

6



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

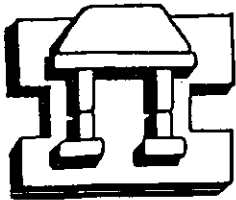
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"CAMPUS IZTACALA"

29/10/54

"BACTERIAS ENTEROPATOGENAS ASOCIADAS
A DIARREA AGUDA EN NIÑOS HOSPITALIZADOS
DE LA CIUDAD DE MEXICO".

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A
YARELI BARCENAS BERRUECOS

ASESOR. DR. RAUL VELAZQUEZ CASTILLO



IZTACALA LOS REYES IZTACALA, MEXICO

2001



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.

Este trabajo se realizó en la Sección de Bacteriología de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro Social. CMN-SXXI, IMSS.

Fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con el número de proyecto 3541 PM 9608.

DEDICATORIA

A Dios por todo lo que me ha dado en la vida.

A mis padres por su apoyo que me han dado para lograr una de mis metas. Les agradezco sus consejos que me motivaron a seguir estudiando.

A Leobardo por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Raúl Velázquez Castillo por las facilidades otorgadas para la realización del presente trabajo.

A mis revisores de tesis: M. en C. Gloria Luz Paniagua Contreras, Biol. Gloria Garduño Solorzano, Biol. Ma. Graciela Molina González, Biol. Ma. De los Angeles García Gómez, por la orientación brindada durante el desarrollo del presente trabajo.

Al M. en C. Leopoldo Muñoz Pérez , QFB. Silvia Gonzalez Arroyo, por su amistad y por las aportaciones recibidas en la elaboración de este trabajo. De igual forma a todo el personal de laboratorio de Investigación de Bacteriología y Virología.

ÍNDICE

PAG.

Resumen	1
Introducción	2
Cuadro 1.....	3
Cuadro 2.....	5
Antecedentes	7
Objetivos	8
Área de estudio	9
Material y métodos	10
Diagrama 1.....	13
Cuadro 3.....	14
Resultados	16
Diarrea por sexo y edad.....	16
Figura 1.....	17
Aislamiento de enteropatógenos.....	18
Aislamiento de acuerdo a grupos de edad.....	19
Figura 2 y 3.....	20
Figura 4 y 5.....	21
Diarrea con sangre.....	22
Distribución estacional.....	23
Figura 6.....	24
Figura 7.....	25
Discusión	26
Bibliografía	32
Anexo 1.....	36
Anexo 2.....	37

RESUMEN

Las infecciones diarreicas son causa importante de mortalidad y morbilidad a nivel mundial en menores de cinco años que radican en países en desarrollo. Es importante realizar estudios bacteriológicos que identifiquen los agentes causales y su frecuencia de aislamiento en casos de diarrea aguda que proporcionen un panorama epidemiológico que puede ser de ayuda en el tratamiento de los pacientes.

El presente estudio se realizó durante un periodo anual (octubre de 1999 a septiembre de 2000), para ver la prevalencia de bacterias enteropatógenas en niños menores de cinco años hospitalizados por diarrea aguda en la Ciudad de México. Comparando esta prevalencia con la edad, presencia de sangre en evacuaciones, estacionalidad y algunos factores ambientales (temperatura y humedad).

Para el aislamiento de bacterias se eligieron los medios más apropiados de transporte y de enriquecimiento. Para el cultivo, medios selectivos y diferenciales; así como pruebas bioquímicas y serológicas.

De 380 casos de diarrea aguda estudiados, el sexo no se asoció con la enfermedad, en los primeros dos años de edad se presentó mayor morbilidad. En 64 (17%) se aisló al menos un enteropatógeno bacteriano. Los géneros fueron: *Shigella* (10%), *Salmonella* (6%) y *Campylobacter* (1%). En *Shigella* se identificaron tres especies: *S. sonnei*, *S. flexneri* y *S. boydii*. Las cepas de *Salmonella* correspondieron a *S. enterica*; las cepas de *Campylobacter* fueron *C. jejuni*. Los aislamientos de *E.coli* corresponden a 38%; sin embargo, para este estudio no se realizó el análisis de sus formas patogénicas. No se aislaron cepas de *Vibrio cholerae*, *Aeromonas* y *Plesiomonas*.

Se encontró que *Shigella* fue más frecuente en niños mayores de 2 años ($p < 0.001$). *E.coli* prevalece en menores de 2 años ($p = 0.0009$). En *Salmonella enterica* y *Campylobacter jejuni* aunque predominaron en menores de 2 años, no se encontró asociación significativa de acuerdo a grupos de edad. Se detectaron 11 (3%) casos de diarrea con sangre, las bacterias asociadas fueron *Shigella* ($p = 0.03$) y *Salmonella enterica* ($p = 0.002$). *Campylobacter* no se asoció con disenteria (diarrea con sangre). La prevalencia mensual de cada bacteria aislada muestra que, *Shigella* presentó distribución estacional en los meses de junio, julio y agosto. *Salmonella*, *Campylobacter* y *E.coli* se presentaron durante todo el año. La probabilidad de infección por *Shigella* es cuatro veces mayor en primavera - verano (R.M= 4.37) que en las demás estaciones del año. Asimismo, se observó que la humedad aumentada se relaciona con la presencia de *Shigella* ($p = 0.05$).

Los resultados obtenidos en este estudio pueden ser utilizados como diagnóstico preventivo, analizando que *Shigella* es más frecuente en mayores de dos años, se asocia con sangre en las evacuaciones, se presenta en los meses de junio, julio y agosto y cuando la humedad aumenta.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones diarreicas son causa importante de mortalidad y morbilidad a nivel mundial, especialmente en menores de cinco años que radican en países en desarrollo (Bern *et al.*, 1993). Se estima una incidencia de 3.5 a 7.0 enfermedades diarreicas que ocurren anualmente por niño durante los primeros 2 años y de 2 a 5 cuadros diarreicos por niño por año entre 2 a 5 años de edad (Barnes *et al.*, 1998). El número de muertes en la ciudad de México por enfermedades infecciosas intestinales es de 855 por 100 000 nacidos vivos registrados (Reyes *et al.*, 1998).

La susceptibilidad al padecimiento es universal y afecta a todos los grupos de edad; sin embargo, se observa una mayor frecuencia en los extremos de la vida, menores de cinco años y mayores de 65 años, convirtiéndolos en los grupos más vulnerables a la enfermedad (Ayala, 1997).

En la actualidad, un análisis de estadísticas oficiales señala que la enfermedad diarreica aumenta en el periodo de destete, generalmente a partir del segundo semestre de vida y alcanza el pico de mayor morbilidad durante el destete definitivo, alrededor del segundo y tercer año. Las enfermedades diarreicas contribuyen importantemente a la mortalidad infantil debido a la deshidratación (Motarjemi *et al.*, 1994).

La diarrea es el síndrome clínico de un gran número de desordenes que afectan el sistema gastrointestinal. Es un trastorno de la absorción y secreción intestinal que una vez iniciado, puede mantenerse por sí mismo, provocando deshidratación e intensa perturbación celular, lo cual favorece su permanencia (Torregosa *et al.*, 1996). Se presenta como una alteración en la frecuencia y consistencia de las evacuaciones, ambas características varían ampliamente según la edad y los hábitos alimenticios (Vanderhoof, 1998).

Desde el punto de vista clínico los cuadros de enfermedad diarreica pueden dividirse en las siguientes categorías, siendo posible clasificar a todos los pacientes en una de ellas:

a)Diarrea aguda. Aproximadamente el 90% son diarreas agudas que pueden acompañarse de vómito, fiebre baja, disminución del apetito e irritabilidad; el cuadro puede prolongarse por varios días, en general menos de siete.

b)Disenteria o diarrea con sangre. Del 5 al 10% de los niños con enfermedad diarreica aguda, evacuan heces con sangre y moco. El cuadro clínico es causado por un enteropatógeno bacteriano que invade la pared intestinal, usualmente el colon, con necrosis epitelial, ulceración de la mucosa e inflamación aguda. La mayoría de los casos de disenteria son causados por especies de *Shigella*, *Campylobacter jejuni* y *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), rara vez por *Salmonella* o *Yersinia enterocolitica*. Este síndrome clínico casi siempre incluye fiebre alta, síntomas tóxicos, cólicos abdominales intensos y tenesmo (esfuerzo ineficaz y doloroso al defecar).

c)Diarrea prolongada. Del 2 al 4% de los niños menores de 2 años que son llevados a consulta por diarrea tienen una historia de enfermedad diarreica que ha persistido por 14 o más días después del comienzo agudo. La etiología puede ser *Shigella*, *E. coli* enteropatógena (ECEP).

d)Diarrea líquida grave con heces abundantes de aspecto de agua de arroz es generalmente causada por *E. coli* enterotoxigénica (ECET) o *Vibrio cholerae*. Los pacientes con este síndrome clínico pueden desarrollar rápidamente deshidratación grave (OPS, 1987).

En México la mayoría de las enfermedades diarreicas son de etiología infecciosa; se transmiten por diversos mecanismos, los más importantes son fecal-oral (contacto directo de las manos contaminadas de materia fecal con la boca) y la ingesta de agua o alimentos contaminados. En un estudio sobre la etiología de la enfermedad diarreica realizado por la OMS en niños menores de tres años, el hallazgo de agentes bacterianos en orden de importancia fue: *Shigella*, *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP), ECET (termoestable), ECET (termolábil), *Campylobacter* y *Salmonella*, (Ayala, 1997).

La identificación de gérmenes patógenos es de gran utilidad para la atención y seguimiento de pacientes. Desde el punto de vista de salud pública sirve para el estudio y control de brotes, principalmente de los relacionados con alimentos. También da información sobre los agentes infecciosos y esto permite analizar su distribución, frecuencia y tendencia de la enfermedad (Secretaría de Salud, 1994).

La etiología de las enfermedades diarreicas puede ser bacteriana, viral o parasitaria. Entre las bacterias causantes de enfermedades infecciosas intestinales de mayor frecuencia se encuentra la familia Enterobacteriaceae, la cual se define como bacilos gramnegativos, móviles, con flagelos peritricos, o inmóviles, no esporulados, anaerobios o aerobios facultativos, oxidasa negativos, su tamaño oscila entre 0.3 a 2µm. Son organismos que se encuentran habitando suelo, agua, materia en descomposición, en diversos productos alimenticios y como lo indica el nombre de la familia, en los intestinos de humanos y animales. Algunos microorganismos como *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Proteus* son parte de la flora normal del intestino, aunque pueden crear infecciones oportunistas; otros como *Shigella*, *Salmonella* son patógenos causantes de síndromes diarreicos y disentéricos (Cuadro 1). La familia incluye más de 20 géneros y 100 especies. Su taxonomía es compleja y está cambiando con rapidez conforme se efectúan otros estudios de homología del DNA (Murray, 1997 y 1999). Desde el punto de vista bioquímico se caracterizan por la capacidad de reducir los nitratos a nitritos, fermentar la glucosa con producción de ácido o ácido y gas. Mediante la evaluación de diferentes características metabólicas, es posible establecer un perfil bioquímico para hacer la identificación de especie (Maya, 1996).

CUADRO 1. GÉNEROS INTEGRANTES DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.

GÉNEROS	PATOGENICIDAD
<i>Escherichia</i>	Habitantes intestinales: gastroenteritis
<i>Citrobacter</i>	Habitante normal del intestino
<i>Salmonella</i>	Fiebre tifoidea: gastroenteritis por <i>Salmonella</i>
<i>Shigella</i>	Bacilos de la disentería
<i>Klebsiella</i>	Neumonía en el hombre
<i>Enterobacter</i>	Habitante normal del intestino
<i>Proteus</i>	Habitante intestinal, ocasionalmente patógeno para el hombre

Tomado de Maya, 1996.

Las cuatro especies de *Shigella* (*S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii*, *S. sonnei*) crecen exclusivamente en el humano (Banwell, 1990). El género *Salmonella* incluye a más de 2000 bioserotipos diferentes, muchos de los cuales están asociados con procesos de gastroenteritis aguda en el hombre y animales (Braude *et al.*, 1994). En el cuadro 2 se mencionan los grupos de edad que están en riesgo, las manifestaciones clínicas, características de las evacuaciones de diarrea ocasionada por *Shigella*, *Salmonella*, así como otros enteropatógenos bacterianos de mayor importancia.

