

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS



CONFIABILIDAD DEL EXAMEN DE LABORATORIO AZUL
DE METILENO EN EL DIAGNOSTICO TEMPRANO
Y DIFERENCIAL DEL SINDROME DIARREICO

MARCO VINICIO DONIS MORALES

INDICE

Página

1.- Introducción y Justificación	1
2.- Objetivos	3
3.- Hipótesis	4
4.- Material y Métodos	5
5.- Consideraciones Generales	7
6.- Diagnóstico Etiológico del Síndrome Diarréico y Antecedentes	23
7.- Representación Gráfica de los Resultados Obtenidos	25
7.1 Gráfica No. 1 y No. 2	
7.2 Gráfica No. 3 y No. 3-A	
7.3 Gráfica No. 4	
7.4 Gráfica No. 5 y No. 6	
7.5 Gráfica No. 7 y 7-A	
7.6 Gráfica No. 8 y No. 9	
8.- Descripción de los Resultados	26
9.- Discusión de los Resultados	29
10.- Conclusiones	31
11.- Recomendaciones	32
12.- Bibliografía	35

AHORA LO QUE EN SU - -
TIEMPO NO FUE.

MARCO DONIS.

Como estudiante con funciones de: investigación, docencia y servicio por y con la humanidad, hoy comparto por escrito parte - - del acontecer de mi existir.

La presente investigación, es el reflejo de mi inquietud de - vivir el desafío de responderle con entrega a cada estímulo de mis vivencias de estudiante de ciencias de la salud.

En mi futuro como médico pudiera realizar este trabajo de investigación, pero no sería el momento histórico que el espacio y - tiempo cautivaron.

El problema endémico y epidémico del síndrome diarreico que tanta morbilidad y mortalidad ocasiona a nuestra población, estimuló el entregarme a participar en la solución de la salud del mismo.

Es imprescindible manifestar mi inconformidad al hecho que - una enfermedad fácil de tratar y diagnosticar, por ser efecto de un macroambiente enfermo en el cuerpo y el alma, golpea innumerablemente a nuestra población, y en muchas oportunidades en forma irreversible.

Innumerables estudios en ciencias sociales y de la salud han - comprobado que el síndrome diarreico que sufren poblaciones es multicausal y producto de un mal general.

A pesar que lo prioritario es accionar en investigación docencia y servicio colectivo por ser un problema nacional y que la función preventiva es la más importante, es válido e impostergable el dirigir trabajo de investigación que proporcione medios que satisfagan la necesidad del país, de dotarlo de métodos diagnósticos que -

se apliquen colectivamente y tengan las cualidades de ser eficaces y baratos. El tener una realidad donde frecuentemente el diagnóstico y tratamiento del síndrome diarreico, se realiza con múltiples limitaciones, desde el basarse en estudios hechos en poblaciones extranjeras - casi exclusivamente-, hasta la desmedida actitud de autodiagnóstico y automedicación, justifican la búsqueda por medios diagnósticos basados en investigaciones hechas por, con y para la población guatemalteca.

OBJETIVOS:

1. Comprobar la eficacia del examen de azul de metileno como medida temprana para el diagnóstico diferencial de diarrea.
2. Ahorrar tiempo para iniciar el tratamiento adecuado, - en base a la prontitud del resultado de la prueba de azul de metileno.
3. Ofrecer e iniciar un tratamiento adecuado con bases científicas.
4. Establecer cuál es el porcentaje de certeza del examen de azul de metileno relacionado con el coprocultivo.
5. Comprobar si este método diagnóstico es eficaz, ya que ha sido usado en nuestros hospitales sin haberlo investigado y comprobado en nuestro medio.
6. Descartar o recomendar su uso como base para prescribir tratamiento antibiótico.
7. Aprender a investigar investigando
8. Educar a la población estudiantil y médica con los datos informativos y reflexiones formativas de mi trabajo.
9. Con esta investigación se incentiva a investigar y comprobar la eficacia en nuestro medio, de estudios hechos en otros países antes de aplicarlos indiscriminadamente.

HIPOTESIS:

POR MEDIO DE LA PRUEBA DE AZUL DE METILENO PUEDE HACERSE UN DIAGNOSTICO TEMPRANO Y CERTERO DE LA ETIOLOGIA DEL SINDROME DIARRHEICO, LOGRANDO ASI INSTITUIR UN TRATAMIENTO INMEDIATO (11, 3, 5) Y SU COMPROBACION PARA EL AMBIENTE GUATEMALTECO.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL:

Recursos Humanos:

1. Paciente pediátricos de 0 a 5 años del Hospital Roosevelt.
2. Colaboradores:
 - 2.1 Dr. José Víctor Ordóñez y personal del Laboratorio de Microbiología del Hospital Roosevelt.
 - 2.2 Dr. Jorget Tulio Rodríguez y personal del Laboratorio de estudios clínicos, Hospital Roosevelt.
 - 2.3 Dra. Thelma Duarte de Morales

Recursos Físicos:

1. Hospital Roosevelt
 - 1.1 Areas físicas de emergencia del Departamento de Pediatría.
 - 1.2 Laboratorio de Microbiología
 - 1.3 Laboratorio de estudios clínicos del Departamento de Pediatría.
 - 1.4 Ficha clínica de recolección de datos (Instrumento No. 1)
 - 1.5 Equipo:
 - 5.1 Recipientes de plástico para recolectar heces.
 - 5.2 Laminillas de vidrio cubre y porta objetos
 - 5.3 Cajas de Petri
 - 5.4 Medios de Coprocultivo SS Agar, y Tetratio nato con iodo.
 - 5.5 Pruebas bioquímicas y serológicas diferenciales para Shigella, Salmonella y E. Coli.

METODOS:

Basado en la estadística del Hospital Roosevelt, que muestra que la demanda de atención médica en los servicios de emergencia pediátrica, por problemas diarreicos es mayor durante los meses de marzo a octubre. Se seleccionó a los primeros 60 niños durante el período de septiembre a octubre de 1975, de las 16 a las 20 horas, que se presentaron a la emergencia, seleccionando a aquellos que llenaran los siguientes requisitos:

1. De 0 a 5 años de edad
2. Evacuaciones fecales por arriba de cinco por día
3. No haber recibido tratamiento con antibiótico previo a la consulta.

Se procedió a pasar la ficha clínica para la recolección de datos a través de interrogatorio, examen físico y toma de muestra de heces para el laboratorio. Esta última se obtuvo luego del interrogatorio, estimulando el ano del paciente con un isopo, se recolectó en un recipiente adecuado en el momento de la expulsión y al mismo tiempo se tomó muestra para el coprocultivo y el azul de metileno en frote y en fresco.

Cada muestra de azul de metileno así como las muestras de coprocultivos, fueron analizadas por el investigador y tres personas experimentadas en el procedimiento, pertenecientes al laboratorio de microbiología del Hospital Roosevelt y a la unidad de estudios clínicos, disminuyendo el riesgo de error técnico.

CONSIDERACIONES GENERALES

FISIOLOGIA:

En el tracto gastrointestinal es muy importante conocer para el tema que nos ocupa, el movimiento de electrolitos y agua, ya que de esto se origina la diarrea.

La dieta aporta un total de 1,500 a 2,000 ml., lo cual se constituye en una menor cantidad comparado con los fluidos intestinales de más o menos 9,000 a 10,000 ml, en 24 horas. En cuanto al aporte de electrolitos, la dieta aporta al contenido intestinal 150 meq/l de Na., 50 meq/l de K y 200 meq/l de Cl. Los fluidos intestinales aportan 800 meq/l de Na., 100 meq/l de K, y 700 meq/l de Cl. Al analizar los dos aportes se observa el aporte en menor cantidad de electrolitos de la dieta. (1) (5)

FUNCIONES REGIONALES DEL TRACTO GASTROINTESTINAL EN RELACION A FLUJO DE FLUIDOS:

Las funciones de mezcla, digestión y ajuste de la osmolaridad, las desempeña el estómago con la secreción gástrica para diluir lo ingerido. Así también el duodeno continúa la digestión y el ajuste de la osmolaridad y concentración de electrolitos. Todas estas funciones anteriormente descritas, tienen un propósito el cual consiste en igualar al pH Na Cl del espacio intracelular y así en estas condiciones se pueda llevar a cabo la absorción y reabsorción en condiciones óptimas en el yeyuno, y en mayor cantidad.

El ileon se encarga de reabsorber agua, electrolitos y ácidos biliares previamente secretados, así como de ciertos nutrientes. (1) (5)

Por último la reabsorción de Cl., Na., agua, restantes se lleva a cabo en el Colon, donde todas estas sustancias entrantes se reabsorben en el 90% (1) (5).

