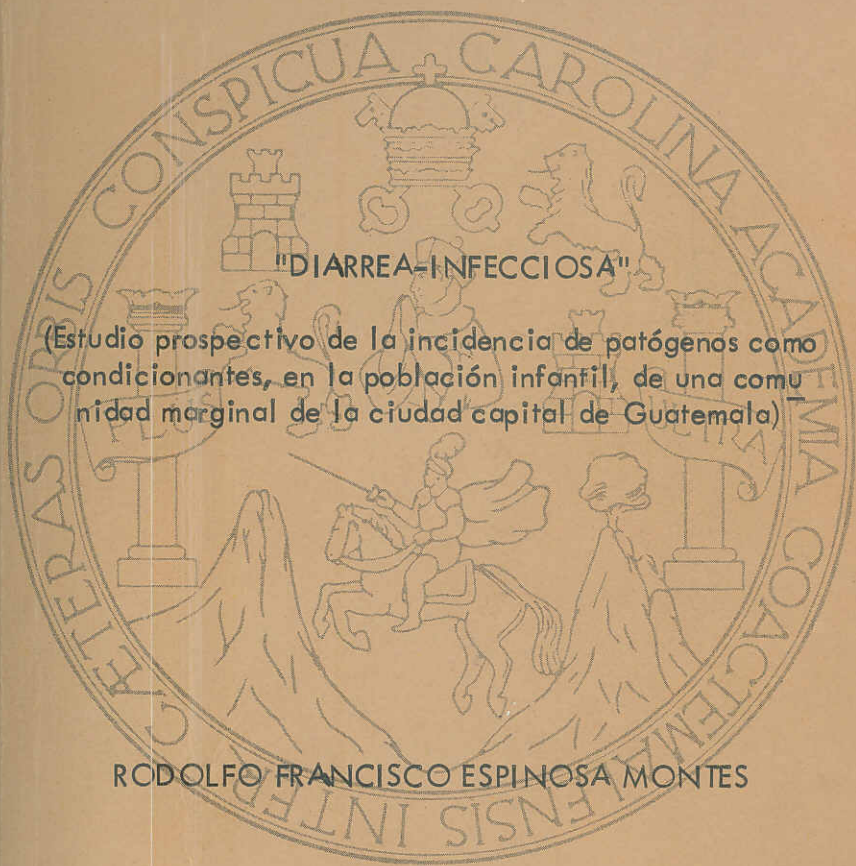




"DIARREA-INFECCIOSA"

(Estudio prospectivo de la incidencia de patógenos como condicionantes, en la población infantil, de una comunidad marginal de la ciudad capital de Guatemala)

RODOLFO FRANCISCO ESPINOSA MONTES

PLAN DE TESIS

- 1.- INTRODUCCION
- 2.- ANTECEDENTES
- 3.- OBJETIVOS
- 4.- HIPOTESIS
- 5.- DEFINICION DEL PROBLEMA A INVESTIGAR
- 6.- GENERALIDADES
 - 6.1.- MECANISMOS PROPUESTOS DE ACCION
 PATOGENA DE LOS GERMENES INVESTIGADOS
 - 6.2.- TECNICA DE FIJACION DE LAS HECES CON AL-
 COHOL POLIVINILICO
 - 6.3.- TECNICA DE COLORACION TRICROMICA DE --
 LAS HECES
 - 6.4.- TECNICA DEL COPROCULTIVO
 - 6.5.- TECNICA DEL ANTIBIOGRAMA
- 7.- MATERIAL Y METODOS
- 8.- PRESENTACION DE RESULTADOS
- 9.- INTERPRETACION DE RESULTADOS
- 10.- CONCLUSIONES
- 11.- DISCUSION
- 12.- RECOMENDACIONES
- 13.- BIBLIOGRAFIA.-

INTRODUCCION

Del griego, diárrhōia, flujo de vientre: diá: intenso. rrhōia: flujo. Frecuencia y fluidez anormales de las excreciones fecales.- (Hipócrates)

La gastroenteritis o enfermedad diarreica, es una de las enfermedades comunes tanto en niños como en adultos. Se observa a nivel mundial, variando notoriamente de frecuencia de un país a otro y aún en las distintas áreas de un mismo país. Su frecuencia tanto en términos de morbilidad como de mortalidad, guarda una relación inversa con el saneamiento del medio y otros factores tales como educación, estado nutricional y recursos sanitarios. (14)

Entre las múltiples causas que condicionan el proceso, se encuentran las infecciones del tracto gastrointestinal, las cuales encuentran un campo fértil de desarrollo en un país en la que el común denominador es "bajo nivel socio-económico", y todos los problemas que esto acarrea.

Lo que se persiguió básicamente en el presente estudio, es conocer en qué porcentaje los patógenos son condicionantes o coadyuvantes para que se produzca diarrea, investigando específicamente la presencia de Shigella, Salmonella, Giardia lamblia, y Entamoeba histolytica, en la población infantil de una comunidad marginal de Guatemala, que represente lo más fielmente posible la realidad de las grandes mayorías de nuestro país, para que los alcances de este estudio puedan ser aplicados razonablemente en otras áreas geográficas similares.

ANTECEDENTES

El síndrome diarreico ha constituido un verdadero problema para la salud pública en Guatemala, y sus efectos dañinos para la población y principalmente contra la niñez, van en relación inversa con el estado socio-económico de la misma; o sea que a mayor nivel socio-económico, menor será el efecto adverso que acarreará para el individuo. El síndrome diarreico se apunta por sí solo, cifras elevadas y alarmantes en lo que respecta a morbilidad y mortalidad en los países subdesarrollados, y mientras sigamos sumidos en el atraso, seguiremos conociendo acerca de los efectos devastadores que este mal trae consigo mismo.

Así vemos que, la mortalidad por síndrome diarreico para niños menores de 1 año es de 1519 X 100,000 nacidos vivos. La mortalidad para niños de uno a cuatro años por enfermedad diarreica en general en Guatemala, es de 656 por 100,000 nacidos vivos. La mortalidad para todas las edades por enfermedad diarreica en general en Guatemala es de 265.8 X 100,000 nacidos vivos, en comparación con el 33.8 de Panamá. (1)

La tasa de ataque por enfermedad diarreica en el área rural de Guatemala, es más marcada entre los seis primeros meses de vida a los dos años de edad, o sea el período del destete, y luego disminuye a medida que aumenta la edad del niño. (2)

La mortalidad por enfermedad diarreica en el área rural, es más alta durante el segundo año de vida, y se mantiene alta durante el tercero para luego descender bruscamente. (3)

En el área rural, un veintisiete por ciento de todas las defunciones registradas, son debidas a enfermedades diarreicas. (4)

En un estudio hecho en un período de 10 años en 20 aldeas de Guatemala, evidenció que se producen con regularidad tres brotes-

epidémicos de enfermedades diarreicas, las cuales evolucionan lentamente, y se mantienen activos durante muchos meses. (5)

En el área rural solo el 25% de las casas tienen agua entubada, y en el área urbana solo el 60%. En la colonia "La Lirmonada" de esta capital, solo el 9% de las casas tiene agua entubada, y el resto de la población la obtiene por diferentes medios.