Otros organismos causantes de enfermedades gastrointestinales son los géneros *Campylobacter*, *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas* que son bacilos gramnegativos, oxidasa positivos (Jawetz *et al.*, 1992).

La familia Campylobacteraceae género *Campylobacter* actualmente posee 15 especies. Estas habitan en diversas clases de animales, incluyendo animales domésticos; sobreviven a temperaturas de congelación de -20°C o -70°C . Son móviles por un solo flagelo, pueden tener forma espiral en "S" o un aspecto de ala de gaviota y en un cultivo viejo pueden llegar a ser cocoides. Son difíciles de cultivar por lo que requieren de una atmósfera y temperatura adecuadas para crecer, utilizando una jarra o incubadora en microaerofilia (5%O₂, 85%N₂, y 10%CO₂) que puede incubarse a 42°C o a 37°C ; se han desarrollado medios selectivos de enriquecimiento y de separación que están constituidos de agar base suplementado con sangre de carnero o carbón activado y con antibióticos que inhiben el crecimiento de organismos de la flora normal como bacterias gramnegativas, grampositivas y levaduras (Carvalho, 1997).

Campylobacter jejuni sobrevive mejor en heces, orina, agua y leche cuando se mantienen temperaturas de 4°C . Esta especie es frecuente en diarrea aguda y disentería en niños. La mayoría de los casos se manifiestan por deposiciones líquidas; sin embargo, un porcentaje de pacientes desarrolla disentería que clínicamente se asemeja a la disentería causada por *Shigella* (Braude *et al.*, 1994).

La familia Vibrionaceae incluye tres géneros causantes de enfermedad en el humano: *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas* (Murray *et al.*, 1997). Los vibriones se encuentran en estanques de agua dulce, estuarios y en aguas marinas superficiales; son bacilos curvos o rectos, no forman esporas, crecen en condiciones aerobias o anaerobias, en una variedad de medios simples y con un intervalo amplio de temperatura, desde 18 a 37°C . *Vibrio cholerae* causa diarrea acuosa abundante y deshidratación, dando como resultado la pérdida de una cantidad de líquidos similar al peso de la persona (Kumate *et al.*, 1993 y Maya *et al.*, 1996).

Aeromonas y *Plesiomonas* con menos frecuencia se han relacionado con enfermedades diarreicas. Habitan en agua dulce o salada y en ocasiones en animales de sangre fría. No requieren de medios selectivos para su recuperación, crecen bien en agar sangre de carnero y en muchos medios entéricos (Feigin *et al.*, 1992).

CUADRO 2. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LOS BROTES DE ETIOLOGÍA BACTERIANA.

Organismo	Grupos de edad afectados	Vómito	Fiebre	Diarrea	Período de incubación	Duración	Mecanismo de infección
<i>Shigella</i>	Todos especialmente de 6 meses a 10 años	Ocasional	Común	Puede ser disenteriforme	1-7 días	4-7 días	Alimentos agua persona a persona fecal - oral
<i>Salmonella</i>	Todos especialmente lactantes y niños pequeños	Ocasional	Común	Acuosa ocasionalmente sanguinolenta	8-48 h	3-5 días	Alimentos agua fecal - oral
<i>Campylobacter jejuni</i>	Todos especialmente menores de un año y adultos	Variable	Variable	Puede ser disenteriforme	3-5 días (1-7 días)	1-4 días ocasionalmente más de 10 días	Alimentos agua, mascotas fecal - oral
<i>Vibrio cholerae</i>	Todos	Común	Variable	Puede ser profusa y acuosa	9-72 h	3-4 días	Alimentos agua, fecal - oral
<i>Aeromonas</i>	Todos	Común	Ausente	Aguda, grave			Agua contaminada
<i>Plesiomonas</i>	Todos	Común	Ausente	Puede ser sanguinolenta	48 h		Alimentos

Tomado de Secretaría de Salud, 1994.

La identificación del agente responsable de las evacuaciones de diarrea aguda puede facilitar su tratamiento adecuado. Observar las heces con relación a su color, olor, forma y presencia de sangre o moco pueden ayudar a definir su etiología; sin embargo, es necesaria la realización de pruebas de rutina, generalmente disponibles en la mayoría de los laboratorios microbiológicos (Pezzarossi y Blanco, 1994).

Dada la importancia que tienen las enfermedades diarreicas por su elevada incidencia, es importante realizar periódicamente estudios bacteriológicos que identifiquen los agentes causales y su frecuencia de aislamiento en casos de diarrea aguda. Estas investigaciones proporcionan un panorama epidemiológico que puede ser de ayuda para aplicarlo directamente en el tratamiento de los pacientes. Los estudios transversales (son observadas las variables de estudio en un solo momento) que se han llevado a cabo en condiciones hospitalarias proporcionan información en menor tiempo a diferencia de los longitudinales (Hernández-Avila *et al.*, 2000).

Debido a lo anterior el presente estudio se realizó durante un periodo anual para ver la prevalencia de los agentes patógenos en la enfermedad diarreica aguda en niños menores de cinco años. El estudio forma parte de un trabajo multidisciplinario, donde participan los laboratorios de virología, bacteriología y parasitología de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas, del Hospital de Pediatría CMN-SXXI, IMSS.

ANTECEDENTES

La frecuencia de aislamiento de bacterias enteropatógenas en la enfermedad por diarrea varía de acuerdo al área geográfica, características socioeconómicas y culturales. En general, los países con alto grado de desarrollo tienen menor incidencia de diarreas bacterianas.

En Melbourne, Australia de abril de 1980 a marzo de 1993, se realizó un estudio sobre la etiología en gastroenteritis aguda. En 3,785 niños hospitalizados de 0 a 14 años de edad encontraron que los niños más afectados fueron los menores de 5 años. Las enterobacterias patógenas aisladas con mayor porcentaje fueron *Salmonella* 5.8% y *Campylobacter* 3.4%. *Salmonella* se presentó con mayor frecuencia en menores de un año (Barnes *et al.*, 1998).

El porcentaje de aislamiento bacteriano en un grupo de 381 niños menores de 5 años hospitalizados con diarrea en Lima, Perú (Cama *et al.*, 1999) fue de 34%: *E. coli* enterotoxigénica 16%, *Campylobacter jejuni* 12%, *Shigella* spp. 4% y *Vibrio cholerae* 2%.

En Calcutta, India, en un estudio de casos y controles, de 486 casos con diarrea *Shigella* fue el enteropatógeno bacteriano más común con un 40%. El serotipo predominante fue *Shigella flexneri* 80%, *S. boydii* 13% y *S. sonnei* 7%, *Salmonella* se detectó con 5% (Dutta *et al.*, 1999).

En Dhaka, Bangladesh, Faruque y colaboradores en 1993, identificaron la etiología en niños hospitalizados entre 1 a 35 meses de edad enfermos por diarrea aguda y con deshidratación. Analizaron un total de 269 casos y 700 controles; las bacterias enteropatógenas que se aislaron con mayor frecuencia fueron *Campylobacter* 27%, *Shigella flexneri* 3.4%, *Vibrio cholerae* 4.5% y *Salmonella* menor al 1%.

En México se ha estudiado la etiología de diarrea con sangre en niños menores de 5 años de edad. En lo que respecta a bacterias enteropatógenas, *Shigella* es el germen más común asociado a disentería, el cual se presenta con mayor frecuencia en niños mayores de 1 año. *Campylobacter jejuni* y *Salmonella* son más frecuentes en menores de un año (Benítez, *et al.*, 1991; Suárez-Hoíl, *et al.*, 1993 y Torres, *et al.*, 1995). Se ha reportado que la prevalencia de bacterias patógenas está afectada por la estacionalidad (Benítez *et al.*, 1991).

Los estudios realizados en México sobre diarrea aguda son los siguientes: en cuanto a al porcentaje de aislamiento de bacterias enteropatógenas en 121 niños se encontró que el 24.7% corresponden a *E. coli* enteropatógena, 14.8% *Salmonella*, 13.6% *Campylobacter* y 9.9% *Shigella* (Morayta *et al.*, 1993). Para 1997 en 380 niños hospitalizados menores de 5 años *Shigella* y *Campylobacter* fueron los enteropatógenos bacterianos más frecuentes en diarrea aguda y estos fueron asociados con presencia de sangre en las evacuaciones (Ayala, 1997). Luna en el 2000 estudió 399 niños hospitalizados menores de 5 años. Encontró que el 25% de las infecciones fueron por bacterias enteropatógenas de las cuales 18% fueron *Shigella*, 8% *Salmonella*, 6.3% *Campylobacter* y 0.33% *V. cholerae*. En 1993, Lezama-Basulto y colaboradores informan 8 casos de cólera en niños deshidratados por enfermedad diarreica. En 1999 se identificó en un estudio bacteriológico a *V. cholerae* como causa de diarrea en un niño con 3 días de edad, ocasionándole la muerte (Zavala *et al.*, 1999).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la prevalencia de bacterias enteropatógenas aisladas de la materia fecale, en niños menores de 5 años de edad que requirieron hospitalización por diarrea aguda en la Ciudad de México.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la frecuencia y distribución de la diarrea aguda de acuerdo a sexo y grupos de edad.
- Identificar las bacterias enteropatógenas asociadas a diarrea aguda en niños.
- Determinar la frecuencia de bacterias enteropatógenas de acuerdo a grupos de edad.
- Identificar las bacterias enteropatógenas asociadas a diarrea con sangre
- Determinar la distribución estacional de las bacterias enteropatógenas.
- Comparar la prevalencia de infección por bacterias enteropatógenas con algunos factores ambientales (temperatura y humedad).

ÁREA DE ESTUDIO

En la Ciudad de México se incluyeron tres hospitales de segundo nivel de atención del Instituto Mexicano del Seguro Social que corresponden a las regiones norte, centro y sur. En el norte el Hospital General de zona No. 27 "Tlatelolco"; en el centro el Hospital General Regional No. 1 "Gabriel Mancera" y en el sur el Hospital General de zona, No. 32 "Villa Coapa".

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo durante 1 año, del 1° de octubre de 1999 al 30 de septiembre de 2000. Se estudiaron niños con diagnóstico principal de diarrea aguda, que ingresaron a los servicios de pediatría de tres hospitales de segundo nivel de atención del Instituto Mexicano del Seguro Social en la Ciudad de México.

Los niños reclutados al estudio fueron seleccionados de acuerdo a los siguientes criterios de elegibilidad:

- Criterios de inclusión

Se incluyeron al estudio niños con edad de recién nacido a 5 años, que tuvieran residencia en la ciudad de México en los últimos 6 meses, con la aceptación por escrito de los padres o tutores del niño para participar en el estudio.

- Criterios de exclusión

No se consideraron al estudio niños con malformación del tubo digestivo, enfermedad crónica diferente de desnutrición (evaluado por la historia clínica), diarrea aguda de adquisición intrahospitalaria, así como diarrea con tiempo de evolución mayor de 3 días y aquellos que recibieron en su momento tratamiento antimicrobiano en los últimos 3 días.

Debido a que en los estudios epidemiológicos cada autor adopta diferentes criterios para el diagnóstico de diarrea, para el propósito de este estudio se definió como enfermedad diarreica a la presencia de 1) 3 o más deposiciones en 24 horas, con una consistencia líquida, 2) la presencia de evacuaciones disminuidas en consistencia, en número de 2 o más del patrón habitual del niño detectadas por la madre, 3) cuando existió por lo menos una evacuación con sangre disminuida de consistencia. La enfermedad diarreica se dio por terminada el primer día que el niño no tuvo alguna evacuación disminuida en consistencia y sin sangre, que continuó sin diarrea durante los siguientes 7 días. 4) Un cuadro de diarrea que duró más de 14 días se consideró como diarrea prolongada (Velázquez *et al.*, 1993 y 1996).