FISIOPATOLOGIA:

COMPOSICION IONICA DEL AGUA DE LAS HECES:

Las heces constan aproximadamente de 200 ml, de agua, así, como también de calcio, magnesio, amonio, sodio, potasio, cloruros, bicarbonato, lactato, butirato, propionato, acetato, fosfatos y sulfatos. (1) (3) (5)

MECANISMOS DE PRODUCCION DE LA DIARREA: (2) (1) (3) (5).

A continuación se describen los mecanismos productores de la diarrea consistentes en:

1. Retardo osmótico de la absorción de agua.
2. Alteración de los mecanismos de transporte de electrolitos y agua.
3. Alteración del tránsito gastrointestinal.

FACTORES OSMOTICOS: (2) (1) (3) (5)

Muchos pacientes relacionan la diarrea por dietas indiscretas y algunos médicos las atribuyen a la irritación de mucosa intestinal lo cual es pobre como causa única de etiología.

Pero también existen variaciones individuales en la absorción de carbohidratos y a esto puede sumarse el exceso de la capacidad intestinal para producir diarrea. Terapéuticamente se han utilizado iones polivalente Mg^{2+} / PO_4^{3-} y el disacárido lactulosa no hidrolizable e inabsorbible para --

producir catarsis. También puede producirse diarrea cuando se altera la capacidad compensatoria de secretar y absorber del intestino.

MALA ABSORCION: (2) (3) (1) (5)

La mala absorción de carbohidratos, grasas y proteínas resulta de una gran variedad de enfermedades gastrointestinales y la diarrea es un síntoma frecuente pero no invariable. La presencia de algunos componentes dietéticos en el intestino, constituyen una carga osmótica anormal y la relación entre mala absorción de agua y alimentos se justifica en exámenes posteriores.

MALA ABSORCION DE CARBOHIDRATOS: (2) (3) (1) (5)

Como desorden primario de la absorción se encuentran los carbohidratos, secundarios a enfermedades de la mucosa del intestino (microvelocidades) delgado en especial la deficiencia de LACTOSA, a la cual se le ha dado mucha importancia. Por ejemplo la Lactosa en esta deficiencia es incompletamente hidrolizada y pobremente absorbida. Raramente los monosacáridos proporcionan esta clase de problemas. Por lo que en la actualidad los desórdenes en su mayoría son debido a los disacáridos por deficiencia de la lactosa; éstos por su presencia en el colon alteran el Ph y éste a su vez interrumpe la absorción de agua. La presencia en el colon de los mismos es detectable cuando el Ph es bajo, aproximadamente 4.8 y el Ph del colon se mantiene aproximadamente en 5.

ABSORCION DE LAS GRASAS: (2) (3) (1) (5)

Por sí solos los ácidos grasos no pueden producir trastornos osmóticos en el movimiento de agua ya que son insolubles en las mismas, por lo que se crea que existe otro organismo alterno que altere la transportación de agua como es el caso de los ácidos biliares, que son estimulados por la presencia de las gra

sas. Así pues los triglicéridos de cadenas largas producen aumento de la excreción, de agua y de esteatorrea.

MALA ABSORCIÓN DE PROTEÍNAS: (2) (1) (5)

No es frecuente en la diarrea y únicamente se conoce la - deficiencia congénita de la enterokinasa que no activa el - tripsinógeno produciendo la mala absorción de la proteína y luego la diarrea, así también la mala absorción de metionina produce diarrea.

TRANSPORTE ANORMAL DE ELECTROLITOS Y AGUA: (1) (2) (3) (5)

La diarrea bacteriana se produce por daño a la mucosa y/o formación de toxinas, que alteran el transporte activo aumentando la secreción en el intestino ya sea por irritación, penetración o destrucción. Una acción a nivel de membrana, por ejemplo, ácidos biliares ricos en ácidos grasos, pueden producir diarrea, así como factores tumorales, por infusión de prostaglandinas, algunos tumores, hormonas, y polipéptidos normales en el intestino, se suman a esto la inflamación, infección o alergia a nivel de la mucosa intestinal (colitis ulcerativa de exudación de moco como un probable mecanismo). Todos estos mecanismos que estimulan la adenil ciclasa de la mucosa intestinal produciendo secreción de agua del espacio intracelular al extracelular.

En resumen:

Las bacterias: actúan por daño directo a la mucosa, o por irritación de la misma por toxina. (1) (3) (5).

Ácidos biliares: inhiben el transporte de agua. (2) (3) (5).

Ácidos Grasos: Alteran el transporte de agua y sodio, ejemplo: - Aceite de Risino. (2) (3) (5).

FACTORES HUMORALES: F 2 x, prostaglandinas que estimulan - la adenil ciclasa.

OTROS: Cloridorrhea familiar y alergia. (3) (5).

DESORDENES EN EL TRANSITO: (1) (3) (5)

Por absorción, para proceder normalmente, el quimo debe ser mezclado y digerido adecuadamente y expuesto a la adecuada - superficie mucosa para un tiempo mínimo.

Los procesos de digestión y absorción se han dilucidado progresivamente, sin embargo, mezclas y factores propulsivos se han definido menos. Las interrelaciones son intuitivamente aparentes pero pobres en documentación.

FACTORES DE LA MUCOSA: (1) (2) (3) (5)

Evidentemente, el intestino queda después de la resección apto a una considerable hipertrofia de función y de estructura, especialmente si la nutrición normal se puede mantener.

SOBREVIVENCIA Y DESARROLLO: (1) (2) (3) (5)

A pesar de una larga diarrea, han sido reportados después de una preservación de pocos centímetros del intestino delgado. - Pérdidas de aguas fecales después de una resección pueden complicarse por algunos factores, como efectos de bilis en el colon, steatorrhea, hipersecreción gástrica y cambios en la flora. En algunas circunstancias la habilidad para atrasar el tránsito intestinal mecánicamente o farmacéuticamente, pueden usarse para facilitar la absorción en el intestino sobrante.

Intentos para hacer más lento el tráfico del intestino se han hecho por medio de segmentos antiperistálticos, los cuales han tenido gran éxito.

FACTORES MOTORES: (1) (2) (3) (5)

Hipomotilidad. Las actividades motoras normales intestinales son un importante determinante de la esterilidad relativa del intestino delgado. Las consecuencias de la hipomotilidad y estasis ya sean estrechez, divertículos, aparición nudosa o enfermedad neuromuscular relativa al crecimiento bacteriano en el intestino delgado. La steatorrhea está casi siempre presente y se piensa que es un resultado de deconjugación bacteriana de la bilis y absorción rápida de los ácidos libres de la bilis por medio de una difusión no iónica y deficiencia del ácido biliar del yeyuno. La importancia de la arquitectura vellosa anormal en el intestino delgado adyacente a las colonias bacteriales es dudosa. La diarrea ha sido relacionada al exceso de grasa en el lumen del intestino delgado, y posiblemente por medio de ácidos grasos hidroxilados. Una acción inhibitoria de los ácidos biliares libres en la absorción de agua en el yeyuno y cambios en la morfología del yeyuno producidos por la no conjugación de los ácidos biliares que también pueden contribuir.

HIPERMOTILIDAD: (5) (1) (2)

Se despierta una asociación entre tránsito rápido intestinal y mala absorción, pero estudios experimentales para sostener este concepto son escasos.

Cuando el tránsito rápido y mala absorción coexisten, el efecto-causa es pobremente definido. Así, la incrementación de volúmenes en el lumen, debido a la absorción incompleta puede acelerar en tránsito así como en estudios de perfusión. Sin embargo, bastantes factores descritos anteriormente tales como la modificación de la transportación de agua intestinal, ácidos grasos,

ácidos biliares y agentes humorales, también tienen efecto en la suave función muscular. La relación entre volumen, grados de fluidez y malabsorción de agua han sido examinados experimentalmente y llamados diarrea volumogénica. Con grandes cantidades de infusión en el duodeno, el incremento, en la absorción total del líquido, pero la proporción de la infusión de solución que ha sido absorbida disminuye y el volumen absoluto requerido para producir la diarrea decrece.

Pérdida del líquido del recto puede ser modificada por las restricciones hidrodinámicas en fluido impuestos por la válvula ileocecal y el esfínter anal.

El estímulo hormonal y farmacológico del músculo intestinal han sido incriminados en ciertos tipos de diarrea. Prostaglandinas estimulan el músculo intestinal in vitro, disminuyen tiempo de tránsito, causan diarrea en voluntarios y han sido clínicamente implicados, en diarrea. Otros agentes activos farmacológicos (secretina, pancreozymina, gastrin y triptamina 5-hidroxi) estimulan el músculo intestinal y son secretados por ciertos tumores que pueden producir diarrea. Sin embargo, la relación entre actividad del músculo intestinal, propulsión de contenidos y absorción son extremadamente complejas. Connell ha enfatizado que la disminución de las funciones musculares en el colon pueden estar asociados con constipación (estreñimiento) y el incremento de la función muscular asociado con diarrea.