(6)

En relación con la disposición de excretas de la colonia "La Lirmonada", un 43% de las personas usa letrinas comunales, o familiares, y un 51% de las personas no tiene ninguna clase de drenajes en su casa. De 3,929 personas encuestadas, el 10% refirió tener diarrea al momento de la encuesta. (7)

En un estudio de prevalencia de contaminación fecal en quesos populares, se encontró que los quesos llamados de "capas", presentan un 80% de contaminación fecal, tomando como índice de fecalismo la presencia de *Escherichia coli*. (8)

En un estudio practicado en dos comunidades rurales de Guatemala, la duración de la diarrea fue de 5.9 y 8.5 días respectivamente. (9)

En otros estudios de comunidades rurales, se han encontrado casos de diarrea con una duración de 15 días, a veces de hasta un mes, y hasta dos meses, sin causa infecciosa aparente. Las razones por las que la diarrea es tan prolongada son conocidas: En países donde el nivel social, educativo, y económico es deficiente, la resistencia del huésped a insultos del medio ambiente es muy baja, a causa de infecciones a repetición, asociadas a desnutrición proteico-calórica. (10) (11)

En los últimos 20 años se ha registrado un descenso progresivo de la mortalidad general, que seguramente es reflejo de los programas de salud, con variaciones poco importantes de las

10 primeras causas principales de muerte en Latinoamérica. Los primeros lugares los siguen ocupando las enfermedades infecciosas y parasitarias y uno de los prioritarios, la gastroenteritis, hecho que contrasta con los datos correspondientes a países desarrollados, en los que han aumentado las muertes por enfermedades crónicas, muchas veces imposibles de prevenir. (12)

Al analizar las causas específicas de muerte por enteritis, se encuentra que mientras que en el Canadá y en los Estados Unidos ésta ascendía a 0.2 y 0.8 por 1,000 respectivamente, en Brasil y El Salvador esta tasa alcanzaba 46.4 y 44.8 en ese orden. (13)

OBJETIVOS

- 1.- Determinar en qué porcentaje las infecciones intestinales son causadas por Shigella, Salmonella, Giardia Lamblia, y Entamoeba histolytica.
- 2.- Conocer el cuadro clínico presentado por los pacientes en -- quienes se logre aislar o identificar los patógenos arriba men-- cionados.
- 3.- Efectuar un sistema de vigilancia epidemiológica al efectuar sensibilidad a los antibióticos de los géneros Shigella y Salmonella aislados de los pacientes estudiados.

HIPOTESIS

" La diarrea infecciosa condicionada por los patógenos Shigella, Salmonella, Entamoeba histolytica y Giardia lamblia, constituye hasta un 25% del total de causas que producen diarrea en una comunidad marginal de Guatemala".

DEFINICION DEL PROBLEMA A INVESTIGAR

" Incidencia de Patógenos como condicionantes de diarrea infecciosa en la población infantil de una comunidad marginal de Guatemala ".

GENERALIDADES

MECANISMOS PROPUESTOS DE ACCION PATOLOGICA DE LOS MICROORGANISMOS INVESTIGADOS:

1.- Entamoeba histolytica: La fisiopatología de la amibiasis constituye uno de los ejemplos más claros del dinamismo de un fenómeno biológico que descansa en variantes, siempre poco conocidas y cuya investigación nos permitirá, algún día, el dominio de este mal. En este caso debemos considerar el parásito que ataca y al hombre. Es una lucha que podríamos llamar directa, y creo que está plenamente justificado el nombre de "nuestro valiente enemigo", que ha dado Diamond a *E. histolytica*.

E. histolytica tiene 100 años de vida conocida. Nació bajo la duda científica de su descubridor, Fedor Aleksandovich Loesh, quien en 1875, al encontrarla en el intestino de un hombre fallecido de disentería, dudó del rol que le correspondía a la amiba. Anteriormente, actuó protegida por la ignorancia, que sigue siendo su aliada, ya que la falta de difusión del conocimiento mantiene la miseria, insalubridad y desnutrición que son los principales factores en la propagación de la infección y producción de enfermedad grave. Hoy se sabe mucho sobre la amiba, pero existen aún ciertas incógnitas sin resolver. Uno de los hechos más importantes para las diversas líneas de investigación fue el logro de cultivos puros del parásito, que debemos a investigaciones que partieron con los trabajos de Musgrave y Clegg, en 1904, y culminaron con el éxito de Diamond en 1961, al obtener cultivos sin gérmenes, lo que ha permitido un mejor estudio morfológico y bioquímico, lo mismo que mayor precisión en el conocimiento del poder patógeno. Esta dificultad para cultivar en forma pura *E. histolytica*, señala la importancia que tienen las bacterias en su biología.

Con el fin de comprender mejor el fenómeno fisiopatológico, debemos revisar brevemente algunos de los últimos descubrimientos morfológicos y bioquímicos del parásito; lo mismo que las

principales variantes que puedan actuar en la resistencia del huésped. En 1903 Schaudin precisó la morfología de la ameba en el microscopio de luz y la diferenció de otras amebas saprófitas del intestino del hombre. Estos trabajos fueron de indudable valor en el diagnóstico, pero de nulo valor acerca de la acción patógena.

Los avances de la microscopía electrónica, unidos a las investigaciones citoquímicas, nos han permitido comprender mejor los mecanismos de patogenicidad, al mostrarnos una membrana celular activa y compleja, y un sistema de vacuolas cargadas de pequeñas vesículas, junto a lisosomas, algunos de localización periférica. Todos estos microelementos son extraordinariamente ricos en fosfohidrogenasa ácida, que alcanza una proporción 100 veces más elevada que la que existe en las membranas de las células hepáticas de los mamíferos. En cultivos, se ha comprobado la existencia de un sistema gatillo en los lisosomas; hecho que no ha sido comprobado en estudios in vivo.

Está suficientemente esclarecida la existencia de enzimas proteolíticas en la ameba, como tripsina hialuronidasa, carboxipeptidasa, glutaminasa, maltasa, deshidrogenasa succínica, pero todavía falta por precisarse su real y verdadero valor en la patogenia de la enfermedad. En investigación reciente de Akio Takenchy y Bruce Phillips, que consistió en inoculación de trofozoitos de *Entamoeba histolytica* en el ciego de cuyos, lo cual ha ayudado a comprender las fases de invasión de la ameba en la pared intestinal, siendo las siguientes:

1).- Al acercarse el protozoo a la célula intestinal, ésta muestra alteración observándose gotitas de material lipídico y acortamiento de las microvellosidades. Por otra parte el resto del epitelio aparece normal.

2).- A medida que la ameba se acerca al borde de cepillo, las

microvellosidades se acortan más y se altera su regularidad. Son frecuentes las gotitas de grasa en el citoplasma de las células epiteliales. Material amorfo, denso, aparece entre la ameba y las vellosidades. Desde el capilar emigran leucocitos polimorfonucleares en la lámina propia bajo el epitelio.

3).- Mientras más avanza el parásito, más se alteran las vellosidades, llegando la membrana en cepillo a transformarse en una delgada membrana y el material denso desaparece. Mientras que los leucocitos polimorfonucleares comienzan a emigrar en el espacio intercelular del epitelio.

4).- Más adelante, la ameba se coloca en contacto con el ápice citoplasmático de la célula epitelial, las mitocondrias se hinchan y las gotitas de grasa aumentan de número. Se observan vacuolas de autodigestión. Los leucocitos polimorfonucleares de los espacios intercelulares, permanecen conservados.

5).- Los pseudópodos de *Entamoeba histolytica* penetran el epitelio, separando las uniones intercelulares. Las alteraciones citoplasmáticas de las células del epitelio son evidentes y los leucocitos de la vecindad de la ameba, comienzan a mostrar signos de degeneración.

6).- La ameba intercelular avanza más por su pseudópodo y penetra la lámina propia a través de la lámina basal, mientras que la célula epitelial es expulsada al lumen intestinal.

Observaciones semejantes lograron N. Treviño y E. Cruz de Lavin, y agregaron que la invasión se realizaba desde el fondo de las criptas y que en algunas células existían alteraciones, aún en ausencia de trofozoitos cercanos.

Del estudio de la literatura actual se desprende con claridad

que el protozoo con la morfología de la *E. histolytica*, que vive en el intestino del hombre, es potencialmente patógeno, aunque existan diferencias morfológicas de tamaño o bioquímicas, de presencia o riqueza de determinados fermentos, o su carga negativa o positiva. Es indudable, que existen cepas de diversa virulencia, pero ésta no es fija y puede modificarse en diversas circunstancias.