Al ingreso de cada niño y a lo largo de su periodo de hospitalización se registraron las características clínicas del cuadro diarreico y se evaluó la gravedad del mismo de acuerdo a un sistema de calificación de 20 puntos (ver, Anexo 1). Una calificación de 1 a 9 se definió como diarrea leve y una calificación de 10 o mayor se consideró como diarrea moderada-grave (Velázquez *et al.*, 1996 y 2000).

Con base a reportes previos en nuestro país, particularmente de la Ciudad de México, se consideró una proporción esperada de diarrea hospitalaria asociada a *Shigella* del 15% a 25%, ya que es el enteropatógeno bacteriano más frecuentemente aislado. Se estableció un intervalo de confianza de la estimación del 95%, con una variación de $\pm 5\%$, resultando un tamaño de muestra de 170 a 250 pacientes (Hulley y Cumings, 1998). Considerando un 20% de posibles pérdidas, se requirió de una muestra máxima de 300 pacientes a reclutar en un periodo de 12 meses de estudio entre los tres hospitales; se requirió un promedio de 8 a 9 ingresos mensuales por hospital.

El estudio consistió en la colección de heces al ingreso del niño y su procesamiento en el laboratorio como se describe a continuación.

COLECCIÓN DE HECES

La colecta se realizó durante las primeras 24 horas después del ingreso; la materia fecal se inoculó en medio de transporte Cary-Blair, en medios de enriquecimiento de caldo selenito y agua peptonada, para poder ser transportados en hielo al laboratorio en un máximo de 2 horas (Isenberg, 1992 y Murray *et al.*, 1999).

TRABAJO DE LABORATORIO (Ver diagrama 1)

Aislamiento

De las heces obtenidas del medio de transporte Cary Blair para el aislamiento bacteriano, se inocularon 8 medios: CAMPY-BAP sin antibiótico y con antibiótico (ver, Anexo 2) para *Campylobacter*, (TCBS) Sales Biliares-Tiosulfato-Citrato y Sacarosa para *V. cholerae* y otros vibrios. Para los principales géneros de enterobacterias, (GS/A) Gelosa Sangre con antibiótico – ampicilina, (MH) Mueller Hinton, (MC/S) MacConkey- Sorbitol, (MC) MacConkey, (XLD) Xilosa-Lisina-Deoxicolato, (SS) Salmonella-Shigella (Secretaría de Salud, 1994).

El aislamiento de colonias se realizó con asa de siembra por estría cruzada. El medio CAMPY-BAP, se incubó de 2 a 7 días a 37°C en condiciones de microaerofilia (Carvalho, 1998). El resto de los medios se incubaron durante 24 horas a 37°C junto con los medios de enriquecimiento caldo selenito y agua peptonada, los cuales permiten el crecimiento de enteropatógenos y retardan el crecimiento de gérmenes de la flora normal; además, son útiles cuando el número de patógenos es reducido. Posteriormente los medios de enriquecimiento se resembraron en placas de XLD y MC para el caldo selenito y en TCBS para el agua peptonada (Lesmana *et al.*, 1997).

Después de haber obtenido el crecimiento en los medios diferenciales, se seleccionaron las colonias de acuerdo a su forma y color según el medio inhibitorio para su posterior identificación con las pruebas bioquímicas correspondientes (Koneman *et al.*, 1997).

Selección de colonias

De los medios CAMPY-BAP con antibiótico y sin antibiótico se obtuvieron las colonias grises. Se realizó un frotis con tinción de Gram, se observó al microscopio para la búsqueda de *Campylobacter*. Posteriormente se aisló un cultivo puro y masivo en MH y GS sin antibiótico para poder realizar las pruebas de identificación.

Del medio TCBS se seleccionaron colonias amarillas sospechosas de *Vibrio*, positivas a la prueba de actividad citocromo oxidasa, por la técnica directa en placa del laboratorio DIFCO, USA.

A partir del medio GS/A se seleccionaron las colonias beta hemolíticas y no hemolíticas, oxidasa positivas (DIFCO USA) y del medio MH las colonias oxidasa positivas sospechosas de *Aeromonas* o *Plesiomonas*.

De los medios MC/S y MC se obtuvieron 5 cepas que no fermentan sorbitol y 5 cepas que fermentan lactosa respectivamente como posibles *E. coli* utilizando como criterio de selección la morfología colonial característica para esta enterobacteria. A estas cepas no se les hicieron pruebas bioquímicas.

Para el aislamiento de *Shigella* y *Salmonella* se seleccionaron a partir de los medios MC, XLD o SS las colonias que no fermentan la lactosa, es decir Lac(-).

Identificación Bioquímica.

Las pruebas bioquímicas mínimas son las que indica el manual de Murray, con ellas es posible diferenciar los microorganismos más importantes. Las colonias seleccionadas se inocularon en los siguientes 8 medios: citrato de Simmons, caldo malonato, caldo urea, rojo de metilo, lisina, (MIO) movilidad, indol, ornitina; fenilalanina y (TSI) agar triple azúcar, hierro. Para *Campylobacter* se realizaron las pruebas de actividad citocromo oxidasa (DIFCO, USA), catalasa (DIFCO USA), e hidrólisis de hipurato, las colonias positivas a estas pruebas fueron inoculadas en TSI. Estas pruebas son las suficientes para su identificación. Luego se procedió a la lectura de estas según el manual de Murray (Cuadro 3) identificando género y si era posible especie.

Identificación serológica.

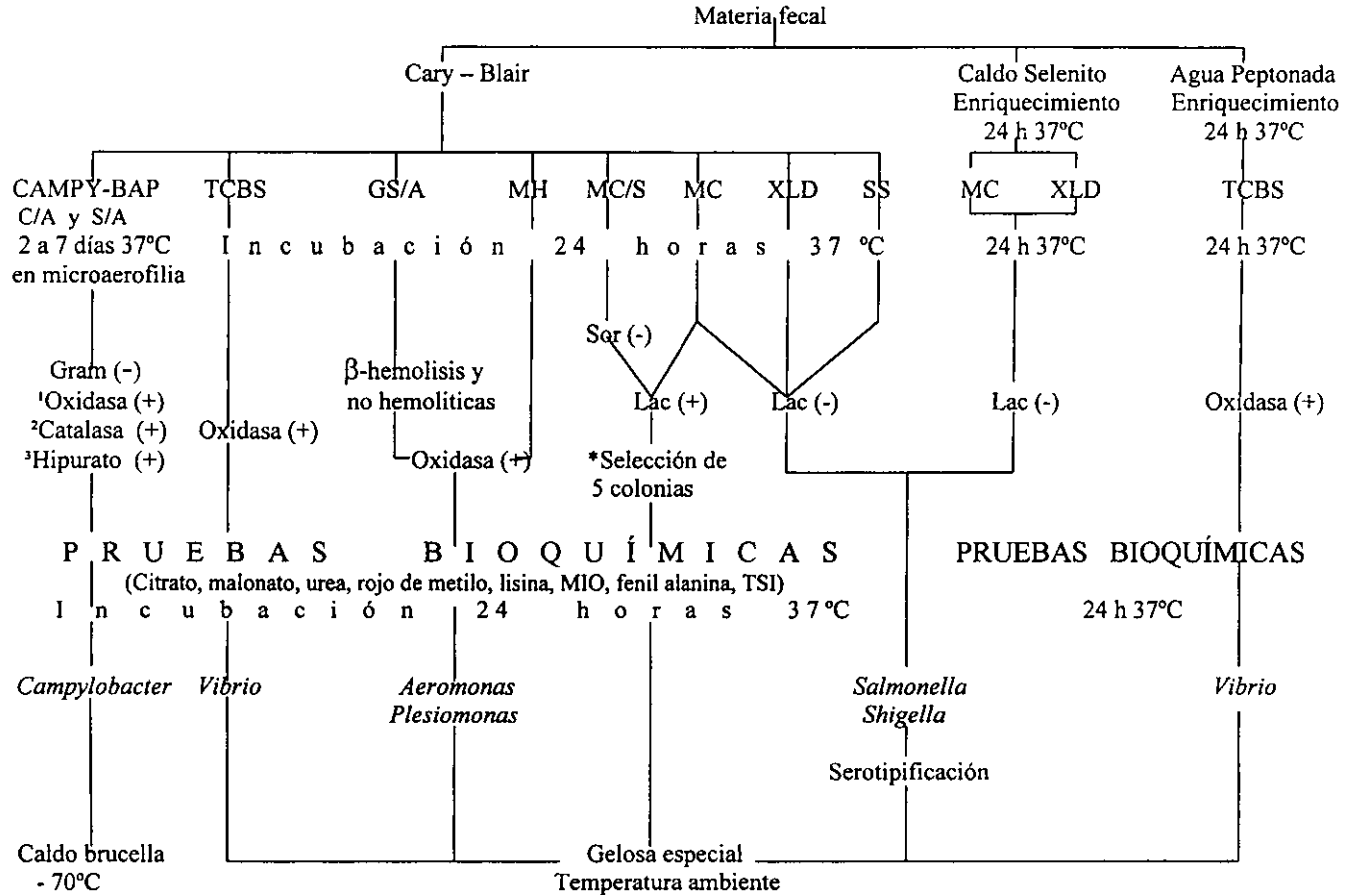
Para identificar o confirmar la especie se realizaron pruebas serológicas sólo a las colonias pertenecientes a los géneros *Salmonella* y *Shigella* detectadas previamente por pruebas bioquímicas. Se hizo mediante la técnica de aglutinación en lámina, usando antisueros polivalentes comerciales (DIFCO, USA). Para las cepas de *Salmonella* el suero para los antigrupos A, B, C1, C2, D y E. Las cepas de *Shigella* con los sueros antigrupos A, B, C y D.

Conservación de cepas.

Las cepas de *Campylobacter* se inocularon en caldo brucella y se almacenaron en congelación a -70°C para trabajos posteriores. Las cepas aisladas de *E. coli* se conservaron en medio de gelosa especial por duplicado a temperatura ambiente para trabajos posteriores, que no fueron incluidos en este estudio sobre la identificación de la actividad patógena que reconoce los grupos de *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enteroadherente y *E. coli* enterohemorrágica (ECEH).

Se utilizó gelosa especial para la conservación de cepas de *Salmonella* y *Shigella*. De un cultivo puro se inocularon en viales de 3ml con tapón de rosca por cada cepa, estas se almacenaron a temperatura ambiente para estudios posteriores.

DIAGRAMA 1. PROCESAMIENTO DE HECES.



C/A = Con antibiótico
S/A = Sin antibiótico
TCBS = Sales biliares-tiosulfato-citrato y sacarosa
GS/A = Gelosa Sangre con antibiótico
MH = Mueller Hinton

MC/S = MacConkey - Sorbitol
MC = MacConkey
XLD = Xilosa-Lisina-Desoxicolato
SS = Salmonella-Shigella
Sor(-) = No fermenta Sorbitol

Lac(+) = Fermenta lactosa
Lac(-) = No fermenta lactosa
MIO = Movilidad, Indol, Ornitina
TSI = Triple azúcar, hierro
¹²³ Pruebas bioquímicas

* A estas cepas no se les realizaron pruebas bioquímicas

CUADRO 3. Pruebas bioquímicas

Organismo	Citrato de Simmons	Malonato	Urea	Rojo de metilo	Lisina	Movilidad (36°C)	Indol	Omitina	Fenilalanina	(H ₂) TSI	Catalasa	Oxidasa	Hidrólisis de hipurato	D- Glucosa, ácido	D- Glucosa, gas	Lactosa	Sacarosa
<i>Campylobacter</i> <i>C. Jejuni</i>	/	/	-	/	/	/	/	/	/	-	+	+	+	/	/	/	/
<i>Escherichia</i> <i>E. coli</i>	-	-	-	+	+	+	+	V	-	-	-	-	-	+	+	+	V
<i>Shigella</i> <i>S. dysenteride</i> (Grupo A) <i>S. flexneri</i> (Grupo B) <i>S. boydii</i> (Grupo C) <i>S. sonnei</i> (Grupo D)	- - - -	- - - -	- - - -	++ ++ ++ +	- - - -	- - - -	V V V -	- - - V	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	++ ++ ++ +	- - - -	- - - -	- - - -
<i>Salmonella</i> <i>S. enterica</i>	V	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-
<i>Vibrio</i> <i>V. cholerae</i>	+	/	-	/	+	+	+	+	/	-	+	+	-	+	-	-	+

+ = 90% son positivos con 48 h

- = son negativos en 48 h

V = 10% son positivos en 48 h

/ = Estas pruebas bioquímicas no son necesarias para la identificación del organismo.

