Muraira, G.A., Díaz, O.C., Moreno, S.H., Méndez, J.A., Ugalde, F.M., Madero, G.C.: Gastroenteritis por rotavirus (correlación clínica). Revista Mexicana de Pediatría. 1985; diciembre: 539-542.
36. O'Brien, A.D., Holmes, R.K.: Shiga and Shiga-Like Toxins. Microbiol. Rev., 1987; 51(2): 206-220.
37. Olarte, J.: Etiología y diagnóstico de las diarreas infecciosas. Revista Mexicana de Pediatría. 1983; abril: 101-110.
38. Olarte, J.: Etiopatogenia de las diarreas infecciosas. Bol. Med. Hosp. Infant. (Méx.), 1985; 42(1): 66-72.

39. O'Loughlin, E.U., Humphreys, G., Dunn, I., Kelly, J., Lian, C. J.: Clinical, Morphological, and Biochemical Alterations in Acute Intestinal Yersiniosis. *Pediatric Research*. 1986; 20(7): 602-608.
40. Pai, C.H., Mors, V.: Production of Enterotoxin by Yersinia enterocolitica. *Infect. Immun.*, 1978; 19(3): 908-911.
41. Pedroza, B. J. 1981. Importancia 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.
42. Pierce, G., Harriant, T.P. Manual of Acute Bacterial Infectious. 2a ed., Boston Toronto. Little, Brown and Company. 1985, pp.78-98.
43. Ravdin, J.I.: Entamoeba histolytica: from Adherence to Enteropathy. *J. Infect. Dis.*, 1989; 159(3): 420-429.
44. Rennels, M.B., Levine, M.M.: Classical bacterial diarrheae: perspectives and update-Salmonella, Shigella, Escherichia coli, Aeromonas and Plesiomonas. *Pediatric Infectious Dis.*, 1986; 5(1): 91-100.
45. Ruiz-Gómez, J., Alvarez, M., Silva-Acosta, C., Espejo, R.: Rotavirus II. Virus relacionados con la gastroenteritis aguda en el niño. *Arch. Invest. Méd. (Méx.)*, 1981; 12: 133-140.
46. Ruiz-Palacios, G.M., López-Vidal, Y., Torres, J., Torres, N.: Serum Antibodies to Heat-Labile Enterotoxin of Campylobacter jejuni. *J. Infect. Dis.*, 1985; 152(2): 413-416.

47. Snyder, J.D., Merson, M.H.: The magnitude of the global problem of acute diarrhoeal disease. A review of active surveillance data. Bull W.H.O. 1982; 60: 605-613.
48. Sjogren, E., Lindblom, G-B., Kaijser, B.: Comparison of Different Procedures, Transport Media, and Enrichment Media for Isolation of Campylobacter Species from Heatly Laying Hens and Humans with Diarrhea. J. Clin. Microbiol., 1987; 25(10): 1966-1968.
49. Takao, T., Tominaya, N., Yoshimura, S., Shimonishi, Y., Hara, S.: Isolation, primary structure and synthesis of heat-stable enterotoxin produced by Yersinia enterocolitica. Eur. J. Biochem., 1985; 152: 199-206.
50. Toyos, J., Díaz, R., Urra, E., Moriyón, I.: Analysis by Coagglutination of Distribution of a 24,000-Dalton Surface Protein in Yersinia Isolated. J. Clin. Microbiol., 1986; 23 (4):804-805.
51. Uhnöo, I., Wadell, G., Svensson, L.: Aetiology and Epidemiology of acute gastroenteritis in Swedish children. J. Infec., 1986; 13: 73-89.
52. Walker, R. I. Cadwell, M.B., Lee, E.C.: Pathophysiology of Campylobacter Enteritis. Microbiol. Rev., 1986; 50(1): 81-94.