ALGUNOS MECANISMOS PROTECTORES DEL HUESPED. (3) (6) (7) (8) (9).

Los factores que se consideran en mantener un balance ecológico en el aparato gastro intestinal se pueden dividir en ambientales generales y locales.

1. Factores generales: Son aquellos que coadyuvan en una u otra forma a predisponer al huésped a diferentes infecciones

gastro intestinales y entre éstos tenemos: Edad, Debilidad, Estado Nutricional, Ambiente Físico-biológico socioeconómico.

FACTORES LOCALES:

El tracto digestivo por ser el vínculo de contacto con el medio ambiente es vía por la que introducimos aire, agua, alimentos, etc. De ahí que siendo el organismo una máquina perfecta cuente con factores locales intrínsecos:

Los tienen gran importancia en mantener un perfecto equilibrio con los diferentes microorganismos ofensores que se encuentran en el medio ambiente y que a diario introducimos a nuestro organismo. Dichos factores son:

1. Higiene personal. (3)
2. Contenido ácido del estómago. (6) (3)
3. Motilidad del tracto gastrointestinal superior. (7)
4. Inmunidad. (8)
5. Resistencia natural. (9)

CARACTERÍSTICAS PATOGENAS DE LOS MICROORGANISMOS (1) (5) (11) (12) (3)

Hay varios factores capitales que determinarán si un individuo expuesto a un microorganismo o enteropatógeno desarrollará enfermedad o no. Se sabe que la dosis y virulencia del microorganismo ingerido es importante. La predilección tisular del mismo determinará las características clínicas.

Por lo anteriormente mencionado, debido a las condiciones tan estables que mantiene el tracto gastrointestinal de un individuo normal se necesita de una cantidad enorme de bacterias virulentas para producir enfermedad, con la excepción de Shigella, como se aprecia en la siguiente tabla:

Shigella	10 - 100 microorganismos
Salmonella Tifosa	100,000
Vibrio Cólera	10,000,000,000
Escherichia coli	100,000,000 a 10000,000,000

La cantidad tan pequeña de Shigella explica por qué la Shigelosis se transmite de persona a persona además de ser una enfermedad hiperendémica y recurrente. Por otro lado los otros microorganismos enumerados, que necesitan de mayor concentración para producir enfermedad son transmitidos por el agua o los alimentos.

Con relación a la mucosa intestinal hay tres localizaciones importantes, es decir el organismo actúa de tres maneras diferentes:

- 1- El microorganismo enteropatógeno actúa sin invasión de la mucosa intestinal y produce toxinas. Esto está tipificado por Vibrio cólera, Escherichia coli productora de toxinas Vibrio parahemolítico, estafilococo y Clostridium los cuales producen diarrea sin producir penetración en el epitelio intestinal. Típicamente, las manifestaciones son las de diarrea acuosa profusa, generalmente afebril con una proliferación de los microorganismos en las partes altas del intestino delgado, liberando una enterotoxina la cual es absorbida por el epitelio de la mucosa produciendo secreción activa de líquidos y electrolitos. Las heces se consideran sin presencia de polimorfomucelas. Estudios animales que la secreción de agua producida por la estimulación de AMP cíclico. Es de interés terapéutico saber que a pesar de la cantidad exagerada de secreción producida por las diferentes enterotoxinas, el proceso de absorción por la mucosa para el sodio y el agua se conserva especialmente cuando dicha solución se acompaña de glucosa. Esto ha dado lugar a la

teoría de que existe en la mucosa intestinal un sitio específico donde se secretan agua y electrolitos (las criptas) y otro donde se absorben las diferentes nutrientes (las vellosidades).

El Segundo Grupo: de Patógenos en forma característica invaden el epitelio, la mucosa intestinal produciendo destrucción y ulceración. Patógenos típicos de este grupo lo constituyen especies virulentas de *Shigella* y *Eschericia coli* invasoras, no productoras de toxinas. Estas bacterias, después de invadir la mucosa intestinal se multiplican en forma tremenda produciendo ulceración.

La enfermedad producida por bacterias de este grupo puede ser visualizada como enfermedad progresiva y descendente. Estudios realizados con voluntarios humanos infectados con *Shigella* y a quienes se les ha intubado a diferentes niveles del tracto gastrointestinal han demostrado que de 8 a 40 horas después de la ingestión de una capa virulenta de *Shigella*, los cultivos de yeyuno e ileon contenían gran cantidad de microorganismos (*Shigella*). Conjuntamente con esta proliferación en el intestino delgado por el enteropatógeno fue el inicio de fiebre y heces líquidas. Aproximadamente de 24 a 36 horas después de la ingesta de *Shigella* virulenta, las heces se tornaron positivas y desde entonces, los cultivos de intestino delgado se negativizaron.

Durante esta segunda fase de la enfermedad cuando el intestino delgado está libre del patógeno, y se ha establecido una colitis, la fiebre disminuyó el inicio de disentería fue lo más común. (Heces con moco y sangre) así mismo con abundantes polimorfonucleares presentes en el moco de las heces y con los síntomas corolarios de tenesmo y dolor.

El Tercer Grupo: Importante está tipificado por algunas cepas de *Salmonella*, las cuales difieren de los otros dos grupos en que penetra en la mucosa intestinal sin producir destruc-

ción o ulceración. En estos casos hay una infiltración de células inflamatorias en la lámina propia de la cual dependerá, si la infección será localizada o sistemática. Por razones aún no claras, en infecciones con *Salmonella* tífosa, se produce una infiltración inflamatoria a base de mononucleares y una invasión de microorganismos al torrente circulatorio es la regla. De una manera diferente, la infección con salmonellas no tífosas usualmente estimulan una reacción inflamatoria a base de polimorfonucleares y la infección se localiza en la mucosa manifestándose con síntomas de una gastroenteritis aguda con fiebre y diarrea acuosa con moco.

La participación de las infecciones virales aún no ha sido bien establecida, con la excepción de infecciones por Polivirus, al cual se implanta y multiplica en el tejido linfóide de la lámina propia y las placas de Peyer. El virus se disemina de ahí por el drenaje linfático hacia la circulación general y se produce infección del tejido nervioso.

Otros investigadores han descrito la presencia de yeyunitis con disminución en el tamaño de las vellosidades e infiltración con células inflamatorias en pacientes infectados con virus de hepatitis infecciosa y adenovirus tipo 4. Otros investigadores han demostrado también cambios histológicos de la mucosa en individuos infectados con otros grupos de virus incluyendo Sarampión, Varicela, Herpes, Seimplex y Poliovirus.

VIRUS: (13) (3) (5)

En el recién nacido con diarrea como en niños de más edad, un porcentaje superior al 60% de los casos no es posible aislar al coprocultivo, ninguna de las bacterias reconocidas como productoras de enfermedad diarreica tampoco utilizando los métodos bacteriológicos convencionales lo cual ha hecho pensar que se trata de padecimientos de origen viral con heces pro-

fusos, sin moco o sangre acompañadas de fiebre, dudándose la presencia o no de polimorfonucleares en ellas. En 1931 Mclean especulaba acerca del probable origen viral de los cuadros epidémicos de vómitos y dolor abdominal.

En 1938 Boadman atribuyó a agentes virales un cuadro de diarrea epidémica. Desde entonces muchos investigadores han tratado de producir diarrea en animales de experimentación, usando suspensiones filtradas de heces,

Buddingh y Dodd en 1944, describieron un cuadro clínico caracterizado por diarrea y estomatitis que se presentó en niños desde los tres días hasta los 8 años. Para su estudio utilizaron material obtenido de las lesiones de estomatitis, en la córnea es carificada del conejo causándole opacidad, sin embargo, la misma reacción se obtuvo con material de niños sanos, esto junto con la imposibilidad de provocar diarrea en animales alimentados con suspensión del material infectado ha hecho dudar de la importancia de la investigación.

Reimann encontró que el ataque de gastroenteritis entre voluntarios que inhalaron filtrados de gargarismos de evacuaciones de pacientes con diarrea es de 53%, en comparación con su presencia en el 9% del grupo control.

La posibilidad que el padecimiento sea de origen viral ha sido investigado con la aplicación de la tecnología virológica actual, siendo posible aislar determinados virus del tracto gastrointestinal.