Tomado de Murray *et al.*, 1999.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para analizar la proporción de enteropatógenos bacterianos encontrados de acuerdo a la edad, sexo, presencia de diarrea con sangre y estacionalidad, se compararon los resultados según fuera adecuado por medio de chi-cuadrada (X^2) ó prueba exacta de Fisher, tomando el valor de $p \leq 0.05$ como significativo. La asociación entre variables se determino mediante cálculo de la razón de momios (R.M) con su respectivo intervalo de confianza de 95%.

RESULTADOS

Durante el periodo de estudio, octubre de 1999 a septiembre de 2000, se hospitalizaron 844 niños menores de 5 años con diagnóstico de diarrea aguda en los tres hospitales participantes. Se reclutó 380 (45%) del total de casos (Fig. 1), respetando los criterios de selección establecidos en el estudio.

DIARREA POR SEXO Y EDAD

La tabla 1 muestra la distribución proporcional de los 380 casos de diarrea aguda, por sexo y grupos de edad. De ellos, 221 (58%) corresponden al sexo masculino y 159 (42%) al femenino. Estadísticamente no se encontró asociación de la enfermedad con el sexo. La distribución por grupos de edad mostró el mayor porcentaje en el grupo de 7 a 12 meses (25%), seguido por el grupo de menores de 6 meses (20%), de 13 a 18 meses (19%) y para los grupos de edad restantes se manifestó una disminución de la enfermedad diarreica con forme aumento la edad hasta los 60 meses, la cual no fue significativa ($X^2= 0.436$, $p=0.5$).

Tabla No. 1 Distribución proporcional de los casos de diarrea aguda por sexo y grupos de edad.

Grupos de edad en meses	Masculino No.	Femenino No.	Total No. (%)
< - 6	43	33	76 (20)
7 - 12	58	37	95 (25)
13 - 18	41	30	71 (19)
19 - 24	23	16	39 (10)
25 - 36	28	19	47 (12)
37 - 48	19	17	36 (10)
49 - 60	9	7	16 (4)
Total (%)	221 (58)	159 (42)	380 (100)

Tendencia de la edad $X^2= 0.436$, $p=0.5$

AISLAMIENTO DE ENTEROPATÓGENOS

Los enteropatógenos bacterianos aislados de la materia fecal de los niños, durante la fase aguda de la enfermedad se presentan en la tabla 2. Se identificaron dentro de la familia Enterobacteriaceae los géneros *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Shigella* con las especies *S. sonnei*, *S. flexneri*, *S. boydii* y el género *Salmonella* especie *S. enterica*. La familia Pseudomonadaceae género *Pseudomona* spp. En la familia Campylobacteraceae el género *Campylobacter* especie *C. jejuni*.

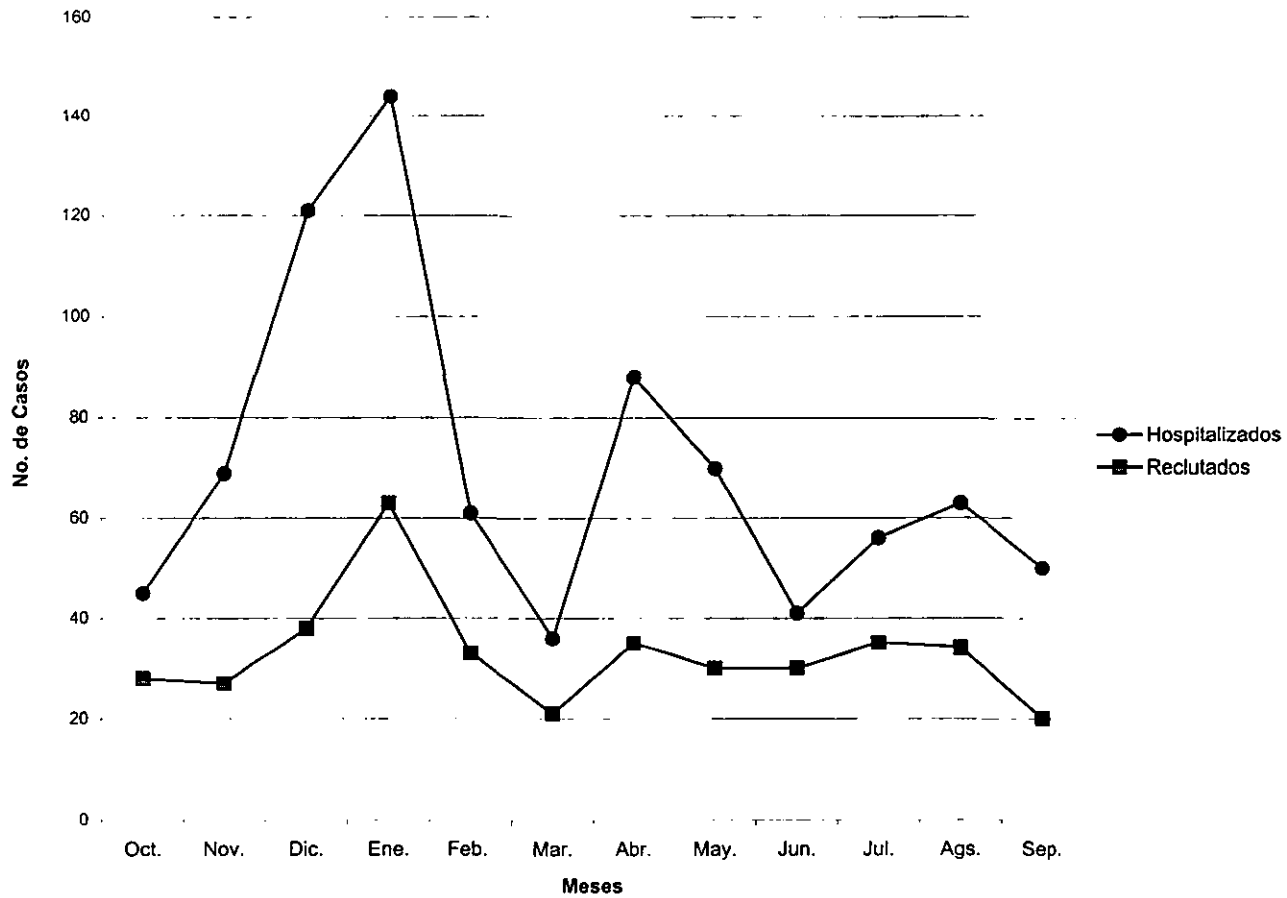


Figura 1. Número total de niños menores de 5 años hospitalizados por diarrea aguda y número de casos reclutados al estudio.

El germen aislado con mayor frecuencia fue *E.coli* con 38%; sin embargo, es importante señalar que para este estudio no se realizó el análisis de sus formas patógenas. Los géneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* y *Pseudomona* se consideraron como flora normal del intestino y se agruparon dentro de los “no patógenos aislados” para facilitar su posterior análisis y representan el 39% de los aislamientos (Tabla 2).

El total de aislamientos de bacterias enteropatógenas corresponde a 17%: *Shigella sonnei* (6%), *S. flexneri* (3%), *S. boydii* (1%), las cuales se consideraron para posteriores análisis sólo como género *Shigella* con 10% de aislamiento. También se identificó a *Salmonella enterica* (6%) y *Campylobacter jejuni* (1%). No se aislaron cepas de *Vibrio cholerae*, *Aeromonas* y *Plesiomonas*. En 6% de las muestras no se presentó desarrollo bacteriano (Tabla 2).

Tabla No. 2 Total de aislamientos de enterobacterias en diarrea aguda.

Organismo	Frecuencia (%)	
Familia Enterobacteriaceae		
Genero <i>Citrobacter</i> spp.†	21	(6)
<i>Enterobacter</i> spp.†	50	(13)
<i>E.coli</i>	146	(38)
<i>Klebsiella</i> spp.†	3	(1)
<i>Proteus</i> spp.†	70	(18)
<i>Shigella</i>		
<i>S. sonnei</i> ‡	24	(6)
<i>S. flexneri</i> ‡	13	(3)
<i>S. boydii</i> ‡	2	(1)
<i>Salmonella enterica</i>	21	(6)
Familia Pseudomonadaceae		
<i>Pseudomona</i> spp.†	3	(1)
Familia Campylobacteraceae		
Genero <i>Campylobacter jejuni</i>	4	(1)
Sin desarrollo bacteriano	23	(6)
Total	380	(100)

† Estos géneros se consideraron como flora normal del intestino y fueron agrupados en “No patógenos aislados” para su análisis, con un total de 39%.

‡ De los aislamientos de las especies de *Shigella*, para su análisis se tomó el total del género, que corresponde al 10%.

AISLAMIENTO DE ACUERDO A GRUPOS DE EDAD

La frecuencia de aislamiento para *Shigella* por grupos de edad (Fig.2) muestra que la infección presenta una tendencia a incrementar conforme aumenta la edad ($p < 0.001$), al igual que en el caso de *Salmonella enterica* ($p = 0.017$) que se presenta en la figura 3. *Campylobacter jejuni* (fig.4) tuvo una mayor proporción en niños menores de 2 años, pero no fue significativamente asociado ($p = 0.07$) y en lo que respecta a *E.coli*, no se presentó tendencia significativa por grupos de edad (fig. 5).

Los aislamientos con respecto a la edad se muestran en la tabla 3, se observa que el 71% ocurrió en menores de 2 años y el 29% de 2 a 5 años. La frecuencia de aislamiento de las bacterias enteropatógenas en menores y mayores de 2 años fue diferente. En el caso de *Shigella* ($p < 0.001$) fue más frecuente en niños mayores de 2 años; el análisis por razón de momios (R.M= 7.22) muestra que la posibilidad de infección por este germen es siete veces mayor en mayores de 2 años, que en niños menores de 2 años. Para *E.coli* fue más frecuente en menores de 2 años ($p = 0.0009$); el riesgo de infección es casi tres veces mayor en menores de 2 años que en el resto de las edades (R.M=2.89). En *Salmonella enterica* y *Campylobacter jejuni* aunque predominan en menores de 2 años, no se encontró asociación significativa de acuerdo a grupos de edad.

Tabla No. 3 Frecuencia de aislamiento de bacterias enteropatógenas en heces de niños con diarrea aguda por grupos de edad.

Organismo	Grupos de edad		Total		R.M*	P**
	≤ 2 años	2 – 5 años	No.	%		
<i>Shigella</i>	10	29	39	(10)	7.22 (3.08-17.26)	<0.001
<i>Salmonella enterica</i>	15	6	21	(6)	N.S	N.S
<i>Campylobacter jejuni</i>	4	0	4	(1)	N.S	N.S
<i>E.coli</i> †	103	43	146	(38)	2.89 (1.51-5.56)	0.0009
No patógenos aislados	119	28	147	(39)		
Sin desarrollo bacteriano	17	6	23	(6)		
Total	268	112	380			
(%)	(71)	(29)		(100)		

*R.M= Razón de momios e intervalo de confianza de 95%.

**P por prueba de probabilidad exacta de Fisher.

N.S = No significativo

† Para este estudio no se caracterizaron las formas patógenas de las cepas de *E.coli*.