Teniendo presente estas características del parásito, debemos relacionarlo con el intestino del hombre, y así podremos esquematizar 3 alternativas:

- 1).- Existe un grupo de personas en quienes no se da la infección.
- 2).- En otros existe infección, pero no se evidencia signos ni síntomas de enfermedad, o si existen no son claramente atribuibles al parásito.
- 3).- Existencia de síntomas y signos claros de amebiasis invasora con cuadro clínico de disentería amebiana, colitis fulminante, tifloapendicitis amebiana, ameboma del colon, y absceso hepático.

Aunque aceptamos diversos grados de virulencia de algunas cepas de amebas, es claro que existen factores que dependen del hospedero, y así queda claramente demostrado en experimentación con animales, produciendo con mayor facilidad lesiones amebianas al bajar la inmunidad con diversas drogas, o, por el contrario, se aumenta la resistencia progresiva con estas lesiones, administrando en forma progresiva antígenos amebianos.

Además, está demostrada la influencia de la alimentación sobre la inmunidad general, y la importancia sobre las condiciones bioquímicas del intestino grueso, en relación con el po-

der agresivo del parásito. Prado, Véritz, Gutiérrez y Toroella, encontraron que el 72% de los casos de amebiasis invasora, tienen algún tipo de desnutrición, correspondiendo el mayor número de casos, a desnutridos de tercer grado.

Un punto de gran ignorancia es la acción de la flora bacteriana, o viral del intestino grueso. Hay acuerdo en que la existencia de las bacterias del intestino de un enfermo con amebiasis invasora, aumenta la virulencia del parásito en inoculaciones experimentales, pero ignoramos su mecanismo de acción. (15)

2.- Giardia lamblia: En la giardiasis no se producen lesiones ulcerosas, y los hallazgos histológicos en el intestino delgado (en especial duodeno porción principalmente afectada) son pobres, con una aparente indemidad histológica, o, a lo más, se encuentra hipermemia y aumento de la secreción de moco, en cuyo seno se encuentran los parásitos.

Se ha sostenido que *Giardia lamblia* al aplicarse sobre la pared intestinal, actuaría como una barrera mecánica a la absorción intestinal. (16) Recientes observaciones efectuadas bajo microscopio electrónico sugieren que el potente disco succionador del trofozoito podría causar considerable irritación mecánica a las microvellosidades del intestino delgado. Deficiencias de disacaridasas, péptidohidrolasas, actividad de enteropeptidasas, así como disminución de la absorción de vitaminas A y B12 podrían ocurrir, ya que funcionalmente dependen de la integridad del borde de las microvellosidades. Se ha sugerido que el sobrecrecimiento bacteriano que esto acarrea, asociado a disfunción pancreática o una enfermedad parecida al Sprue, pueden actuar sinérgicamente en la patogenia de la Giardiasis. Hipoclorhidria o aclorhidria facilitan la infección. (17)

Clásicamente se ha aceptado que la giardia no penetra la barrera epitelial, sin embargo en lamblíasicos a los cuales se les han efectuado biopsias intestinales, se han encontrado protozoos

en el c6rion de la mucosa intestinal. Este fen6meno ha sido observado pocas veces, y no se sabe si ocurre espor6dicamente, -- por lo cual no se puede evaluar correctamente la importancia -- de estos hallazgos que, sin duda, est6n dando una nueva dimen- -- si6n al problema patog6nico de la giardiasis. As6 las cosas, -- existen elementos concretos que ayudan a entender la acci6n -- de Giardia lamblia contra su hu6sped. A la antigua teor6a de -- la barrera mec6nica a la absorci6n, se agrega el da6o produci- -- do en la c6lula epitelial intestinal, objetivada mediante micros- -- copia electr6nica.

3.- Patogenia de la diarrea bacteriana: La patogenia de la enfermedad gastrointestinal aguda causada por pat6genos bacterianos ha sido examinada en forma extensa en modelos animales -- de experimentaci6n, y en grado m6s limitado en humanos. Des- -- pu6s de ingerir el posible pat6geno bacteriano, en casi todas -- las circunstancias debe fijarse a alg6n sitio espec6fico de uni6n en la mucosa situado en una zona seleccionada del aparato in- -- testinal, y multiplicarse r6pidamente para alcanzar niveles im- -- portantes de poblaci6n bacteriana y as6 desencadenar enferme- -- dad real. Las bacterias propias del aparato gastrointestinal -- son, en circunstancias normales, muy eficaces para impedir que ocurra la primera etapa despu6s de la ingest6n del pat6geno -- potencial. Las bacterias "normales" propias del intestino son -- abundantes y a menudo tienden a ser anaerobias. Estas bacte- -- rias colonizan el intestino en etapas muy tempranas de la vi- -- da, y m6s tarde constituyen un medio de protecci6n para el -- hu6sped, por su capacidad de interferir con la invasi6n e infec- -- ci6n por posibles pat6genos bacterianos.

Desde el punto de vista cl6nico, los factores que posible -- mente modifiquen las bacterias propias del intestino tambi6n -- predispondr6n a diarrea infecciosa. En la desnutrici6n en que puede haber alteraci6n de la microflora bacteriana; cuando -- se han administrado antibi6ticos por v6a bucal; luego de inter- -- venciones quir6rgicas en el conducto gastrointestinal. En ani-

males de experimentaci6n se ha demostrado que los antibi6ticos que disminuyen el n6mero de algunas bacterias como los anaerobios, es- -- t6n predispuestos a sufrir infecciones por Salmonella, que en otros -- animales no fue posible.

Los 6cidos org6nicos vol6tiles producidos por bacterias propias del intestino, tambi6n pueden ser 6tiles para impedir la infecci6n -- por Shigella y Salmonella. Algunas bacterias producen sustancias -- bactericidas que adem6s de inhibir el crecimiento de bacterias pa- -- t6genas y algunos hongos, protegen contra la infecci6n contra pat6- -- genos potenciales. La flora normal de las v6as intestinales tambi6n protege por la inhibici6n competitiva por "sitios de combinaci6n" -- en las superficies de la mucosa. De todos estos mecanismos no se -- sabe cu6l es el m6s importante para proteger al hu6sped.

En la patogenia de la diarrea pueden haber varias formas de -- interacci6n entre pat6geno y el aparato intestinal. Hay 3 formas -- conocidas que explican de una forma razonable el fen6meno, las -- cuales no se excluyen mutuamente, y en estas circunstancias, cual- -- quier pat6geno particular puede modificar su mecanismo de acci6n. Se resumen estas formas como sigue: (18)

1) Fijaci6n sin penetraci6n: Las bacterias que elaboran enferme- -- dad por elaboraci6n de una "exotoxina", o mejor llamada "entero- -- toxina", simplemente se fijan a la superficie del epitelio de la -- mucosa intestinal. Entre las m6s importantes que utilizan este me- -- canismo tenemos al Vibrio cholerae, Esch. coli toxig6nico, Clostridium perfringens, Staphylococcus aureus, y en el caso que aho- -- ra nos interesa, Shigella dysenteriae y algunas cepas de Shigella- -- sonnei. En fecha reciente se han estudiado de manera intensiva -- las enterotoxinas y su mecanismo de acci6n, hecho estimulado -- por un inter6s cada vez mayor en el c6lera. Los microorganismos como se dijo anteriormente, no penetran la mucosa, y la enferme- -- dad puede ser controlada con un tratamiento dirigido a restable- -- cer el desequilibrio hidroelectrol6tico que estos microorganismos -- producen. La "toxina" parece estimular la enzima "ADENIL CI -

CLASA".