La demostración de la relación entre los virus que han sido aislados y el padecimiento diarreico ha presentado muchos obstáculos, uno de ellos es el mismo tipo de virus y en proporción similar puede aislarse de niños sanos.

A pesar de este hecho, la evidencia recogida a través de muchas investigaciones en lactantes parece dar apoyo a que un cierto número de estos padecimientos sean de origen viral basándose para ello en estudios de brotes epidémicos en los cuales la mayoría de pacientes excretaron determinados virus, en contraste con niños sanos, quienes no lo hicieron, combinando esto con el aumento durante la convalescencia de anticuerpos para el virus infectante.

Las experiencias de reinoculación en voluntarios humanos indican que después de un ataque de gastroenteritis no bacteriana desarrolla inmunidad específica que persiste por lo menos durante un año dado que los casos ocurren a intervalos anuales.

En relación con el problema de la diarrea por virus en el niño en general los virus más comúnmente asociados son los enterovirus los adenovirus y arbovirus.

En el grupo de los enterovirus, los Coxsackie, virus Echo, poliovirus y los poliovirus son los que más a menudo se han relacionado con la producción de diarrea.

De los Echo 11, 14, 17, 18 son causa de epidemias en niños.

El tipo Echo 19 ha producido enfermedad diarreica después de su ingestión casual pero no se le ha identificado como causa de epidemia.

Los Polivirus tipo 2 Coxsackis 8-3 se han implicado asimismo en esta enfermedad.

En relación a los adenovirus la asociación de fiebre conjuntival con diarrea se ha descrito en los tipos 3 y 7, con los adenovirus 1, 2, 4, 14, va asociada a padecimientos respiratorios. Con los tipos 1, 4, 7, exclusivamente dan origen a diarrea.

El virus Coxsackie 8-3 y tipo 2 polio con enterovirus se han

recuperado en epidemias.

Es de mencionar que en estas asociaciones de virus aparentemente diferentes, dado que pueden producir cuadros clínicos diferentes de allí que carecen de inmunidad cruzada.

Hay otros virus además de los ya mencionados que podrían ser capaces de producir diarrea, sin embargo, no hay ninguna prueba contundente de esta asociación.

Los intentos de aislar virus en niños con diarrea en los que no se encuentra ningún patógeno bacteriano en muchas oportunidades no se ha tenido éxito.

PARASITOS PROTOZOARIOS PRODUCTORES DE DIARREA. (3) (12) (13) (5)

Giardia Lambia:

Es más frecuente en las regiones tropicales y subtropicales, además, es tres veces más frecuente en niños que en adultos sobre todo a las edades de 6 a 10 años.

La transmisión acaso se efectúa por intermedio de los alimentos, el agua y las moscas o bien directamente de persona a persona.

Los flagelados viven en el duodeno y en la región superior del yeyuno, y puede persistir la infestación durante años aún es frecuente la desaparición espontánea en niños mayores y adultos.

La Giardia existe en dos formas: quiste y trofozoito.

No se ha demostrado satisfactoriamente el carácter patógeno

no de la Giardia.

Sin embargo, hay algunas teorías de su patogenicidad, una de ellas es que un gran número de parásitos se adhieren a la pared del intestino ocasionando una irritación e inflamación de la mucosa duodenal, alterando la motilidad y aumentando la secreción mucosa por lo que las heces son acuosas, voluminosas, verde amarillas.

Puede haber interferencia en la absorción de grasas. La Giardia produce esteatorrea y la prueba de D-Xilosa es anormal. Se supone que la mala absorción resulta de una barrera mecánica por un gran número de parásitos unidos a la superficie de microvelocidades.

En un estudio se ha demostrado aplanamiento de las vellocidades con infiltración e inflamación.

Se han efectuado estudios en los cuales se ha encontrado la Giardiasis a la deficiencia del IGA, IgM.

Los pacientes con trastornos deficientes de inmugoglobulinas frecuentemente tiene la mucosa intestinal delgada por lo que en caso de infección de Giardia la reacción del intestino es la inflamación local particularmente en las criptas.

AMEBIASIS:

La diarrea amebiana es producida por la Entamoeba Histolytica que vive en el intestino grueso donde las condiciones ambientales son adecuadas para su multiplicación; puede vivir con comensal en la luz o invadir la pared intestinal.

Aunque una colonización abundante sobre la superficie intacta causa una acción nociva en la mucosa. La única forma conocida de producción de enfermedad por la ameba consiste en la des-

trucción hística en el colon o en otros órganos que han sido invadidos por ellas que han llegado allí por vía hemática.

Las regiones del intestino grueso más afectadas es la región cecal, y la sigmoidorrectal, pero su invasión a la pared intestinal es muy variable en profundidad y extensión, en casos extremos está afectado hasta la serosa y aún a través de ella.

La ameba se encuentra en las heces de los niños en 2%.

Su transmisión es de persona a persona gracias a los quistes, los cuales contaminan los alimentos y el agua.

BALANTIDIASIS:

El balantidium Coli es un parásito que como la ameba coloniza el intestino. Con más frecuencia que en el hombre se encuentra en el cerdo que toleran la infección sin daño manifiesto.

El trofozoito vive en la mucosa y submucosa del intestino grueso principalmente en el ciego y en la porción terminal del ileon. La invasión se logra por fermentos citolíticos y penetración mecánica. Los parásitos forman acúmulos y pequeños abscesos que al abrirse deja úlceras irregulares.

PATOGENESIS:

Básicamente hay dos mecanismos por los cuales una bacteria produce diarrea. El primero envuelve la colonización de un microorganismo capaz de producir enterotoxina y la acción de ésta explica la enfermedad, sin invasión tisular, esta enterotoxina actúa sobre la mucosa produciendo la pérdida de grandes cantidades de agua y electrolitos, dentro de los organismos que producen enterotoxina se incluyen: Vibrio cólera, al-

gunas cepas de E. Coli, Clostridium perfringens, pseudomona aeruginosa y el vibrio parahemolyticus. Los síntomas son primariamente una simple diarrea, heces líquidas sin pus ni sangre, no hay tenesmo pero sí un ligero dolor abdominal, como no hay invasión de los tejidos no ocurre bacteremia.

En contraste, otros patógenos producen diarrea por penetración del epitelio mucoso a nivel del íleo distal y el colon seguida de una multiplicación intraepitelial y ulceración, shigella, salmonella y algunas cepas de E. Coli pueden penetrar el epitelio.

Las heces frecuentemente tienen pequeño contenido de agua y se asocian a cólico y tenesmo, también por la invasión de tejidos, las heces contienen leucocitos y eritrocitos visibles al microscopio y los pacientes pueden presentar bacteremia. La localización de estos organismos los hacen susceptibles únicamente a la acción de antibióticos sistémicos que produzcan niveles terapéuticos en los tejidos, cualquiera que sea el organismo toxigénico.

DIAGNOSTICO ETIOLOGICO DEL SINDROME DIARREICO:

Tomando en cuenta la fisiopatología de la producción de diarrea de acuerdo a la destrucción y/o penetración de la mucosa intestinal, así como la simple irritación de la misma por microorganismos, se ha venido usando la técnica de azul de metileno en nuestros hospitales nacionales, como un diagnóstico precoz y fidedigno en la etiología de la diarrea (11, 3,5-). Esta técnica consiste en colocar una gota de azul de metileno en un portaobjetos y en ella diluir una muestra de heces fecales, preferiblemente del moco, sobreponiendo posteriormente un cubreobjetos y luego colocarlo al microscopio para visualizarlo (11, 3, 5).

Para el tema que nos ocupa, es conveniente recordar lo descrito anteriormente, en cuanto a lo que se refiere a estadísticas -

obtenidas de la etiología de la diarrea, en donde denuncian -- diagnóstico etiológico desconocido para el 80% (10, 11, 3, 5) y un 20% reconocido para etiología bacteriana (10, 11, 3, 5), de este último es de lo que se ocupa este estudio. No obstante existe controversia en la actualidad al respecto de ese 80% a lo cual se le atribuye como etiología los virus, el parasitismo intestinal, etc. (10, 11, 5, 3), y de los primeros la gran mayoría actúan por irritación de la mucos intestinal, algunos penetrando y estimulando el sistema nervioso; por lo que al análisis de las heces, se supone que no existirá la presencia de leucocitos polimorfonucleares (11, 5, 3), lo que actualmente se encuentra en duda, y es por lo que más se afirma este estudio.