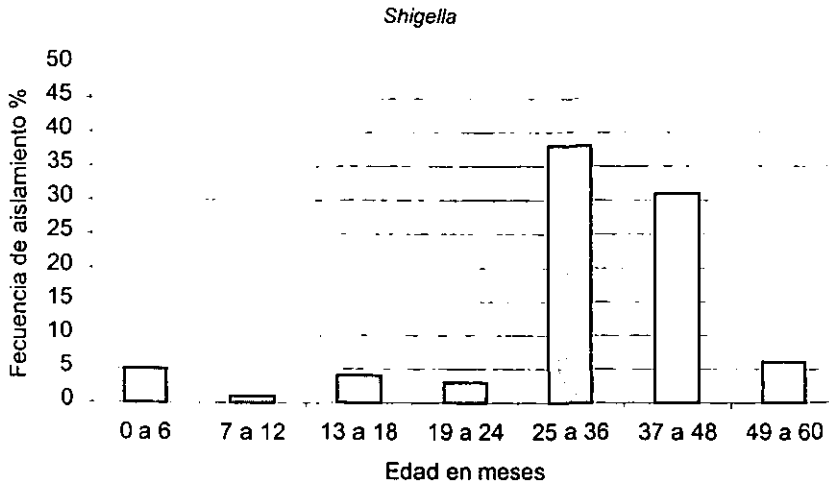


Figura 2. Aislamiento de *Shigella* en niños con diarrea aguda de acuerdo a grupos de edad. ($p < 0.001$)*

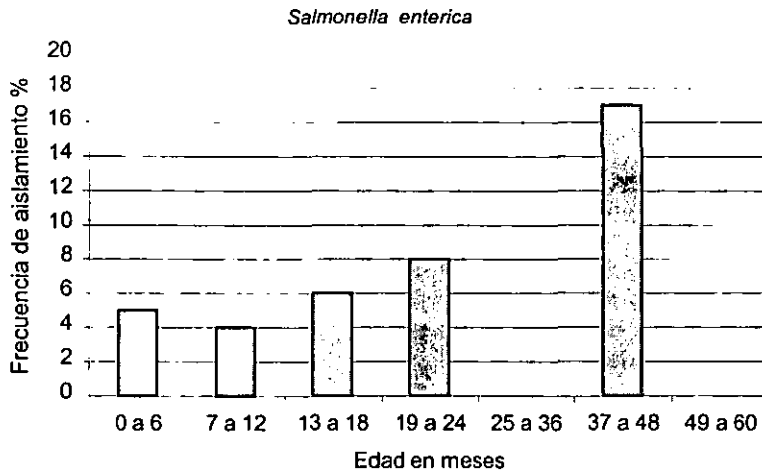


Figura 3. Aislamiento de *Salmonella enterica* en niños con diarrea aguda de acuerdo a grupos de edad. ($p = 0.017$)*

*P por prueba de probabilidad exacta de Fisher

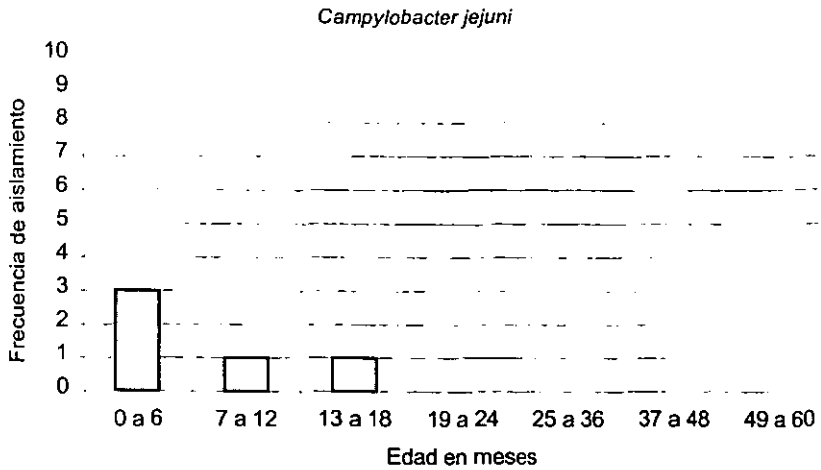


Figura 4. Aislamiento de *Campylobacter jejuni* en niños con diarrea aguda de acuerdo a grupos de edad. (p=0.07)*

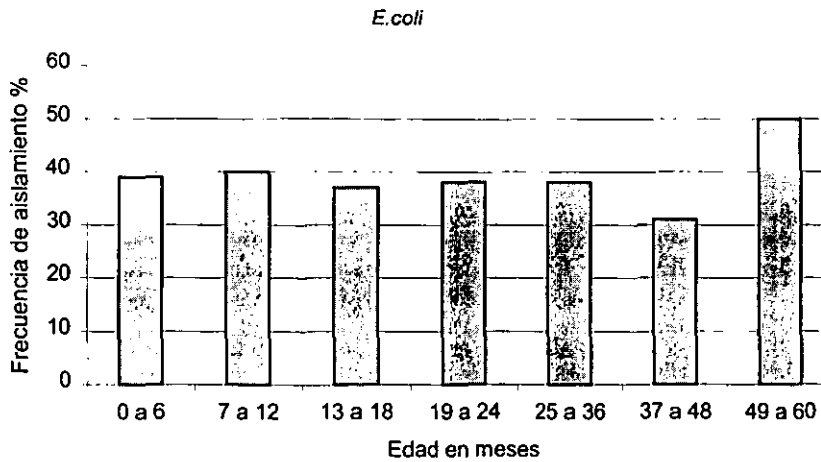


Figura 5. Aislamiento de *E.coli* en niños con diarrea aguda de acuerdo a grupos de edad. (p= N.S.)*

*P por prueba de probabilidad exacta de Fisher.
N.S.= no significativo

DIARREA CON SANGRE

En los 380 casos de diarrea aguda se detectaron en 11(3%) enfermedades de diarrea con sangre; 5 por *Shigella*, 5 por *Salmonella enterica* y 1 por *E.coli* (Tabla 4). Al realizar el análisis *Shigella* ($p=0.03$) y *Salmonella enterica* ($p=0.002$) se asociaron significativamente con disentería, comparados con el resto de los aislamientos. La posibilidad de que *Shigella* se asocie a diarrea con sangre es cuatro veces mayor que para el resto de bacterias aisladas (R.M= 4.04). Asimismo *Salmonella enterica* tiene nueve veces mayor probabilidad de asociarse a diarrea con sangre, comparada con el resto de los aislamientos (R.M=9.53). Para *Campylobacter jejuni* no se presentó ningún caso de disentería, por lo que el análisis estadístico mostró una protección contra la posibilidad de presentar diarrea con sangre, en comparación con el aislamiento de otros enteropatógenos (R.M =0.04). *E.coli* no fue asociado con disentería.

Tabla No. 4 Aislamiento de enteropatógenos bacterianos en diarrea aguda con sangre y sin sangre.

Organismo	Diarrea con sangre	Diarrea sin sangre	Total	R.M*	P**
<i>Shigella</i>	5	34	39	4.04 (1 - 16015)	0.03
<i>Salmonella enterica</i>	5	16	21	9.53 (2.21 - 41)	0.002
<i>Campylobacter jejuni</i>	0	4	4	0.04 (0.002 - 0.29)	<0.001
<i>E.coli</i>	1	145	146	N.S	N.S
No patógenos aislados	0	147	147		
Sin desarrollo bacteriano	0	23	23		
Total	11	369	380		
(%)	(3)	(97)	(100)		

*R. M= Razón de momios e intervalo de confianza de 95%

**P por prueba de probabilidad exacta de Fisher.

N.S= No significativo

La calificación establecida para diferenciar diarrea leve de diarrea moderada-grave no se asoció a la presencia de alguna bacteria enteropatógena en particular, a pesar de que los aislamientos fueron más frecuentes en los casos de diarrea moderada-grave (Tabla 5).

Tabla No. 5 Aislamientos de acuerdo a la evaluación de la gravedad del episodio diarreico.

Organismo	Diarrea leve	Diarrea moderada-grave	Total	P*
<i>Shigella</i>	2	37	39	N.S
<i>Salmonella enterica</i>	3	18	21	N.S
<i>Campylobacter jejuni</i>	1	3	4	N.S
<i>E. coli</i>	9	137	146	N.S
No patógenos aislados	7	140	147	
Sin desarrollo bacteriano	2	21	23	
Total	24	356	380	
(%)	(6)	(94)	(100)	

* P por prueba de probabilidad exacta de Fisher.

N.S= No significativo

DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL

La enfermedad diarreica en niños hospitalizados presentó mayor prevalencia en los meses de diciembre a enero, abril a mayo y julio a agosto. Esta prevalencia se logra representar de manera semejante entre los casos reclutados al estudio (fig. 1). El análisis de prevalencia por mes, de acuerdo a las bacterias enteropatógenas aisladas, muestra que *Shigella* tuvo una distribución estacional con mayor número de aislamientos en los meses de junio, julio y agosto; *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni* y *E.coli* se presentaron durante todo el año sin predominio estacional (fig. 6).

La probabilidad de infección por *Shigella* es cuatro veces mayor en primavera – verano (R.M= 4.37) que en las demás estaciones del año (Tabla 6). *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni* y *E.coli* no fueron significativos de acuerdo a la estacionalidad.

Tabla No. 6 Distribución estacional del aislamiento de enteropatógenos bacterianos.

Organismo	Primavera – Verano	Otoño – Invierno	Total	R.M*	P**
<i>Shigella</i>	30	9	39	4.37	0.0003
<i>Salmonella enterica</i>	10	11	21	N.S	N.S
<i>Campylobacter jejuni</i>	1	3	4	N.S	N.S
<i>E.coli</i>	63	83	146	N.S	N.S
No patógenos aislados	61	86	147		
Sin desarrollo bacteriano	13	10	23		
Total	178	202	380		
(%)	(47)	(53)	(100)		

R. M= Razón de momios

** P por prueba de probabilidad exacta de Fisher.

N.S = no significativo

Los factores de temperatura y humedad ambiental en los meses de junio, julio y agosto tuvieron relación con la mayor prevalencia de *Shigella*. Al realizar el análisis estadístico se encontró asociación significativa entre la humedad y la presencia de *Shigella* ($p=0.05$). Para los géneros *Salmonella enterica* y *Campylobacter jejuni* no se mostró una relación con estos factores ambientales, debido al bajo aislamiento de los mismos (fig. 7).

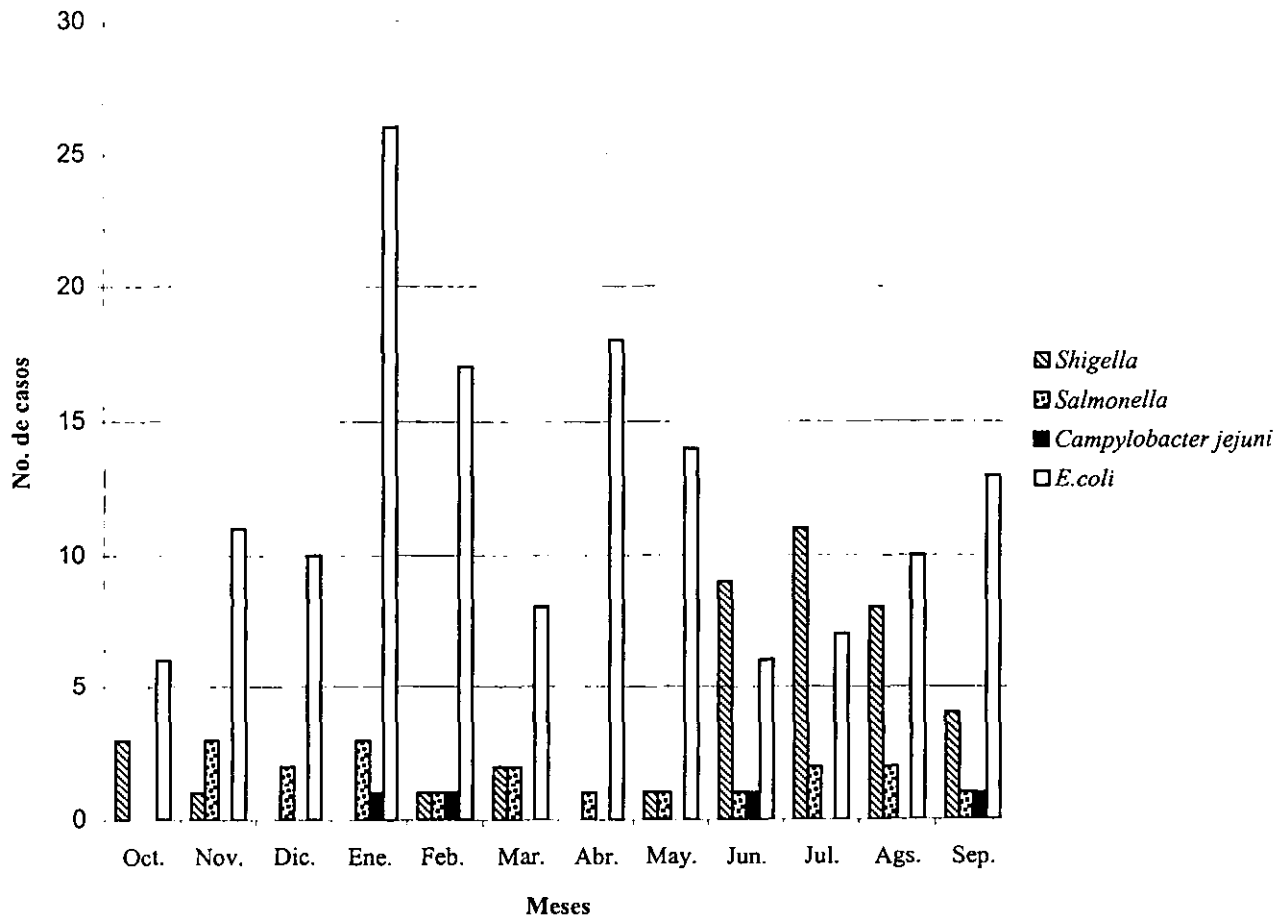


Figura6. Número de aislamientos de enteropatógenos bacterianos de acuerdo al mes de infección.