Esta enzima se localiza sobre la membrana basolateral de las células vellosas del epitelio intestinal, y en menor cantidad en las células de las criptas. Cataliza la conversión de adenosina trifosfato (ATP) hacia adenosina monofosfato cíclico (3-5 - AMP cíclico). En este punto, el AMP-cíclico por una serie de pasos que envuelven la activación de otra enzima, una Protein-kinasa, la cual estimula la bomba de iones que secretan activamente aniones (principalmente cloruros) dentro de la luz intestinal. Esto acarrea salida de agua para mantener la isotonicidad, y cuando la capacidad de absorción del intestino ha sido excedida, el exceso de iones y agua, juntos con excretados, produciendo la diarrea fulminante, y potencialmente letal que caracteriza a la enfermedad. (19) (18)

2) Fijación con penetración de las células del epitelio: Durante muchos años se ha pensado que los microorganismos tipo shigella simplemente se alojaban en la superficie del intestino, sin embargo se sabe actualmente que después de fijarse en la mucosa intestinal, probablemente en algún sitio específico, shigella y otros microorganismos penetran en la célula, y se multiplican en su interior. Se ha sugerido que el resultado de esta colonización intracelular, se traduce en producción de toxina por la shigella o algún otro producto el cual ataca los ribosomas, inhibiendo la producción de proteínas. Esto acarrea muerte celular, lo que acarrea a su vez todo el mecanismo de la "inflamación". Tiene una notable capacidad de penetrar fácilmente a las células, aunque sabemos que no son móviles, y aumentar su número en gran medida, con ello destruyen las células infectadas y causan las úlceras características de la mucosa intestinal. Las típicas heces sanguinolentas de la disentería bacilar son producidas cuando dichas úlceras sangran, con la expulsión en las heces diarreicas, eritrocitos y células inflamatorias. Shigella en comienzo se fija a la mucosa del intestino delgado, y más tarde en la infección se fija de manera preferente a

las células epiteliales de la mucosa del colon en donde también las penetra y causa alteraciones. Cabe diferenciar las especies virulentas y avirulentas de Shigella por su capacidad de penetrar las células epiteliales. Esta propiedad regulada por mecanismos genéticos, la cual puede ser transmitida en diversas especies de Escherichia coli y Shigella flexneri por conjugación. (18)

3) Fijación y penetración en tejidos submucosos: El género Salmonella es capaz de fijarse a las células de la mucosa y también penetrarlas y pasar entre las células epiteliales hasta la lámina propia. Los polimorfonucleares y macrófagos son movilizados a esa zona e ingieren los microorganismos, pero pueden ser incapaces de erradicarlos, ya que algunas Salmonellas tienen la capacidad de multiplicarse dentro de los macrófagos, y de esta manera ser llevadas a otras partes del cuerpo. La capacidad peculiar de Salmonella de sobrevivir la residencia intracelular, incluso, en presencia de antibacterianos eficaces, parece resultar en persistencia microbiana. En cultivos de tejidos puede ser demostrado que Salmonella sigue siendo viable dentro de las células durante mucho tiempo. El antibiótico penetra en la célula pero simplemente retarda la multiplicación de la bacteria, y hace que permanezca en fase estacionaria, y al interrumpir la administración del antibiótico, la bacteria de nuevo es capaz de multiplicación en circunstancias corrientes.

Este fenómeno de "persistencia microbiana" probablemente explique el estado de portador que suele persistir por períodos variables, muy difíciles de precisar con exactitud, después de una gastroenteritis por Salmonella. De interés para el problema inmunológico que se presenta, es el hecho que los neonatos con infecciones por Salmonella tienen muchísima posibilidad de seguir siendo portadores por mucho tiempo, que los individuos de mayor edad. (18)

Técnica de Fijación de las heces de los pacientes estudiados en esta investigación, con alcohol polivinílico:

La técnica de fijación con PVA facilita la preservación de los quistes y formas móviles de los protozoos intestinales. Esta es una gran ayuda para el practicante acucioso que no tiene un laboratorio confiable a su disposición para hacer un diagnóstico parasitológico. Una cantidad de muestra fecal es introducida y mezclada con 3 veces o más de PVA. Unas cuantas gotas de esta mezcla pueden ser removidas a cualquier tiempo. Incluso meses después, para la preparación de un frote diagnóstico. A esa lámina debe permitírsele secar completamente (preferiblemente durante toda la noche a 37 grados centígrados) antes de colorearla. El fijador PVA puede también ser mezclado directamente con un espécimen fecal sobre la lámina. (La relación de 1:3 de la muestra con el fijativo debe de mantenerse y un frote delgado es hecho). Los frotos de PVA pueden ser teñidos por cualquiera de los procedimientos usuales. De todas maneras, prioritariamente a los teñidos de rutina, películas secas son primeramente colocadas en alcohol etílico al 70% conyodo durante 10 a 20 minutos, de manera de remover los cristales de cloruro de mercurio.

Preparación del fijador PVA:

Reactivos:

1.- ácido acético glacial	5.00 ml
2.- glicerol	1.50 ml
3.- solución de Schaudin	93.50 ml

(2 partes de solución acuosa saturada de cloruro de mercurio, y una parte de alcohol etílico al 95%).

4.- polvo de alcohol polivinílico	5.0 grs.
-----------------------------------	----------

La solución modificada de Schaudin es calentada a 75 grados centígrados y el PVA es agregado mientras se agita.

Procedimiento: Una cantidad del espécimen es introducida dentro del receptáculo conteniendo fijativo PVA. La proporción 1:3 de la muestra con el fijador se mantiene como ya se dijo. Las heces pueden entonces ser preservadas por meses antes de ser teñidas.

Coloración tricrómica de las heces (Gomori y Weathley)

empleada en la presente investigación para la identificación de los protozoarios *Giardia lamblia* y *E. histolytica*: Esta coloración puede ser usada para heces fijadas previamente con PVA o heces en fresco fijadas con la solución de Schaudin. Con este método, una coloración rápida puede ser hecha para la identificación de múltiples protozoos intestinales. Demuestra aceptablemente los detalles citoplásmicos y nucleares de los mismos.

Técnica:

- 1.- Coloque el frote fijado en solución de Schaudin en alcohol yodado un minuto.
- 2.- En alcohol al 70% un minuto.
- 3.- En alcohol al 70% un minuto.
- 4.- En coloración Gomori de ocho a quince minutos (cromátropo-2R-----0.6 grs,-----verde claro SF-----0.3 grs, ácido fosfotúngstico-----0.7 grs, ácido acético-----1.0 ml, y agua destilada-----100 mls).
- 5.- En alcohol al 90% con 1% de ácido acético de 10 a 15 segundos.
- 6.- En alcohol al 100% se enjuaga dos veces.
- 7.- En alcohol al 100% absolutamente puro treinta segundos.
- 8.- En xilol un minuto.
- 9.- En bálsamo hasta que se seque.

Visión directa de trofozoitos

de Entamoeba histolytica: Los trofozoitos de la ameba en muestras de heces en fresco, muestran motilidad activa por medio de pseudópodos, extensiones largas digitiformes del ectoplasma, entre el cual el endoplasma flota. Un pseudópodo puede ser formado en cualquier parte de la superficie del organismo, y puede ser retraído rápidamente cuando factores ambientales dictan un cambio en la dirección del movimiento, o un período temporal de inactividad. El movimiento puede parecer direccional y con un propósito definido, pero en otros momentos aparece errático. Puede ser continuo o intermitente, y la velocidad de locomoción varía con la temperatura y otras condiciones que afectan la orientación de la ameba; sin embargo el movimiento nunca es mantenido por largo tiempo en línea recta. La motilidad mostrada por los trofozoitos es mejor descrita como "deslizamiento".

Las preparaciones de heces en fresco no coloreadas, el cloro ectoplasma hialino que forma la capa externa del cuerpo de la ameba, es fácilmente distinguible del endoplasma que es más granular. En preparaciones bien teñidas es posible distinguir el ectoplasma del endoplasma que es finamente granular. Cuando los eritrocitos son reconocidos dentro del citoplasma, es una guía confiable para asegurar la identificación del trofozoito como *Entamoeba histolytica*. En láminas las células rojas ingeridas se tiñen de azul negro-oscuro y son vistas de diferentes tamaños, o intensidad de coloración, dependiendo del grado en que hayan sido afectadas por el proceso digestivo.