LECTURA DEL AZUL DE METILENO:

Qué se lee en el azul de metileno?, qué es lo que se busca al verlo al microscopio?, pues, como se ha descrito desde el punto de vista fisiopatológico de la producción de diarrea; la presencia o no de leucocitos en el moco de las heces y el predominio de los mismos entre sí; si existe en el frote del azul de metileno la presencia de polimorfonucleares predominantes, podemos interpretar diarrea bacteria (shigella, E. coli invasor); encontrando predominio de mononucleares más específicamente salmonellosis typhosa (11, 3, 5); de no encontrarse leucocitos mononucleares o polimorfonucleares, se atribuye a microorganismos que irritan la mucos por sí mismos o por exotoxinas (11, 5, 3), que alteran el mecanismo adenilciclasa y A.M.P. cíclico, para la producción de diarrea por el aumento de la presencia de agua en las heces y peristaltismo.

REPRESENTACION GRAFICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS DEL ESTUDIO

DESCRIPCION DE LOS RESULTADOS:

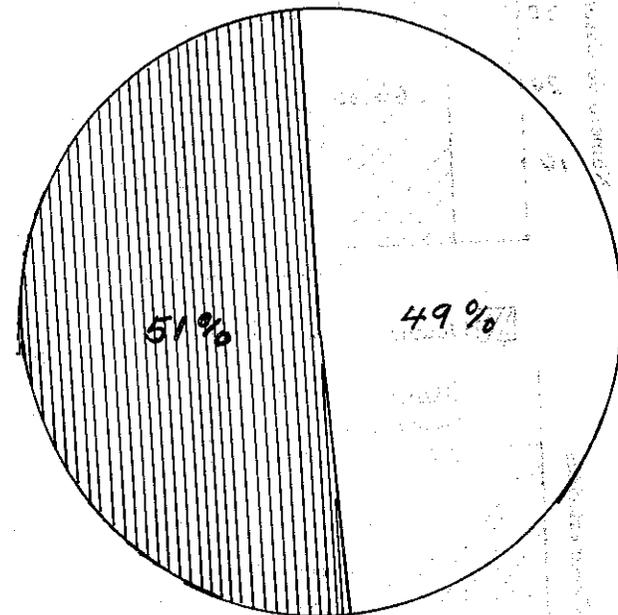
De acuerdo al estudio realizado, como puede verse en la gráfica No. 1, el sexo femenino constituyó el 51% (31 pacientes), mientras que el sexo masculino 49%; no habiendo ninguna diferencia significativa digna de tomarse en cuenta. Gráfica No. 2 (en lo que respecta a la consistencia de las evacuaciones, podemos mencionar que el 96.66% lo constituyeron las deposiciones líquidas y semilíquidas (58 casos), lo cual refleja un aumento en la concentración de agua en las deposiciones, en donde se encuentra normalmente del 65 al 85% de agua (1,3).

Gráfica No. 3: Características de la evacuación diarreica; en los pacientes estudiados específicamente se tomaron en cuenta la presencia o no de moco y sangre por ser éstas las más frecuentemente encontradas en diarreas bacterianas o virales, descartándose el color, la fetidez, la presencia de cuerpos alimenticios tales como residuos grasos, almidones, levaduras y otros por su inespecificidad y poco valor diagnóstico. Los resultados encontrados son los siguientes: El 58.33% de los pacientes de estudio no presentaron moco y sangre, un 20% presentó moco y sangre y un 21.66% sólo Moco.

A todos los pacientes del estudio se les investigó la intolerancia por vía oral para tratar de obtener un dato más sobre gravedad de la enfermedad presentada. Por estudios anteriores el síndrome diarreico suele acompañarse con bastante frecuencia de intolerancia por vía oral lo cual afianza más el diagnóstico. En la Gráfica No. 3, los datos encontrados revelan que el 61% (37 pacientes), presentaron intolerancia por vía oral, contra un 29% (23 pacientes) que no la presentaban. En la gráfica No. 4 podemos apreciar la evolución de la enfermedad de la manera siguiente: el 25% de los pacientes presentaron al momento de la investigación evacuaciones de un día de

GRAFICA No. 1.

CLASIFICACION POR SEXO DE LOS 60 PACIENTES ESTUDIADOS. SINDROME DIARREICO AZUL DE METILENO, HOSPITAL ROOSEVELT.

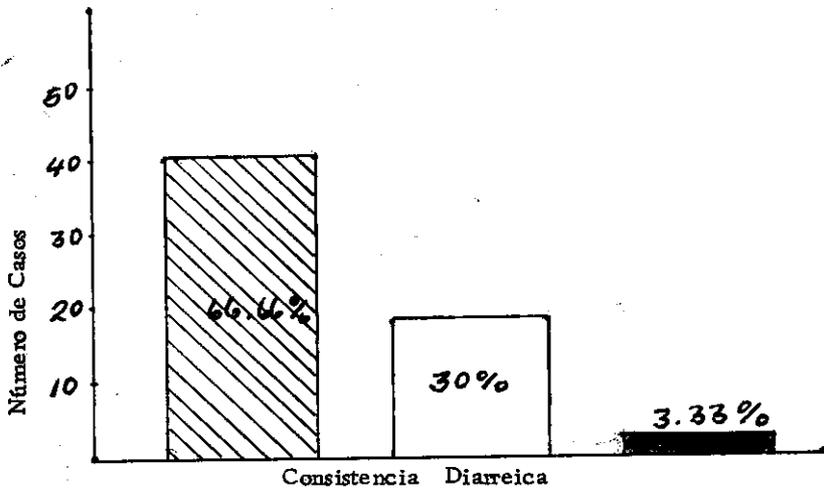


▨ 31 Pacientes sexo femenino

□ 29 Pacientes Sexo masculino.

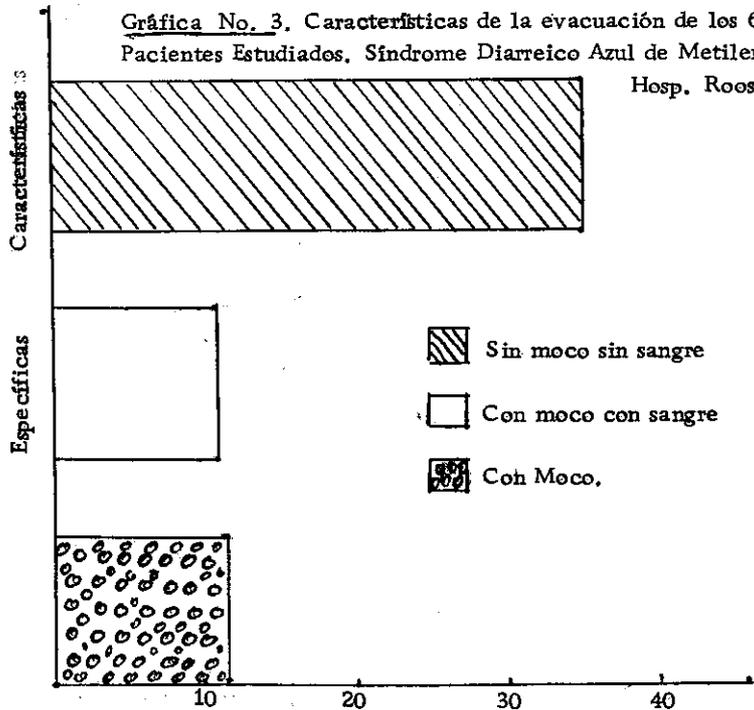
GRAFICA No. 2.

CONSISTENCIA DE LA EVACUACION DIARREICA ENCON-
TRADA EN LOS PACIENTES ESTUDIADOS. SINDROME DIA-
RREICO - AZUL DE METILENO. HOSPITAL ROOSEVELT.



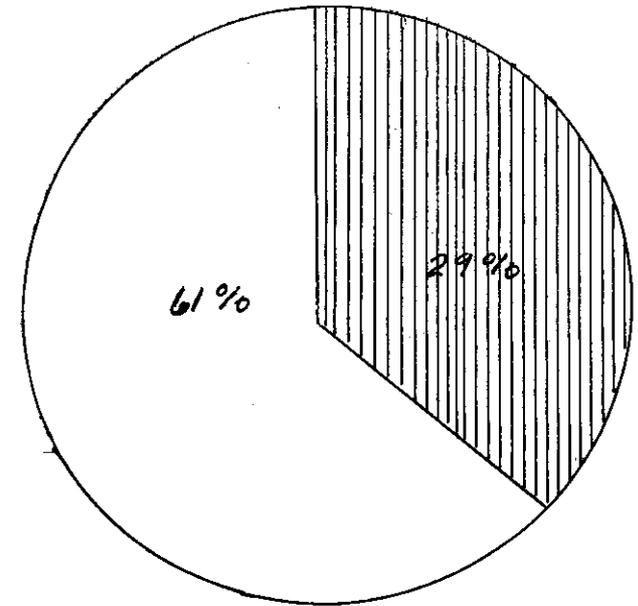
Líquida
 Semilíquida
 Pastosa.