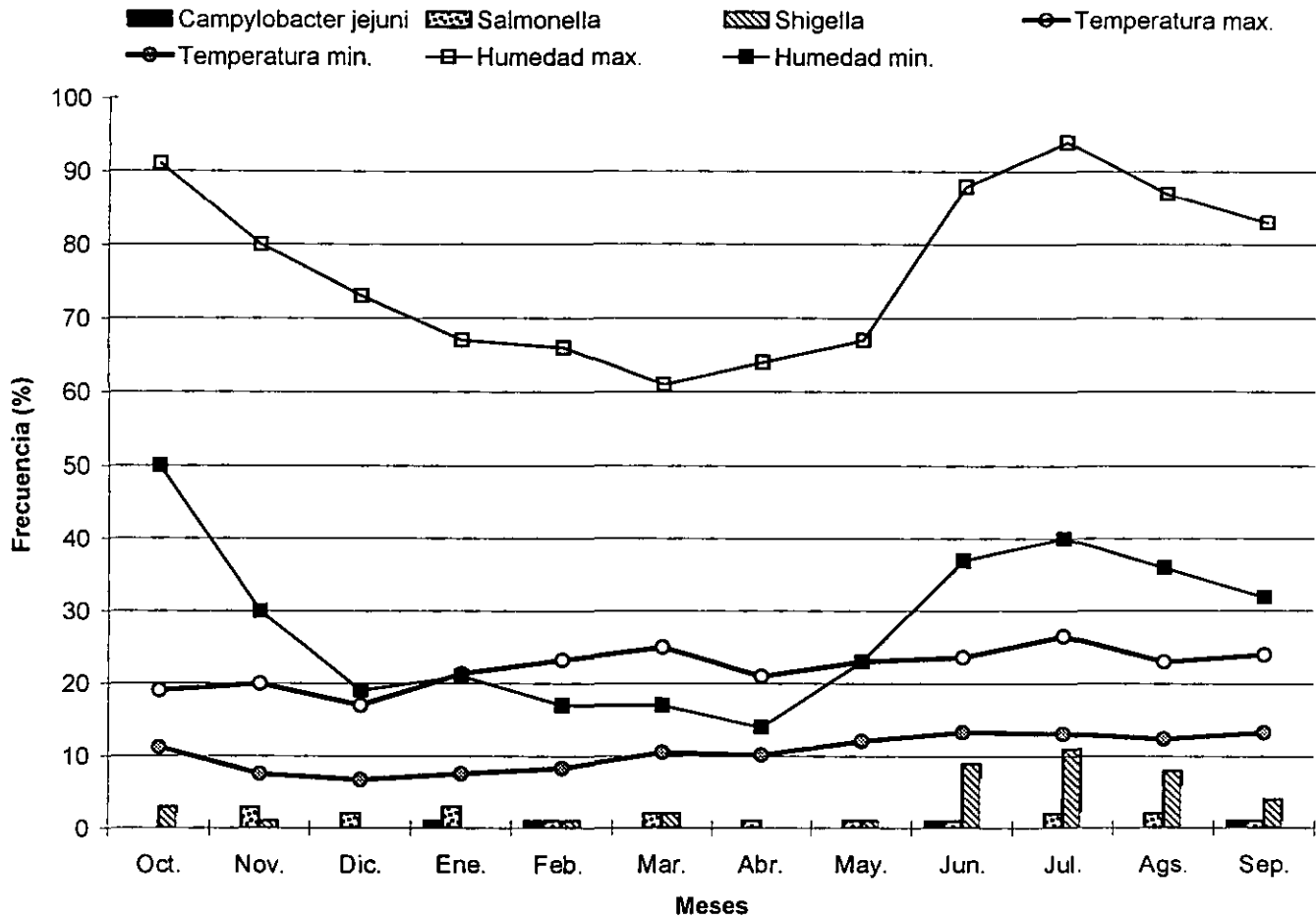


Figura 7. Factores climáticos y su relación con la presencia de bacterias enteropatógenas. Humedad min. Vs. *Shigella* p=0.05

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se estudió la morbilidad por diarrea aguda en niños hospitalizados en la Ciudad de México, para ver la prevalencia de bacterias enteropatógenas. Se observó durante el periodo de estudio que el diagnóstico de laboratorio presentó de manera global una disminución en la incidencia por enteropatógenos bacterianos, debido al incremento de otros patógenos no bacterianos.

Se comparó la prevalencia de bacterias enteropatógenas con la edad, presencia de diarrea con sangre, así como la estacionalidad y algunos factores ambientales.

El sexo no se asoció con la morbilidad por enfermedad diarreica aguda; en la literatura se ha reportado que a pesar de existir una diferencia marcada por el sexo masculino, que pareciera ser más susceptible a la enfermedad, no presenta alguna relación (Ayala, 1997). El periodo de vida donde se presentó mayor morbilidad por diarrea aguda fue en los primeros 2 años de edad. Gutiérrez (1998) menciona que se debe a que los niños menores de 1 año presentan un riesgo elevado para contraer infecciones debido a la incapacidad relativa de su función inmunológica, dado que al año de edad la proporción de inmunoglobulinas apenas llega a ser del 40% en relación con niños mayores y adultos, situación que favorece complicaciones intestinales y proliferación bacteriana. Los niños entre 1 y 2 años se encuentran en el destete definitivo, por lo que son susceptibles a la enfermedad si no se tienen cuidados de higiene (Motarjemi *et al.*, 1994).

Las técnicas empleadas en el estudio para la identificación de bacterias son rápidas y seguras. En la práctica de laboratorio es factible emplear pruebas bioquímicas y la serología sólo se aplica como examen confirmatorio o con propósitos epidemiológicos, como en nuestro caso.

El aislamiento de bacterias enteropatógenas fue de 17%, menor al reportado en otros países y en México. En Perú reportan 34% de aislamiento de enteropatógenos bacterianos (Cama *et al.*, 1999), en Bangladesh hasta el 59% (Faruque *et al.*, 1993) y en México del 25% al 40% en diarrea aguda (Luna, 2000; Morayta *et al.*, 1993). El bajo aislamiento obtenido en nuestro estudio se atribuye como ya se mencionó a una mayor prevalencia de otros enteropatógenos no bacterianos.

Los gérmenes bacterianos que son aislados con mayor frecuencia en diarrea aguda incluyen a *E.coli* (ETEC), *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* y *Aeromonas*, (Bardhan *et al.*, 1998 y Kingamkono *et al.*, 1999). Esto coincide con nuestro estudio donde se identificaron a *E.coli*, tres especies de *Shigella* (*S. sonnei*, *S. flexneri*, *S. boydii*), *Salmonella enterica* y *Campylobacter jejuni*. No se aislaron cepas de *Vibrio*, *Aeromonas* y *Plesiomonas*.

Las infecciones por *E. coli* son probablemente las enfermedades más frecuentes en los países en desarrollo y la causa de hasta 25% de todos los cuadros diarreicos. Es de los primeros colonizadores del intestino del recién nacido. Esta bacteria puede adquirirse de la microflora fecal de la madre durante el parto o por vía fecal-oral puede haber contagio de madre a hijo. Las manos contaminadas del personal (enfermeras) pueden transmitir los organismos a lactantes. Esto explica porque en este estudio encontramos una alta frecuencia de aislamiento (38%) de esta enterobacteria. Actualmente

se han desarrollado métodos para el conocimiento de enteropatógenos invasivos, como las pruebas que permiten la serotipificación de cepas de *E. coli*; así como conocer su capacidad invasiva mediante la inoculación en animales de experimentación (Pezzarosssi y Blanco, 1994). Sin embargo se requiere de mayor tiempo para su estudio por lo que no se incluyó en nuestro trabajo la identificación de los grupos y su actividad patógena, ya que forman parte de otra investigación.

En lo que respecta a *Shigella* los resultados de estudios microbiológicos efectuados en hospitales pediátricos han confirmado que representa una de las principales causas de enfermedad diarreica aguda (Ramírez *et al.*, 1996) debido a que es un importante problema sanitario en los países en desarrollo y causa del 10 al 15% de las diarreas agudas en menores de 5 años (Motarjemi *et al.*, 1994). Como se esperaba, de las bacterias enteropatógenas identificadas en nuestro estudio *Shigella* fue el género más frecuentemente aislado de las muestras analizadas y se encontró dentro del porcentaje esperado (10%).

Un estudio realizado en Cuba, identificó a *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei* como los serogrupos de mayor prevalencia (Cabrera *et al.*, 1998^a), refiriéndose la semejanza de estos resultados con los obtenidos en nuestro estudio y con otros realizados en México en años anteriores (Morayta *et al.*, 1993; Ayala, 1997; Luna, 2000). La Organización Mundial de la Salud (OMS) plantea para países en desarrollo que en la medida en que aumente el nivel general de higiene, serán poco frecuentes las infecciones por *Shigella dysenteriae* y *Shigella boydii* y más comunes las infecciones por *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei* comportamiento similar al de las áreas desarrolladas. Esto muestra que las especies de *Shigella* han empezado a cambiar en nuestra población, este cambio se cree que se debe a mejores estándares de vida y de higiene, los cuales tienden a seleccionar organismos menos patógenos.

Entre los grupos bacterianos ampliamente distribuidos en la naturaleza con gran potencialidad para causar enfermedad diarreica aguda, se encuentran los microorganismos pertenecientes al género *Salmonella*, mismo que representan un problema de salud. En Cuba se identificó a *Salmonella enterica* como el segundo serotipo más frecuente (Cabrera *et al.*, 1998b), nosotros lo encontramos como el único serotipo. En Australia se aisló *Salmonella enterica* como el segundo enteropatógeno bacteriano más frecuente (Barnes *et al.*, 1998) al igual que en nuestro estudio. En cuanto a la frecuencia de aislamiento de *Salmonella enterica* resultó similar (6%) a la reportada por Ayala en 1997 (7.5%) y Luna en el 2000 (7.3%).

Campylobacter se ha encontrado en varias regiones del mundo como causante de diarrea aguda, pero predomina en países en desarrollo donde es el agente causal en 3 a 15% o más de las gastroenteritis. Este microorganismo se identifica cada vez con mayor frecuencia debido a que las técnicas para su cultivo e identificación han progresado y representa una de las causas comunes de diarrea (Huilan y Zhen, 1991). Sin embargo la frecuencia de aislamiento de *Campylobacter jejuni* fue de 1% menor a la reportada en estudios previos realizados en México (Morayta *et al.*, 1993). Esto se debió tal vez a que en la materia fecal se presentó un bajo número que no fue detectado.