Eritrocitos recientemente ingeridos, aparecen de un rosado encendido, o rojos, pero rápidamente oscurecen y decoloran conforme la digestión prosigue. Las bacterias no son normalmente ingeridas por el trofozoito de esta especie.

En trofozoitos coloreados el núcleo es visible, el único núcleo esferoidal posee un puntiforme y compacto cariosoma, el cual es típicamente "central" en posición. La superficie inter-

na de la distintiva y delicada membrana nuclear está bordeada por una acumulación de gránulos de cromatina, bien distribuidos. A veces es posible ver fibras delicadas y ligeramente teñidas entre el cariosoma y la cromatina de la membrana nuclear.

Visión directa de quistes de E. histolytica: La cromatina nuclear es oscura o verde azulada oscura, apareciendo muy a menudo de color negro. Los quistes jóvenes contienen un solo y largo núcleo el cual frecuentemente presenta abundantes y toscos gránulos de cromatina bordeando la membrana nuclear, y cromatina del cariosoma dispersa. A medida que ocurre la división nuclear, quistes binucleados así como trinucleados y cuadrinucleados maduros son producidos, el tamaño del núcleo disminuye progresivamente a medida que el número de núcleos es aumentado.

Un núcleo mostrando evidencia de actividad cariocinética, es caracterizado por su largo tamaño, cromatina del cariosoma dispersa, y gruesos depósitos de cromatina bordeando la membrana nuclear.

Cuando 4 núcleos están presentes, surge un problema en el diagnóstico diferencial entre *E. histolytica* y *Entamoeba coli*. Si el quiste es pequeño y con 4 núcleos, pequeños y esféricos, de igual tamaño, es casi seguro que se trata de un quiste maduro cuadrinucleado de *E. histolytica*. Si 4 núcleos de tamaño desigual están presentes, o si uno de los núcleos evidencia actividad cariocinética, es razonable asumir que la división nuclear es todavía incompleta, y el quiste es inmaduro. Mientras se completa la mitosis el quiste contendrá probablemente 8 núcleos, y es seguro que es quiste de *E. coli*.

El citoplasma es compuesto por muy finos gránulos, los cuales están distribuidos irregularmente, y el resultado es una apariencia alveolar, esponjosa y a menudo vacuolada, la cual es característica y de valor en el diagnóstico diferencial.

Una larga vacuola conteniendo glicógeno puede ocupar la mayor parte del cuerpo del quiste, joven, apareciendo como un espacio claro. Rodeando la vacuola, gran cantidad de pequeños cuerpos cromatoidales están a menudo dispuestos en la periferia del quiste. Los quistes inmaduros son a menudo uninucleados o binucleados, y regularmente poseen un largo núcleo mostrando evidencia de actividad cariocinética.

Los cromatoidales presentes, y su capacidad de teñirse, tiende a disminuir a medida que los quistes maduran y muy a menudo no son encontrados. Son de forma redonda o elongados, y tienen puntas redondas o imprecisas; pueden ser cortas y gruesas, delgadas y curvas, u ovals o esféricas, o extremadamente irregulares en forma, pero no con puntas aciculadas como *Entamoeba coli*.

Visión directa de quistes y trofozoitos de *Giardia lamblia*: Los trofozoitos muestran una rápida, y errática movilidad progresiva que es distintiva, y solo cuando hay enfriamiento u otros factores del medio ambiente adversos, deja de producirse este fenómeno. El trofozoito es simétrico bilateralmente, posee dos núcleos, cada uno situado en cada lado de la línea media en el tercio anterior del organismo. El más o menos largo núcleo ovoidal, posee una delicada membrana nuclear la cual no posee cromatina periférica, el cariosoma nuclear puede ser denso y compacto, o bien puede consistir en una masa bien dispersa de gránulos pequeños cromatínicos; usualmente se encuentra en posición central. Los 4 pares de flagelos se tiñen poco, y usualmente permanecen invisibles. Los dos núcleos están localizados en el área del disco succionario ventral, el cual ocupa la mayor parte de la mitad anterior del organismo. Inmediatamente posterior a este disco tendidos transversalmente a través de la línea media están los cuerpos medianos, ellos aparecen como barras curvas. Las porciones intracitoplásmicas de los flagelos llamados axonemas pueden ser distinguidos por separado.

Los quistes son regularmente objetos ovoidales fácilmente -

reconocidos por su forma altamente característica. Sus paredes celulares son muy refráctiles. El citoplasma es fino y granular, el núcleo y estructuras flagelares se encuentran dentro del citoplasma. Los dos núcleos están presentes en los quistes recientemente formados, y cuatro núcleos son encontrados en los quistes maduros. Los cariosomas nucleares compactos pueden ser de posición central o excéntrica. La delicada y usualmente invisible membrana nuclear no está dotada de cromatina periférica. Los cuerpos medianos prominentes son claramente vistos como lo son las extensiones intracitoplásmicas de los flagelos. Los axonemas están dispersos en cuatro pares de grupos. Debido al encogimiento del citoplasma a la hora de la fijación, el fino citoplasma es a menudo separado de la pared del quiste. (20)

FOTO # 1

- a.- Presencia de varios fragmentos de células rojas ingeridas en el citoplasma de un trofozoíto de *E. histolytica*. La membrana nuclear se observa bordeada por material cromatínico abundante y pesado en su superficie interna, inusualmente pesado para los trofozoítos de esta especie.
- b.- Trofozoíto de *E. histolytica*. De nuevo se observa el material cromatínico bordeando la superficie interna de la membrana nuclear, el cual también es inusualmente pesado para estas especies. No se observan eritrocitos ingeridos.
- c.- Este largo trofozoíto de *E. histolytica* ha ingerido más de una docena de células rojas. El apenas teñido núcleo está un poco deformado, pero puede ser reconocido en la porción inferior del trofozoíto.
- d.- Trofozoíto de *E. histolytica*. Varios eritrocitos ingeridos están presentes en el citoplasma. Nótese que el cariosoma nuclear es apenas excéntrico en posición.
- e.- Trofozoíto de *E. Histolytica*. La estructura nuclear vista en esta microfotografía es totalmente típica de los trofozoítos de esta especie. Un solitario eritrocito ingerido está presente en el citoplasma.
- f.- Trofozoíto de *E. histolytica*. De nuevo el cariosoma nuclear es visto en una posición excéntrica. El trofozoíto en su morfología es característico de esta especie.
- g.- Trofozoíto de *E. histolytica*. Nótese el muy típico y perfecto núcleo de la Entamoeba (abajo a la derecha).
- h.- El mismo trofozoíto de la foto anterior es visto en un plano típico más bajo. El pseudópodo y los fragmentos de células rojas ingeridas son mejor demostradas; pero el núcleo no es visible en este plano. (Ver fotos).

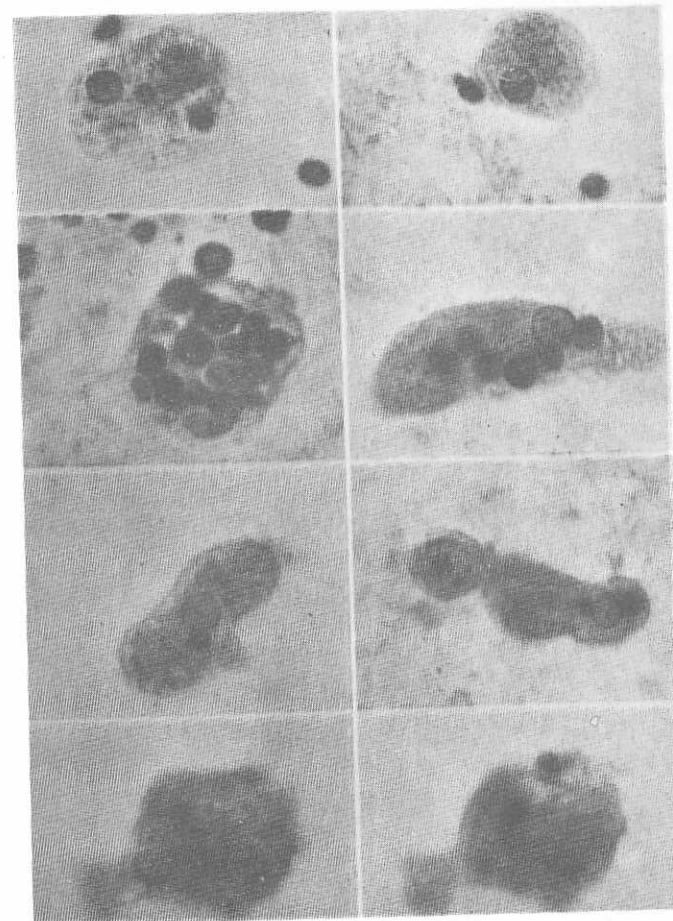


FOTO No. 1. (Leáse explicación al reverso, de derecha a izquierda y de arriba hacia abajo.)