Gráfica No. 3. Características de la evacuación de los 60
Pacientes Estudiados, Síndrome Diarreico Azul de Metileno
Hosp. Roosv.



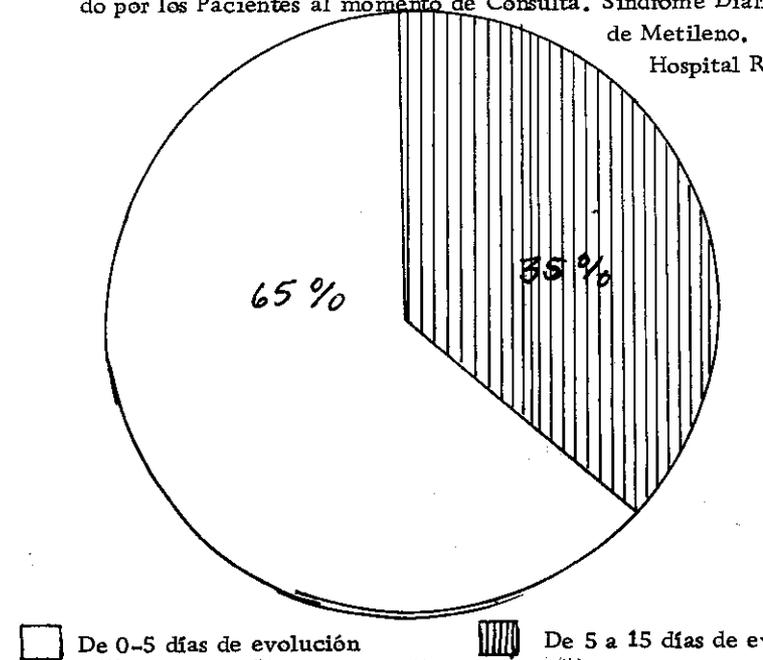
Sin moco sin sangre
 Con moco con sangre
 Con Moco.

Gráfica No. 3-A Intolerancia por vía oral que presentaron los
pacientes estudiados. Síndrome - Diarreico-Azul de Metileno
Hospital Roosevelt.



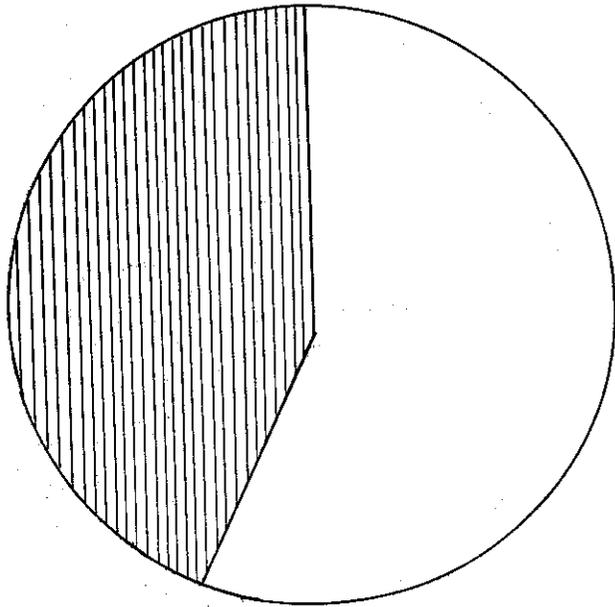
No = 23 Pacientes
 SI = 57 Pacientes.

Gráfica No. 4. Tiempo de evolución del Síndrome Diarreico
do por los Pacientes al momento de Consulta. Síndrome Dian-
de Metileno,
Hospital R



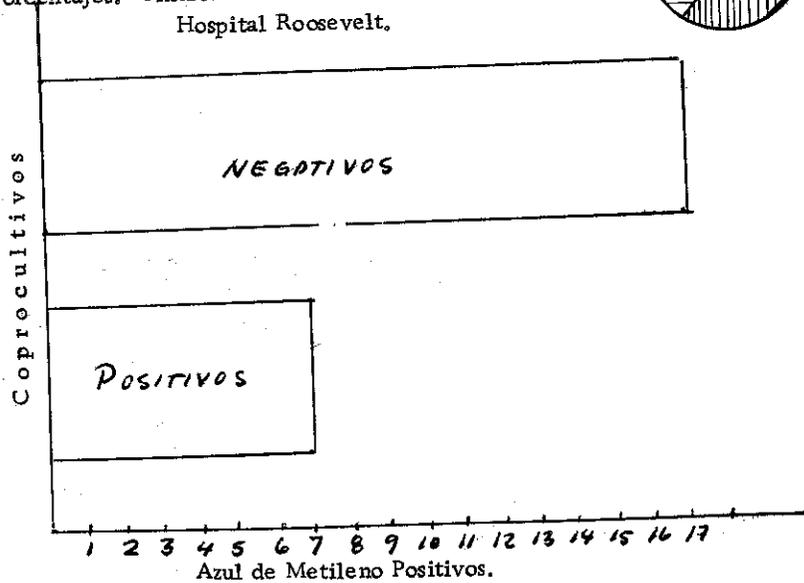
De 0-5 días de evolución
 De 5 a 15 días de evolución

Prueba de Azul de Metileno Positivo asociado al Cuadro de Diarrea.
 Síndrome Diarreico - Azul de Metileno, Hospital Roosevelt.
 Gráfica No. 5.

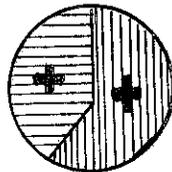


□ Negativo = 36 Pacientes ▨ Positivos = 24 Pacientes.

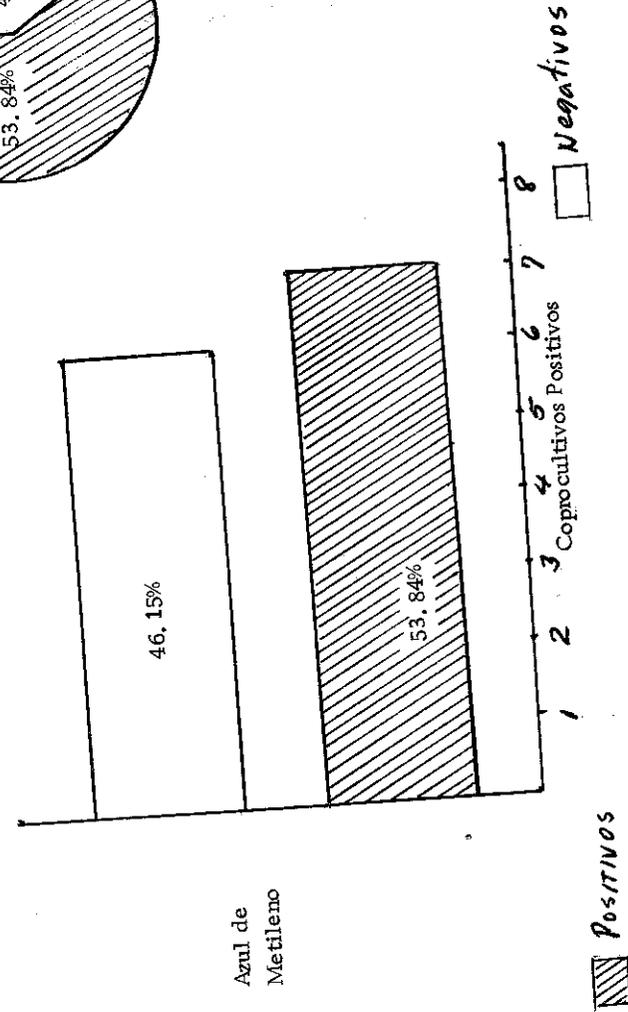
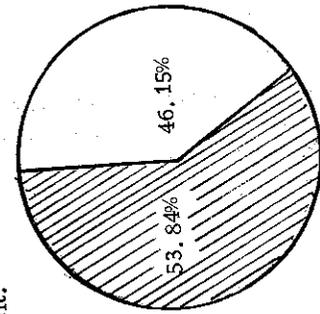
Gráfica No. 6. Pruebas de Azul de Metileno Positivo, Asociado a coprocultivos realizados. Expresado en números y Porcentajes. Síndrome Diarreico - Azul de Metileno Hospital Roosevelt.