No obtuvimos ningún caso de *V. cholerae* y esto pudo deberse a varios factores. Lezama-Basulto *et al.*, 1993 y Zavala *et al.*, 1999 mencionan que el cólera es una infección intestinal bacteriana aguda y que el grupo de edad más afectado es el de 25 a 44 años y la relación con pacientes en edad pediátrica es escasa; sin embargo Zavala y colaboradores encontraron un caso de cólera en un niño recién nacido debido a contaminación con las heces de la madre durante el paso del niño por el canal del parto. Por otro lado el diagnóstico clínico de cólera en lactantes es difícil, debido a que existen otros agentes como rotavirus o *Escherichia coli* enterotoxigénica capaces de producir un cuadro clínico muy parecido. La confirmación mediante bacteriología convencional de un caso sospechoso o la detección mediante coprocultivo de un caso no sospechado ocurre generalmente cuando ya ha desaparecido la fase crítica de la enfermedad y el paciente ha sido manejado de acuerdo al juicio clínico del médico (Miranda-Langschwager *et al.*, 1993).

Estudios realizados en México identificaron un bajo porcentaje de *Aeromonas* en diarrea aguda (Ayala, 1997). Murray en 1997, menciona que el aislamiento de este patógeno es menor al 3%; en nuestro estudio no se reportó ningún caso asociado a esta infección. Luna en el 2000, no obtuvieron ningún aislamiento al igual que nosotros. Pezzarossi y Blanco mencionan que la especie más frecuente es *A. hydrophila*; sin embargo en nuestro país no se encuentra en alto porcentaje, debido a que se asocia con menor frecuencia a diarrea aguda.

En México está reportado para *Plesiomonas* una baja frecuencia (Valdespino *et al.*, 1994) y en nuestro trabajo no se obtuvo ningún aislamiento. Se ha reportado que este microorganismo se encuentra en aguas saladas y se adquiere con el consumo de mariscos crudos, en particular ostras y camarones (Murray *et al.*, 1997). Por lo tanto es más común en zonas donde el consumo de productos marinos es muy elevado.

En 6% de los casos no se presentó desarrollo bacteriano ya que algunos patógenos no son detectados porque el número es insuficiente en la muestra. En niños menores de 6 meses de edad influye que adquieren anticuerpos de la madre y estos reducen rápidamente los microorganismos, el nivel es bajo y no es detectado (Pezzarossi y Blanco, 1994).

En cuanto a la frecuencia de los aislamientos con respecto a la edad *Shigella* presentó una alta incidencia en niños mayores de 2 años, la posibilidad de infección fue siete veces mayor a esa edad, que en niños menores de 2 años; estos resultados coinciden con los reportados por Ayala en 1997 y Luna en el 2000 en estudios similares realizados en la Ciudad de México. La infección por este microorganismo es común durante el período de destete, debido a la contaminación de alimentos. Pocas veces la enfermedad afecta a niños menores de 6 meses.

Todos los grupos de edad están expuestos a la infección por *E. coli*. Una posible vía de exposición es la ingestión de comida contaminada (Adlerberth *et al.*, 1998), se ha asociado con ciertos alimentos de destete (Motarjemi *et al.*, 1994). Así, en Bangladesh, observaron que 41% de las muestras de productos alimenticios suministrados a niños en edad de destete contenían *E. coli*, aproximadamente la mitad de las muestras del agua para bebida también estaban contaminadas por esta bacteria (Henry *et al.*, 1990). Nosotros obtuvimos que los menores de 2 años presentan mayor riesgo a la infección, debido tal vez, a que esta bacteria es de los primeros colonizadores del intestino del recién nacido, puede adquirirse de la microflora fecal de la madre durante el parto o por vía fecal-oral y puede haber contagio de madre a hijo. Las manos contaminadas del personal (enfermeras) también pueden transmitir los organismos a lactantes.

En la literatura se menciona que *Salmonella* es más frecuente en niños menores de 1 año (Barnes *et al.*, 1998); por el contrario nosotros obtuvimos una tendencia a incrementar conforme aumenta la edad, pero no encontramos diferencia al comparar entre menores y mayores de 2 años. La tendencia a incrementar conforme aumenta la edad se asocia con contaminación por alimentos y los niños mayores de 2 años están más expuestos que los menores a esta edad.

Albert y colaboradores mencionan que *Campylobacter* es más frecuente en niños menores de 1 año; sin embargo en nuestro estudio no fue asociado con la edad, debido al bajo número de aislamientos obtenidos para este enteropatógeno.

Para nuestro país se encuentra reportado que el 10% de diarreas agudas corresponden a diarrea con sangre (Torregosa, 1996; Valdespino *et al.*, 1994). Nosotros observamos 3% en diarrea con sangre de aislamiento de enteropatógenos bacterianos. Consideramos que este porcentaje es el esperado si tenemos en cuenta que la población no fue seleccionada solo para identificar patógenos en casos de diarrea con sangre, a diferencia de los estudios realizados en México, donde seleccionan su población con esta característica reportando del 50 al 70% de aislamientos, que solo corresponden a diarrea con sangre (Benítez *et al.*, 1991; Suárez-Hoíl *et al.*, 1993; Torres *et al.*, 1995). De acuerdo a resultados de estudios previos realizados en México, se confirma la presencia de patógenos tales como *Shigella* y *Salmonella*, que fueron significativamente asociados a niños que presentaron disentería; Dutta y colaboradores en 1999 encontraron estas diferencias significativas para ambos géneros.

Ningún aislamiento de *Campylobacter* estuvo asociado a diarrea con sangre, esto fue posiblemente debido al bajo aislamiento para este género, ya que en la literatura se tiene reportado a *C. jejuni* como uno de los principales enteropatógenos asociados a sangre en las evacuaciones (Torres *et al.*, 1995). Sin embargo, se encontró que los niños infectados por esta bacteria presentan protección contra la presencia de sangre en las evacuaciones. Para *E. coli* sólo se encontró un caso asociado a diarrea con sangre, pero no podemos deducir nada debido a que no se identificó su forma patogénica.

Para este estudio las infecciones por enteropatógenos bacterianos no estuvieron asociadas con la calificación que se utilizó para diferenciar diarrea leve, de diarrea moderada-grave. En un estudio realizado en Calcutta, encontraron que las características clínicas: duración de diarrea, frecuencia de diarrea, presencia de vomito, fiebre y deshidratación no presentaron diferencias significativas entre diarrea aguda y diarrea con sangre (Dutta *et al.*, 1999). Estas características fueron las mismas que se consideraron en nuestro estudio.

Un brote suele definirse como la presentación de dos a más casos de enfermedad en la población (Escartín, 1998). Por lo tanto se presentaron brotes de la enfermedad diarreica en los meses de diciembre a enero pero estos brotes no estuvieron asociados con infección bacteriana, ya que esta es más frecuente en meses calurosos y no en meses fríos. Esto coincide con los datos de mortalidad, donde en los últimos años en México se han visto cambios importantes; uno de ellos es que los brotes de infecciones intestinales en los meses cálidos han disminuido drásticamente y se empieza a manifestar una mayor frecuencia en los meses de invierno debido a la presencia de otros microorganismos enteropatógenos (Sandoval, 1996). En contraste los meses de julio a agosto se asociaron con infección bacteriana.

La distribución de enteropatógenos por época del año encontrada en este estudio, nos indica que *Shigella* fue más frecuente en los meses de junio, julio y agosto, esta estacionalidad fue la misma encontrada por Benítez y colaboradores en 1991. *Salmonella*, *Campylobacter* y *E.coli* no presentaron tendencia estacional. Ayala, reporta a *Campylobacter* en primavera-verano, *Salmonella* en finales de verano y principios de otoño.

En Bangladesh, en un estudio observaron que durante la temporada de lluvias, con el aumento de la temperatura ambiental también aumentó el nivel de contaminación por alimentos. Los alimentos estaban contaminados por materia fecal y podía por lo tanto, ser vehículo de los gérmenes patógenos más a menudo transmitidos por vía fecal u oral, incluidos *Shigella* y *V. cholerae* (Henry *et al.*, 1990). Nosotros observamos que la infección por *Shigella* es más frecuente en primavera – verano que en las demás estaciones del año, ya que son estaciones cálidas y secas que permiten el desarrollo de bacterias en los alimentos. Los factores ambientales de temperatura y humedad tuvieron relación con la presencia de *Shigella*. En el análisis estadístico sólo se encontró asociación cuando la humedad con la presencia de *Shigella*. Para los géneros de *Salmonella* y *Campylobacter* no se mostró una relación con estos factores debido al bajo aislamiento de los mismos.

CONCLUSIONES

- 1.- El sexo no se asocia con la morbilidad por diarrea aguda.
- 2.- La mayor incidencia de la enfermedad ocurre en los primeros dos años de edad que posteriormente disminuye conforme aumenta la edad.
- 3.- Las bacterias enteropatógenas más frecuentes son: *Shigella*, *Salmonella* y *Campylobacter*. Para el género *Shigella* se identificaron tres especies: *S. sonnei*, *S. flexneri* y *S. boydii*. Las cepas aisladas de *Salmonella* corresponden a la especie *S. enterica*, en *Campylobacter* se identificó la especie *C. jejuni*. *E. coli* presenta en un alto porcentaje pero no se incluyó en este estudio la identificación de la actividad patogénica de sus grupos.
- 4.- La diarrea por *Shigella* es más frecuente en niños mayores de 2 años, en contraste *E. coli* es más frecuente en menores de 2 años. *C. jejuni* y *S. enterica* no se asociaron significativamente con la edad.
- 5.- *Shigella* y *Salmonella* se asocian a diarrea con sangre con mayor frecuencia que otras bacterias enteropatógenas. Para *Campylobacter jejuni* la enfermedad adquirida confiere una respuesta protectora en contra de la presencia de diarrea con sangre.
- 6.- La diarrea asociada a *Shigella* presenta distribución estacional en los meses de junio, julio y agosto. *Salmonella*, *Campylobacter* y *E.coli* se presentan durante todo el año sin predominio estacional.
- 7.- *Shigella* tiene mayor incidencia en primavera-verano y la infección por este germen esta asociada con el aumento de la humedad.
- 8.- Los resultados obtenidos en este estudio pueden ser utilizados como diagnostico preventivo, analizando que *Shigella* se presenta con mayor frecuencia en mayores de dos años, se asocia con sangre en las evacuaciones, se presenta en los meses de junio, julio y agosto y cuando la humedad aumenta.

BIBLIOGRAFÍA

- Adlerberth, I., F. Jalil, B. Carlsson, L. Mellander, L. A. Hanson, P. Larsson, K. Khalil y A. E. Wold., 1998. High turnover rate of *Escherichia coli* strains in the intestinal flora of infants in Pakistan. *Epidemiol. Infect.* 121: 587-598.
- Albert, J. M., A. S. G. Faruque, S. M. Faruque, R. B. Sack y D. Mahalanabis., 1999. Case-control study of enteropathogens associated with childhood diarrhea in Dhaka, Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 37(11): 3458-3464.
- Ayala, B. M. T., 1997. *Frecuencia de aislamiento y sensibilidad antimicrobiana de bacterias enteropatógenas en casos de diarrea aguda con y sin sangre en niños menores de cinco años*. Tesis Profesional de Licenciatura (Químico Farmacéutico Biólogo) FES Zaragoza, UNAM 95 pp.
- Banwell, J. G., 1990. Pathophysiology of diarrheal disorders. *Rev. Infec. Dis.* 12: 530-535.
- Bardhan, P. K., M. J. Arlbert, N. H. Alam, S. M. Faruque, P. D. B. Neogi y D. Mahalanabis., 1998. Small bowel and fecal microbiology in children suffering from persistent diarrhea in Bangladesh. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 26: 9-15.
- Barnes, G. L., E. Uren, K. B. Stevens y R. F. Bishop., 1998. Etiology of acute Gastroenteritis in hospitalized children in Melbourne, Australia, from april 1980 to March 1993. *J. Clin. Microbiol.* 36(1): 133-138.
- Benítez, O., F. Uribe, A. Navarro, D. Hernández, J. Ruiz y A. Cravioto., 1991. Etiología de diarrea con sangre en niños de una comunidad rural. *Bol. Med. Hosp. Infan. Mex.* 48(2): 65-69.
- Bern, C., J. Martines, I. de Zoysa y R. I. Glass., 1993. Magnitud del problema global de las enfermedades diarreicas: actualización decenal. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 115(6): 523-535.
- Braude, A. L., C. E. Davis y J. Fierer., 1994. *Microbiología Clínica*. 2ª ed. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pp.264-289.
- Cabrera, O. R., M. M. A. Ramírez, L. F. Bravo, F. R. García y A. A. Fernández., 1998ª. Circulación de serogrupos y serotipos del género *Shigella* en Cuba. *Enf. Infec. Microbiol.* 18(4): 147-149.
- Cabrera, O. R., M. M. A. Ramírez, L. F. Bravo, F. R. García y A. A. Fernández., 1998b. Serotipaje de los microorganismos pertenecientes al género *Salmonella*. *Enf. Infec. Microbiol.* 18(4): 150-152.
- Cama, I. R., U. D. Parashar, D. N. Taylor, T. Hickey, D. Figueroa, Y. R. Ortega, S. Romero, J. Perez, C. R. Sterling, J. R. Gentsch, R. H. Gilman y R. I. Glass., 1999. Enteropathogens and other factors associated with severe disease in children with acute watery diarrhea in Lima, Peru. *J. Infec. Dis.* 179(5): 1139-1144.