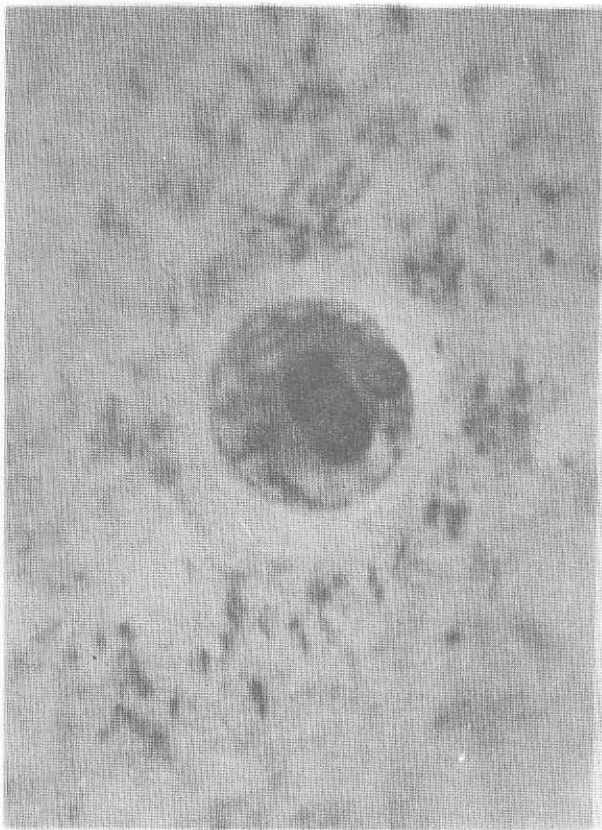


FOTO No. 2. Quiste de *Entamoeba histolytica*. La larga barra cromatoidal con lisos y redondos bordes, es el tipo más menudo encontrado en los quistes de éstas especies. El único núcleo es visto en la parte más alta del margen superior del quiste.

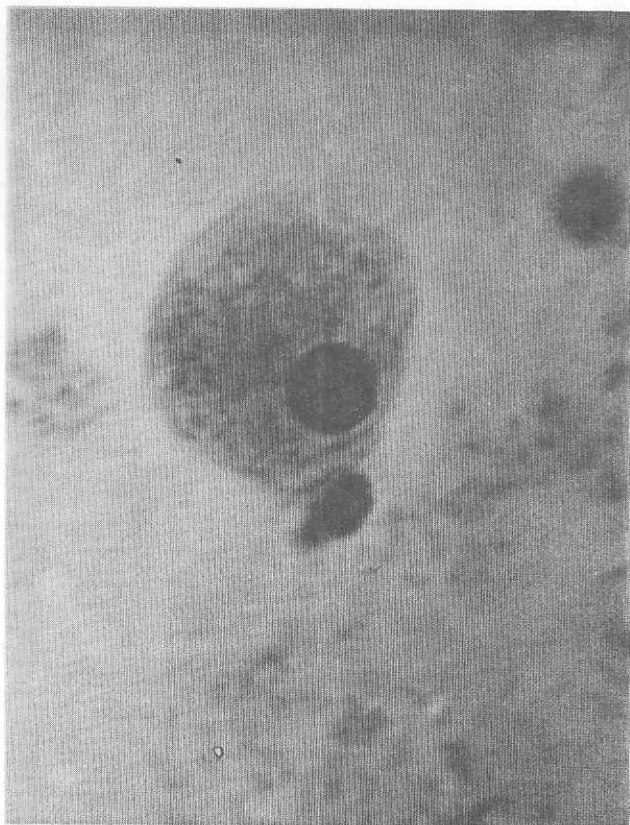


FOTO No. 3 Trofozoito de *Entamoeba histolytica*. Nótese el material cromatínico nuclear bordeando la superficie interna de la membrana, el cual es más pesado y denso que el que usualmente se encuentra en estas especies. No se observan eritrocitos ingeridos.

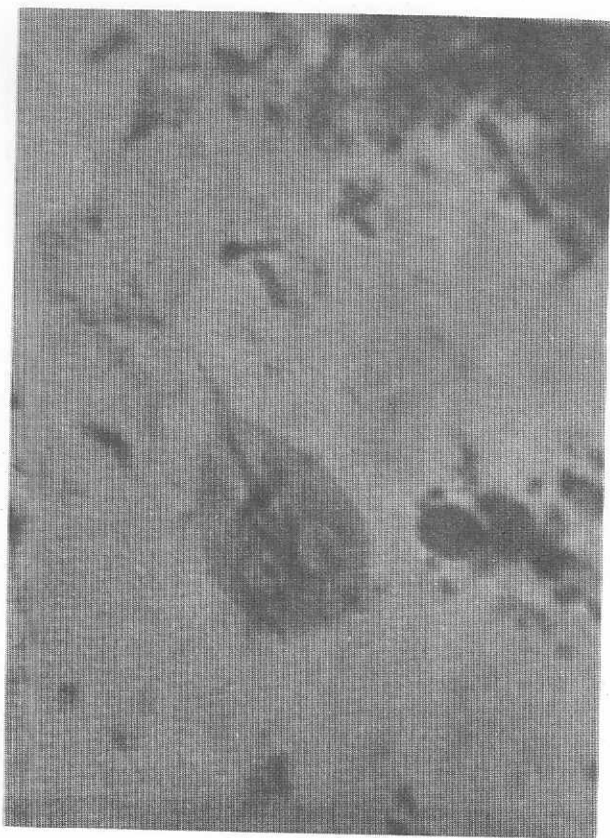


FOTO No. 4. Trofozoíto de Giardia lamblia, Simétrico bilateral. Se observan sus 2 núcleos. No se observan los 4 pares de flagelos.

Técnica del coprocultivo

Medios originales de siembra utilizados:

1.- **SS agar:** Este medio de cultivo contiene extracto de carne, proteosa y peptona, lactosa, sales biliares, citrato sódico, tiosulfato sódico, citrato férrico, agar verde brillante y rojo neutro como indicador de pH. Es un medio muy selectivo que se recomienda para el aislamiento de *Shigella* y *Salmonella* en excrementos y otros materiales que se sospeche contienen estos organismos. Con este medio se obtiene una excelente diferenciación entre los organismos coliformes que fermentan la lactosa de aquellos que NO la fermentan, y para dar una máxima inhibición de éstos sin restringir el desarrollo de bacilos patógenos gramnegativos presentes en las muestras.

El SS agar proporciona excelente desarrollo de pequeños inóculos de los diferentes tipos de *Shigella* y *Salmonella* según se encuentran presentes en muestras de excremento fresco. Los organismos coliformes se suelen inhibir por completo aún cuando se utilicen grandes inóculos.

La *Shigella* y *Salmonella* así como otros microorganismos que NO FERMENTAN LA LACTOSA forman colonias opacas o translúcidas incoloras que generalmente son lisas. Los pocos organismos que fermentan la lactosa que pueden desarrollarse en el medio, se diferencian fácilmente debido a su formación de color rojo en la colonia. A veces, colonias coliformes aisladas pueden no presentar un color rojo definido, siendo de color rosa o casi incoloras con centro color rosa. Ocasionalmente, un tipo aerógeno desarrolla una colonia característica grande de color blanco o crema, opaca y mucosa. Algunos tipos de *Proteus* y *Salmonella* pueden producir bajo ciertas condiciones colonias con centro negro.