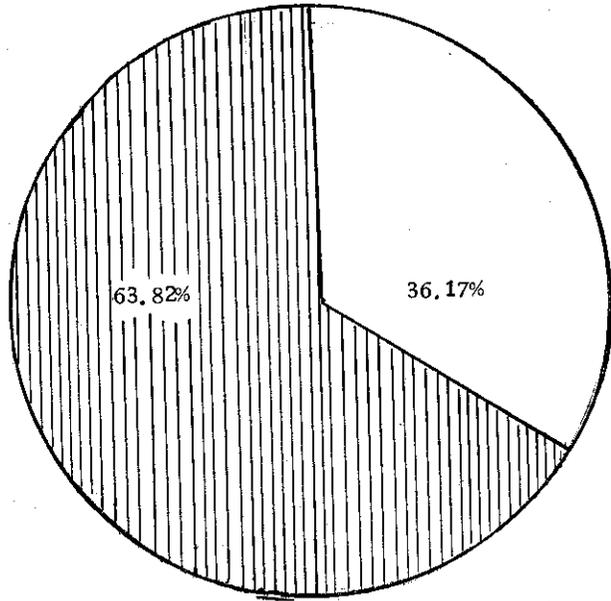
□ Coprocultivos Negativos 17 ptes. 70.88% ▨ Coprocultivos positivos 7 ptes. 29.16%



Gráfica No. 7. Coprocultivos positivos asociados a pruebas de Azul de Metileno realizados. Expresado en porcentajes y números totales. Síndrome Diarreico - Azul de Metileno. Hospital Roosevelt.

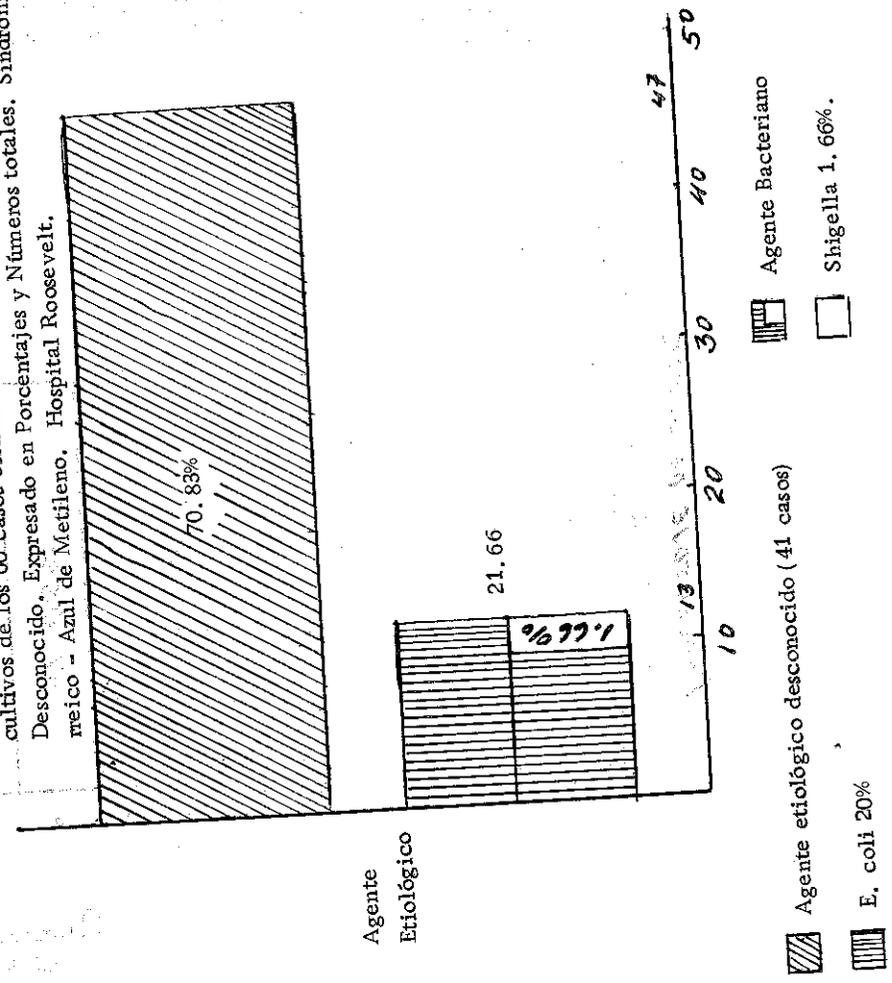


Gráfica No. 7-A, Coprocultivos Negativos con azul de Metileno Realizado. Expresado en Porcentaje y Números totales. Síndrome Diarreico-Azul de Metileno. Hospital Roosevelt.



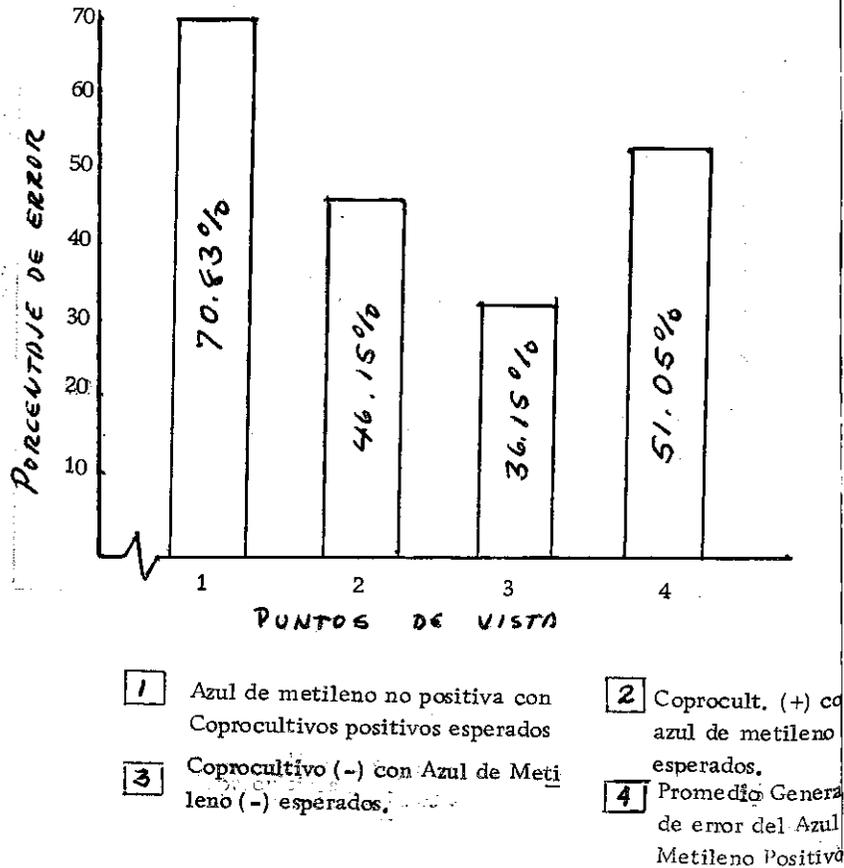
-  Coprocultivos negativos con azul de metileno positivo (17 coprocultivos.)
-  30 Coprocultivos Negativos con Azul de Metileno (total 41 negativos).

Gráfica No. 8. Agentes Productores de Diarrea encontrada en los coprocultivos de los 60 casos estudiados. Relacionado con Agente Etiológico Desconocido. Expresado en Porcentajes y Números totales. Síndrome Diarreico - Azul de Metileno. Hospital Roosevelt.



-  Agente etiológico desconocido (41 casos)
-  E. coli 20%
-  Agente Bacteriano
-  Shigella 1.66%

Gráfica No. 9. Error encontrado en la prueba de Azul de Metileno expresado en los diferentes puntos de vista analizados en las gráficas anteriores más promedios de error general, expresado en totales y porcentaje. Síndrome Diarreico - Azul de Metileno. Hospital Roosevelt.



evolución, el 40% o sea 24 pacientes presentaron al momento de la investigación una evolución de uno a cinco días. El 35% (21 pacientes), tuvieron historia de más de cinco días de evolución. Este fenómeno demuestra que el proceso diarreico desarrollado en los pacientes investigados fue de carácter agudo.

Analizando el contenido más importante de este estudio, como lo es la prueba de azul de metileno a lo cual fueron sometidos todos los pacientes investigados; en la Gráfica No. 5, puede observarse la asociación de esta gráfica de diarrea, en 24 casos, 40%, con prueba de azul de metileno positivo y 36 casos, 60%, de azul de metileno negativos; lo cual hace pensar en un 40% de diarreas causadas por microorganismos destructores o invasores de la mucosa intestinal, según hipótesis presentada. De acuerdo a la hipótesis planteada debería esperarse que los coprocultivos positivos presentaran azul de metileno positivo o viceversa; en la Gráfica No. 6, muestra que solo siete pruebas de azul de metileno positivos, presentaron coprocultivo positivo lo cual se constituye en el 29.16% de las pruebas en mención. Así mismo 17 pruebas de azul de metileno positivo no presentaron coprocultivo positivo.