- Carvalho, C. T. A., 1997. Isolation and identification of *Campylobacter* species. *Enf. Infec. Microbiol.* 17(3): 92-99.
- Dutta, P., U. Mitra, D. R. Saha, S. K. Niyogi, B. Manna y S. K. Bhattacharya., 1999. Mucoid presentation of acute enterocolitis in children: a hospital-based case-control study. *Acta. Paediatr.* 88(8): 822-826.
- Escartín, E. F., 1998. Riesgos microbianos relacionados con el consumo de alimentos. Más allá del síndrome diarreico. *Enf. Infec. Microbiol.* 18(3): 130-136.
- Faruque, A. S. G., A. I. D. Mahalanabis, S. S. Hoque y A. Hasnat., 1993. Common diarrhea pathogens and the risk of dehydration in young children with acute watery diarrhea: a case-control study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 49(1): 93-100.
- Feigin, C., Ralph, Jaimes y Cherry., 1992. *Tratado de Infecciones en Pediatría*. 2ª ed. Vol. I. Ed. Intramericana. Pp.1008-1020.
- Gutiérrez, I. F., 1998. *Factores de riesgo de mortalidad por diarrea en niños menores de cinco años en el Hospital General Acapulco*. Tesis de Especialidad, UNAM, Facultad de Medicina. 30pp.
- Henry, F. J., 1990. Bacterial contamination of weaning foods and drinking water in rural Bangladesh. *Epidemiol. Infect.* 104: 79-85.
- Hernández-Avila, M., F. Garrido-Latorre y S. López-Moreno., 2000. Diseño de estudios epidemiológicos. *Sal. Pub. Mex.* 42(2): 144-154.
- Huilan, S. y L. G. Zhen., 1991. Etiology of acute diarrhoea among children in developing countries: A multicentre study in five countries. *Bull. WHO* 89: 542.
- Hulley, S. B. Y S. R. Cumings., 1998. *Desingning Clinical Research*. Ed. Williams & Wilkins. Baltimore, M.D. pp. 144-145, 220-221.
- Isenberg, D. H., 1992. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Vol. I. Ed. ASM (American Society for Microbiology) Washington, D.C. pp. 430-450.
- Jawetz, E., J. L. Melnick y E. A. Adelberg., 1992. *Manual de Microbriología Médica*. 14ª ed., Ed. Manual Moderno. México, D.F. pp. 59-61, 230-250.
- Kingamkono, R., E. Sjögren y U. Svanberg., 1999. Eneropathogenic bacteria in faecal swabs of young children fed on lactic acid-fermented cereal gruels. *Epidemiol. Infect.* 122: 23-32.
- Koneman, E., S. D. Allen, V. R. Dowell, W. M. Janda, H. M. Sommers y W. C. Winn., 1997. *Diagnóstico microbiológico*. 3ª. Edición. Editorial Medica Panamericana. México, D.F. pp. 203-250.

- Kumate, J., J. Sepúlveda y G. Gutiérrez., 1993. *El cólera: epidemias, endemias y pandemias*. Ed. Interamericana. México, D.F. pp.137-47.
- Lesmana, M., E. Richie, D. Subekti, C. Simanjuntak y S. E. Walz., 1997. Comparison of direct-plating and enrichment methods for isolation of *Vibrio cholerae* from diarrhea patients. *J. Clin. Microbiol.* 35(7): 1856-1858.
- Lezama-Basulto, L. A., F. Mota-Hernández y E. Bravo-Barrios., 1993. Cólera en niños. Informe de ocho casos. *Bol. Mel. Hosp. Infant. Mex.* 50(11): 789-795.
- Luna, G. G., 2000. *Intervención del licenciado en enfermería y obstetricia para el control de factores de riesgo en niños menores de cinco años hospitalizados por diarrea viral, bacteriana o parasitaria*. Tesis Profesional de Licenciatura (Enfermería y Obstetricia) ENEO, UNAM. 80 pp.
- Maya, R. C., 1996. *Estudio de la calidad bacteriológica de paletas heladas elaboradas en el área metropolitana de la Ciudad de México*. Tesis Profesional de Licenciatura ENEP Iztacala, UNAM 90 pp.
- Miranda-Langschwager, P., E. Salazar-Lindo, E. Chea-Woo y J. Santisteban-Ponce., 1993. Desarrollo de una escala clínica para el diagnóstico de cólera en lactantes con diarrea aguda acuosa. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 50(11): 781-788.
- Morayta, R. A., J. H. Juárez, B. R. De la Macorra, R. A. Sarmiento, S. H. Gutiérrez, P. A. Pezzotti y Rentería., 1993. Etiología del síndrome diarreico agudo en un servicio de urgencias pediátricas. *Rev. Mex. Pediatr.* 60(1): 10-14.
- Motarjemi, Y., F. Käferstein, G. Moy y F. Quevedo., 1994. Alimentos de destete contaminados: un importante factor de riesgo de diarrea y malnutrición asociada. *Bol. Oficina Sanit. Panam.* 116(4): 313-330.
- Murray, R. P., W. L. Drew, G. S. Kobayashi y J. H. Thompson., 1997. *Microbiología Médica*. 2ª ed. Ed. Harcourt Brace. pp. 103-110.
- Murray, R. P., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover y R. H. Tenover., 1999. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th. Edition. Ed. ASM (American Society for Microbiology) PRESS. Washington, D.C. pp. 442-523.
- (OPS) Organización Panamericana de la Salud., 1987. *Manual de tratamiento de la diarrea*. Número 13. Washington, D. C. pp.82-91.
- Pezzarossi, H. E. y R. A. Blanco., 1994. Infecciones entéricas en países en vías de desarrollo. *Infec. Microbiol.* 14(5): 371-382.

Ramírez, M., R. J. Monte, L. Bravo y B. García., 1996. Estudio de la susceptibilidad de cepas de *Shigella* aisladas de niños con enfermedad diarreica. *Enf. Infec. Microbiol.* 16(6): 265-267.

Reyes, H., P. Tomé, G. Gutiérrez, L. Rodríguez, M. Orozco y H. Guiscafré., 1998. La mortalidad por enfermedad diarreica en México: ¿problema de acceso o de calidad de atención? *Sal. Pub. Mex* 40(4): 316-323.

Sandoval, T. P., 1996. *Factores de riesgo de mortalidad por diarrea aguda en niños menores de cinco años de edad en el estado de Tlaxcala*. Tesis de Maestría. UNAM. Facultad de Medicina. 54pp.

Secretaría de Salud., 1994. *Diagnostico de laboratorio de infecciones gastrointestinales*. SS México, D.F. pp.40-45.

Suárez-Hoíl, G. J., J. J. Flores-Abuxapqui, M. R. Heredia-Navarrete, M. A. Puc-Franco y J. Franco-Monsreal., 1993. Prevalencia de bacterias enteropatógenas en niños con diarrea aguda con sangre. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 50(3): 151-155.

Torregosa, F. L., J. Olarte, R. S. S. Rodríguez, J. I. P. Santos y L. J. Velázquez. 1996. *Enfermedades diarreicas en el niño*. 10ª ed. Ediciones Medicas del Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, D.F. pp.12-22.

Torres, J., S. González-Arroyo, R. Pérez y O. Muñoz., 1995. Inappropriate treatment in children with bloody diarrhea: Clinical and microbiological studies. *Arch. Med. Res.* 26(1): 23-29.

Valdespino, J. L., M. L. García, A. Del Rio, S. Giono, R. A. Salcedo y J. Sepúlveda., 1994. Epidemiología y etiología de las diarreas infecciosas. *Rev. Lat. Amer. Microbiol. (Mex.)* 36: 307-324.

Vanderhoof, A. J., 1998. Chronic Diarrhea. Article. *Pediatric. Rev.* 19(12): 418-422.

Velázquez, F. R., J. J. Calva, M. L. Guerrero, D. Mass, R. I. Glass, L. K. Pickering y G. M. Ruiz-Palacios., 1993. Cohort study of rotavirus serotype patterns in symptomatic and asymptomatic infections in Mexican children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 12(1): 54-61.

Velázquez, F. R., D. O. Matson, J. J. Calva, M. L. Guerrero, A. L. Morrow, S. Carter-Campbell, R. I. Glass, M. K. Estes, L. K. Pickering y G. M. Ruiz-Palacios., 1996. Infection in infants as protection against subsequent infections. *N. Engl. J. Med.* 335(14): 1022-1028.

Velázquez, F. R., D. O. Matson, M. L. Guerrero, J. Shults, J. J. Calva, A. L. Morrow, R. I. Glass, L. K. Pickering y G. M. Ruiz-Palacios., 2000. Serum antibody as a marker of portection against natural rotavirus infection and disease. *J. Infec. Dis.* 182: 1602-1609.

Zavala, M. A., N. L. T. López, J. J. Z. Rodríguez y S. D. Mendoza., 1999. Cólera en un niño recién nacido. *Rev. Mex. Pediatr.* 66(3): 108-109.

ANEXO 1

PADECIMIENTO ACTUAL		
SIGNOS Y SINTOMAS	PUNTOS	CALIFICACIÓN
DURACIÓN DE DIARREA		
1- 4 DIAS	1	
5 DIAS	2	
> 6 DIAS	3	
NUMERO DE EVACUACIONES/24h		
MAXIMO		
1 - 3	1	
4 - 5	2	
> 6	3	
DURACIÓN DEL VOMITO		
0 DIAS	0	
1 DIA	1	
2 DIAS	2	
> 3 DIAS	3	
NUMERO DE VOMITOS/24h		
MAXIMO		
0	0	
1	1	
2 - 4	2	
> 5	3	
PIEBRE		
< 37.0°C	0	
37.1 - 38.4°C	1	
38.5 - 38.9°C	2	
>39°C	3	
DESHIDRATACIÓN		
NO	0	
SI	2	
CHOQUE	3	
TRATAMIENTO		
REHIDRATACION	1	
HOSPITALIZACION	2	

ANEXO 2

PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE MEDIOS CON ANTIBIOTICOS.

Sangre de Carnero con Antibióticos

1 vial con 100 mg de Ampicilina.

Disolver en 10 ml de agua destilada estéril y alicuotar en volúmenes de 1 ml en tubos estériles. Congelar todas las alicuotas a -20°C hasta su uso.

Cada alicuota (1ml) sirve para preparar 1 000 ml de medio.

Medio de Carbón con Antibióticos para aislamiento de *Campylobacter*

1 vial con 355,5 mg de Cefoperazona

1 vial con 1 000 mg de Cicloheximida

1 vial con 100 mg de Vancomicina

Preparar una solución de agua destilada estéril- Acetona (1:1)

Disolver los 3 antibióticos de la solución anterior en un contenedor estéril.

Realizar alicuotas de 5 ml en viales estériles. Congelar las alicuotas a -20°C hasta su uso. Cada alicuota (5ml) sirve para preparar 1 000 ml de medio.

NOTA: Las alicuotas y los medios ya preparados deben resguardarse de la luz (Envolver en papel estaño).