La destacada selectividad del agar para *Shigella* y *Salmonella* permite el empleo de grandes inóculos, los cuales deben ser

distribuidos de manera uniforme sobre toda la superficie del medio. Las placas se incuban a 36 grados centígrados durante 24 horas, en cuyo momento se recogen de la placa 3 colonias.

2.- Agar con tergitol 7: Este medio de cultivo contiene proteosa y peptona, extracto de levadura, lactosa, agar, tergitol 7, azul de bromo timol. Es un medio selectivo para miembros del grupo coliforme, e inhibe el desarrollo de organismos grampositivos, y gramnegativos formadores de esporas. En este medio la *Escherichia* produce colonias amarillas rodeadas por zonas también amarillas; los microorganismos que NO fermentan la lactosa producen colonias que suelen estar rodeadas por zonas azules. El agar con tergitol 7 se inocula con la muestra por medio de frotis sobre la superficie.

3.- Caldo de enriquecimiento con Selenito: Este medio de enriquecimiento contiene triptona, lactosa, fosfato disódico, y selenito sódico. Se recomienda como un medio de enriquecimiento en el aislamiento de los miembros del género *Salmonella* del excremento, orina y tejidos infectados. Se ha demostrado que el número de cultivos positivos en diferentes laboratorios para *Shigella* y *Salmonella* en placas de agar, ha aumentado si previamente son los microorganismos colocados en caldo de enriquecimiento con selenito. Para el examen de muestras fecales, el caldo con selenito se inocula colocando de 1 a 2 ml de una suspensión fecal a tubos con 10 a 15 ml del medio. Después de mezclar bien los tubos, se incuban a 37 grados centígrados por un período de 18 a 24 horas.

En resumen puede decirse, que con estos 3 medios originales de siembra, bastó para obtener una cantidad de cultivos positivos para *Shigella* y *Salmonella* muy significativa. A cada paciente seleccionado se le introduce un hisopo estéril en el recto aproximadamente 3 cms, luego con el hisopo cargado con material fecal, se esparce sobre el tercio anterior de la placa de tergitol 7 de lado a lado, luego se le da vuelta al hisopo, y se

esparce el tercio anterior de la placa de SS agar, y el resto del material fecal que contiene el hisopo se introduce en el caldo con selenito. Luego con un hisopo estéril nuevo, se disemina el primer frote efectuado en la placa con tergitol 7, cubriendo toda la placa de derecha a izquierda a partir del último trazo del frote anterior, y lo mismo se hace con el SS agar. No es necesario incubarlo inmediatamente si no es posible, puede pasar un tiempo prudencial de unas 4 horas a temperatura ambiente. Luego se incuban los 3 medios a 36 ó 37 grados centígrados por espacio de 18 a 24 horas. Se seleccionan las colonias LACTOSA NEGATIVAS de SS agar y tergitol 7 para ser pasadas a medios diferenciales de tubo (ver abajo). La muestra enriquecida con selenito, se resiembra en SS agar por la técnica descrita, y se incuba, siguiendo luego el mismo procedimiento de SS agar y tergitol 7.

Medios diferenciales de tubo: Los medios diferenciales de tubo proporcionan al bacteriólogo un medio sencillo y efectivo de cultivo para identificar cultivos puros de bacterias recogidas en placas sembradas originalmente. Tanto medios sólidos como líquidos han sido elaborados para estos fines. Muchos de los medios sólidos diferenciales para tubos, contienen uno o más hidratos de carbono fermentables y un indicador adecuado para la determinación de la producción de ácidos o alcalinos. A continuación se presenta una lista de los medios diferenciales de tubo más usualmente utilizados en el laboratorio, para la identificación de los géneros *Shigella* y *Salmonella* con sus reacciones particulares. (21)

Reacciones típicas de los microorganismos estudiados en medios diferenciales para tubo.

ORGANISMO	xilosa	dextrosa	maltosa	sacarosa	lactosa	sa	sa	tol	salina	movilidad	H ₂ S
Shig.dysen.	NC	Y	NC	NC	NC	NC	NC	NC	NC	-	-
Shig.sonnei.	NC	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	NC	+	-
Shig.flex.	Y	Y	NC	NC	lento	NC	NC	Y	NC	+	-
Salm. enter.	YG	YG	YG	NC	NC	NC	-	YG	NC	-	+
ORGANISMO	urea	citrato	plano	inclinado	H ₂ S	plano	inclinado	H ₂ S	plano	inclinado	H ₂ S
Shig.dysem.	-	-	Y	NC	-	Y	NC	-	Y	NC	-
Shig.sonnei.	-	-	Y	NC	-	Y	NC	-	Y	NC	-
Shig.flex.	-	-	Y	NC	-	Y	NC	-	Y	NC	-
Salm. enter.	-	+	YG	NC	+	NC	NC	+	NC	NC	+

NC: sin cambio o reacción alcalina

Y: amarillo--formación de ácido

YG: Formación ácido y gas

+: positivo para una reacción dada

- : negativo

± : variable

(21)

- 28 -

- 29 -

Técnica de antibiograma utilizada en la presente investigación: -
Básicamente, lo que se pretende al ordenar un examen de este tipo a un paciente, es conocer entre el gran arsenal de medicamentos - antibióticos con que el médico cuenta actualmente, y cuál es el - que logra una mayor inhibición del crecimiento bacteriano a una - dosis inhibitoria mínima. No necesariamente indica que el anti- - biótico escogido sea el mejor para el paciente, pero sí orienta de una manera razonable la terapéutica.

La técnica puede ser resumida como sigue:

- 1.- Se prepara el Bacto-Mueller-Hinton, o se funde el medio pre-
parado previamente y se enfría a 45 grados centígrados.
- 2.- El medio Bacto-Mueller-Hinton, sin sangre, permite un buen -
crecimiento de los microorganismos aeróbicos de crecimiento -
rápido que se encuentran usualmente.
- 3.- Se vierte el medio fundido dentro de placas de Petri estériles -
de 100 mm, o de 150 mm, con una profundidad de 4 mm, y se -
deja endurecer.
- 4.- La humedad sobre la superficie del medio debe de ser evitada,
y puede ser completamente eliminada si al verter el medio den-
tro de las placas, la temperatura del mismo no sobrepasa los -
50 grados centígrados. Para eliminar las gotas de humedad -
que estén presentes, se incuban las placas a 37 grados centí-
grados durante 30 minutos. El pH del medio será de 7.3 a 25-
grados centígrados.
- 5.- Las placas pueden ser usadas inmediatamente o conservadas en
refrigeración. Se incuban varias placas de cada lote a 37 gra-
dos centígrados. Si el medio en las placas incubadas permane-
ce estéril, se descartan las incubadas y pueden ser usadas las -
refrigeradas, dejando previamente que el medio regrese a la -
temperatura ambiente.

Preparación del inóculo:

- 1.- Se transfieren 4 ó 5 colonias similares del medio que se quiere investigar (medio de aislamiento primario) dentro de 5 ml de Bacto Tryptic Soy Broth (caldo de enriquecimiento que contiene triptona, peptona de soja, dextrosa cloruro sódico y fosfato dipotásico), tocando la superficie de las colonias con un asa previamente flameada y enfriada.
- 2.- Si la turbidez de la suspensión del caldo de enriquecimiento reúne las condiciones necesarias, no necesita más incubación, esto quiere decir que la cantidad del inóculo es correcta. Si la suspensión no es aún similar al estándar de turbidez ya establecido, se incuba a 37 grados centígrados durante 6 horas.
- 3.- Para lograr el standard de turbidez, se diluye la totalidad o una porción del cultivo con una solución salina estéril, para obtener una turbidez equivalente a la obtenida con el agregado de 0.5 ml de una solución de cloruro de Bario hidratado al 1.175% a 99.5 ml de ácido sulfúrico .36 N al 1%. También puede usarse el método fotométrico para normalizar la turbidez. No deben utilizarse caldos de cultivo sin diluirse.