En la Gráfica No. 7, se trata de suponer, que, teniendo únicamente coprocultivos positivos; cuántos de ellos sometidos a la prueba de azul de metileno resultarían positivos? y esta gráfica nos muestra como dato importante que sólo 46.15% del total de 13 coprocultivos positivos fueron positivos a la prueba de azul de metileno y el resto 53.84% o sea 7 coprocultivos positivos fueron negativos a la prueba de azul de metileno.

Tomando en cuenta hasta el momento lo encontrado en el estudio, se decidió analizarlo desde el punto de vista coprocultivos negativos relacionándolos con la prueba de azul de metileno no positiva; demostrando los datos que el 36.17% de los coprocultivos negativos son positivos para la prueba de azul de metileno.

7-A; como es de esperarse la prueba de azul de metileno debe ser negativa (3, 5, 11), pero el estudio muestra que el 36.17% de coprocultivos negativos presentaron azul de metileno positivo lo cual pone en cuestionamiento lo que otros autores describen. Podría estar en contra de esto, que en las muestras tomadas no se hubiere aislado el germen por mala técnica del procesamiento o que no estuviera en la muestra analizada, pero esto es especulación más que factibilidad.

Observando la Gráfica No. 5, encontramos que el 40% de los casos estudiados (24 pacientes), tienen azul de metileno positivo lo que haría suponer que presentan diarrea de etiología bacteriana, según los estudios de otros investigadores (3, 5, 11), sin embargo, esto no es cierto para los resultados del estudio que muestran las gráficas No. 6, 7, 7-A, proporcionando duda al respecto, o bien pudiera sugerir que otra clase de microorganismos no cultivables por los métodos de cultivos utilizados en nuestro medio, provoquen la presencia de polimorfonucleares en las heces.

Analizando los porcentajes de error en la Gráfica No. 9 y promediándolos, arroja el 51.1% de error general de la prueba de azul de metileno, lo cual no confirma lo expresado por estudios de otros investigadores (3, 5, 11), que expresan que el azul de metileno es confiable en el 100%.

En la actualidad el 80% de la etiología del síndrome diarreico es desconocido -no bacteriano- (3, 5, 12), y dentro de este 80% podrían encontrarse microorganismos no bacterianos que provoquen la presencia de polimorfonucleares, como lo muestra el estudio en la Gráfica No. 6 y 7-A. Esto será la historia de futuras investigaciones médicas quienes lo evidencien o nieguen.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

CONCLUSIONES:

- 1.- La prueba de azul de metileno no es confiable p
nóstico de diarreas bacterianas es decir, como d
precoz del síndrome diarreico, ya que presenta e
de error en este estudio. No podríamos decir qu
ba debe descartarse, pero sí estamos en contra d
como respaldo para prescribir o no, tratamiento
en el síndrome diarreico en nuestro medio, dado
ce de error.
- 2.- Los resultados obtenidos en este estudio muestr
ción distinta a la de los estudios de Harris y Du
así como en el estudio presentado por el Br. Cla
rez y Br. Alejandro Flores (3), y lo informado p
siun internacional de enfermedades infecciosas
México D.F., los que concluyen que la presenci
fonucleares vistos por la prueba de azul de meti
heces de un paciente con síndrome diarreico rep
la etiología es bacteriana.
- 3.- La diferencia de resultados sobre una misma hip
tudío hace considerar:
 - 3.1 La existencia de factores cuya acción sobre
y otros agentes morbosos son aún desconoci
palmente la limitación actual de tener med
exactas del ambiente.
 - 3.2 Que el ambiente a través de la historia pue
efectos en una población, para que ésta ten
titución y comportamiento distintos a otras

- 4.- No todo estudio realizado por y con otras poblaciones es aplicable en todo lugar.

RECOMENDACIONES:

- 1.- Siendo el síndrome diarreico una enfermedad que acosa a la población infantil guatemalteca, provocando un alto índice de morbi-mortalidad debe ponerse más énfasis en su investigación y de cómo desarrollar programas, principalmente para la prevención.
- 2.- A nivel hospitalario el uso del coprocultivo, debe utilizarse como medida diagnóstica primaria, en el síndrome diarreico.
- 3.- El uso de antibióticos debe iniciarse siempre y cuando se haya determinado un agente etiológico bacteriano; en cuanto al tratamiento sintomático, debe dársele mayor importancia a la hidratación, ya que por la fisiopatología descrita en este estudio, la pérdida de agua y electrolitos es la causa de muerte en el síndrome diarreico.
- 4.- Debe descartarse la idea establecida en nuestros hospitales, de que la presencia de polimorfonucleares en la prueba de azul de metileno, es sinónimo de gastroenterocolitis bacteriana.
- 5.- Motivamos a los estudiantes y médicos, para continuar investigando sobre este y otros métodos diagnósticos tempranos del síndrome diarreico, incluyendo en ellos, el mejorar los métodos, en cuanto a procesamiento de muestras para coprocultivo y azul de metileno, así como la estandarización de los parámetros a usar, ya que con esto, se incrementará el conocimiento sobre este tema.
- 6.- Como expresamos al inicio de este estudio, el uso de mé-

todos diagnósticos utilizados e investigados en otros países deben ser comprobados en nuestro medio, ya que las características de nuestro ambiente y proceder son diferentes. No hacerlo así, seguiríamos careciendo de bases y fundamentos propios, perdiendo el objetivo científico y servicio al paciente como médicos guatemaltecos.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- PHILLIPS. S.F. Fluid and Electrolyte Fluxes in the Gut. - Hospital. Practice. 8: 137 - 146 (1973).
- 2.- PHILLIPS. S.F. Diarrhea a Corrupt View of the pathophysiology. Gastroenterology. 63: 495 - 518 Sept. 1972.
- 3.- Diarreas producidas por organismos enteropatógenos. Trabajo presentado en XXIV Congreso Nacional de Medicina en la ciudad de Guatemala del 11 al 17 de Noviembre de 1973.
Por: Dr. Jorge T. Rodríguez S.
Departamento de Nutrición y Gastro-enterología Pediátrica. Colegio de Medicina de Baylor. Houston Texas. - U.S.A.
- 4.- Alterations in Human Intestinal Microflora during experimental Diarrhea.
Reprinted from the Journal of the British Society of Gastroenterology. Gut.
Volumen 11 page 1, 1970.
- 5.- DIARREA. Concepto: Fisiológico y Fisiopatológico.
Br. Alejandro Flores Sandoval.
Br. Claudio Ramírez
Folleto Mimeografiado, Mayo 74, Jacaltenango.
- 6.- GIANELLA. R.A. Broitman. S.A. and Zamcheck N: Salmonella Enterit. 1. Role of Reduced Gastricsecretion in pathogenesis. - A.M. J. of digest. Dis. 16: 1000-1005 (1971).
- 7.- DIXON. J.M.S.: The Fate of Bacteria in the Small Intestine J. Pathol Bacteriol. 79: 131 - 140 (1960).

- 8.- ROSEN F.S. Janeways, C.A.: The Gammaglobulins III. Antibody deficiency. Syndroms N. Eng. T. Med. 275: 715 (1966).
- 9.- Sprinz H.: Pathogenesis of Intestinal Infections Arch of Pathol 87: 556 - 562 (1969).
- 10.- Therapy of Acute Diarrheal Diseases in Children.
Donald L. Randall M. D.
Department of Pediatrics.
The University of Texas South Western Medical School. At Dallas Texas. June 1973. Drug Transactions
- 11.- HARRIS J.C. Dupont M.D. and Richard B. Hornich. M.D. F.A.C.P., Baltimore Maryland. Fecal Leukocytes in Diarrheal Illness. Annals of Internal Medicine 76: 697 - 703, 1972.
- 12.- I. Simposiun Internacional de Enfermedades Infecciosas en los niños Institución mexicana de Asistencia a la infancia D.F. Enero 9 - 11 1974.
- 13.- Diarrea en el recién nacido.
Dr. Joaquín A. de la Torre. Jefe del departamento de Pediatría. Hospital Infantil de México.
Boletín. Médico del Hospital Infantil
Vol: XXX Julio Agosto 1973 No. 4.
(Páginas 585 - 607).

[Signature]
Dr. **Mariano VINCIO GÓMEZ**

[Signature]
Dr. **Oscar Muñoz Andrade**

[Signature]
Revisor.
Dr. **Fernando Mosquera**

[Signature]
Director de Fala III.
Dr. **Julio de León Méndez**

[Signature]
Secretario General
Dr. **Mariano Guerrero Rojas**

Dr. Dr.

[Signature]
Decano
Dr. **Carlos Armando Soto G.**