Inoculación de las placas:

- 1.- Se introduce un aplicador con algodón estéril en su extremo dentro del cultivo previamente diluido, y se exprime el exceso de líquido rotando el algodón firmemente contra la pared del tubo.
- 2.- Se siembra la superficie entera del agar por estrías, en 3 diferentes direcciones, rotando la placa un ángulo de 60 grados después de sembrar en una dirección.

- 3.- Se cierra la placa y se deja el inóculo se seque durante 5 minutos por lo menos, pero no más allá de 30 minutos.
- 4.- Se aplican los discos sobre la superficie del agar, utilizando el distribuidor, o manualmente usando cada magazine de discos. Se presionan nuevamente los discos contra la superficie del medio, empleando pinzas estériles, previamente flameadas y enfriadas, en cada disco. Los discos son aplicados de forma que exista una distancia no menor de 10 a 15 mm entre ellos y el borde de la placa, y con suficiente separación entre ellos para evitar la superposición de halos o zonas de inhibición.
- 5.- Durante los 30 minutos después de aplicar los discos, se incuban las placas a 37 grados centígrados durante la noche.

Lectura de las zonas de inhibición:

- 1.- Una placa inoculada en forma correcta mostrará un crecimiento abundante, pero no totalmente confluyente. Algunos cultivos se desarrollarán con abundancia en 6 a 8 horas de incubación, permitiendo una lectura preliminar de las zonas de inhibición en ese tiempo. Estas lecturas deben de ser confirmadas con una nueva lectura al día siguiente.
- 2.- Se mide el diámetro de la zona de inhibición lo más exactamente posible al milímetro, a simple vista, por la cara inferior de la placa.

La sensibilidad se interpreta como sigue para los antibióticos que fueron probados en esta investigación:

NOMBRE	concentración del disco	resistente	intermedio	sensible
Ampicilina	10 mcg	11 ó menos	12 a 13	14 ó más
Cloranfenicol	30 mcg	12 ó menos	13 a 17	18 ó más
Tetraciclina	30 mcg	14 ó menos	15 a 18	19 ó más
Acido Nali- dixico	30 mcg	13 ó menos	14 a 18	19 ó más
Trimetoprim- Sulfametoxazol	1.25/23.75 mcg	10 ó menos	11 a 15	16 ó más

(22)

MATERIAL Y METODOS

Los datos para el presente estudio, se obtuvieron en la clínica familiar de la colonia Carolingia, donde se investigaron cien pacientes que llenaron los siguientes requisitos:

- 1.- edad comprendida entre cero a doce años.
- 2.- pertenecer a la colonia Carolingia.
- 3.- venir presentando deposiciones diarreicas por no más de siete días a partir de la fecha de consulta, entendiéndose como - - diarreas:
 - 3.1.- niños menores de dos años, cuando presentan seis o más evacuaciones blandas o líquidas en 24 horas; o bien, una sola evacuación con moco y sangre.
 - 3.2.- niños mayores de dos años, cuando presentan cuatro o - más evacuaciones blandas o líquidas en 24 horas, o bien una sola evacuación con moco y sangre.
- 4.- No haber empleado ningún medicamento en los 7 días anteriores a la fecha de consulta.

De los pacientes que llenaron los requisitos anteriormente descritos, se obtuvieron los siguientes datos:

- 1.- edad y sexo
- 2.- número de deposiciones en 24 horas.
- 3.- volumen de las evacuaciones, considerando evacuaciones pequeñas cuando presentan menos de 50 cc por deposición, medianas cuando presentan de 50 a 75 cc por deposición, y grandes cuando presentan más de 75 cc por deposición de heces fecales.
- 4.- consistencia de las heces (líquidas, semilíquidas).
- 5.- color de las heces.

- 6.- olor de las heces (fétido, poco fétido, no fétido).
- 7.- presencia de dolor abdominal.
- 8.- presencia de moco y/o sangre
- 9.- presencia de fiebre
- 10.- presencia de pujo y tenesmo
- 11.- presencia de IRS asociada
- 12.- presencia de vómitos
- 13.- presencia de algún grado de desnutrición (considerando - - aceptable, o normal presencia de déficit de peso--edad según la tabla de Gomez de hasta un 10%).
- 14.- presencia de diarrea en algún otro miembro del núcleo familiar.

Luego de haber anotado todos los datos requeridos a cada paciente, se le tomó a cada uno muestra para coprocultivo (ver técnica), y se le pidió muestra de heces para fijarla en PVA. Las muestras fueron procesadas una por una en el laboratorio multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas.

PRESENTACION DE RESULTADOS

CUADRO # 1.

Incidencia de casos de diarrea infecciosa en la comunidad estudiada.

	# de casos	%
DIARREA INFECCIOSA	39	39
RESTO DE CAUSAS	61	61
Total:	100	100

CUADRO # 2.

Agentes encontrados en los casos de diarrea infecciosa.

	# de casos	%
Shigella	27	69.23
Salmonella	6	15.38
Giardia l.	6	15.38
E. histolytica	0	0.0
Total:	39	100.00

CUADRO # 3

Especie de Shigellas aisladas

	# de casos	%
Shigella flexneri	20	74.07
Shigella sonnei	6	22.22
Shigella dysenteriae	1	3.70
Total:	27	100.00

CUADRO # 4

Especie de Salmonelas aisladas.

	# de casos	%
Salmonella enteritidis	6	100.00
Total:	6	100.00

CUADRO # 5

Distribución de casos de diarrea infecciosa, según SEX O.

	# de casos	%
Masculino	22	56.41
Femenino	17	43.59
Total:	39	100.00

CUADRO # 6

Distribución de casos de diarrea infecciosa, según EDAD.

	# de casos	%
0 a 11 meses	7	17.95
11 meses a 3 años	25	64.10
3 años a 5 años	3	7.70
Mayores de 5 años	4	10.25
Total:	39	100.00

CUADRO # 7.

Signos y síntomas por Shigellosis.

	Fiebre	# depos. en 24 hrs.	pujo y tenesmo	moco
Shigella flexneri	37.9 / - .16	6.7 / - .7	30%	80%
Shigella sonnei	37.5 / - .5	4.5 / - .88	16.66%	83.3%
Shigella dysent.	37.4	15	100.00%	100.00%

CUADRO # 8.

Signos y síntomas por Shigellosis.

	sangre	leve	severidad moderado	severo	fétido	olor no fétido
Shigella flexneri	35%	35%	30%	35%	70%	30%
Shigella sonnei	16.6%	16.6%	33.3%	50%	66.6%	33.3%
Shigella dysent.	100.00%	--	100.00%	--	--	100.00%

CUADRO # 9.

Signos y síntomas por Shigellosis.

	consistencia líquida	color semilíquido	amarillo-verde	otros	dolor abdominal
Shigella flexneri	95%	5%	50%	50%	40%
Shigella sonnei	83%	17%	33.3%	66.6%	16.6%
Shigella dysent.	---	100.0%	100.0%	---	100.00%

CUADRO # 10.

Signos y síntomas por Shigellosis.

	vómitos	IRS asociada	Déficit peso - edad mayor 10%	diarrea en la familia.
Shig.flex.	25%	20%	45%	15%
Shig.sonnei	0%	16.6%	50%	16.6%
Shig.dysent.	0%	0.0%	0.0%	0.0%

(fuente de información, Investigación)

CUADRO # 11

Signos y síntomas por Salmonelosis.

	fiebre	# depos. en 24 hrs.	pujo y tenesmo	moco	sangre
Salm.enter.	37.8 / 0.58	5.5 / 2.28	0%	100%	33.3%

CUADRO # 12.

Signos y síntomas por Salmonelosis.

	leve	severidad moderado	severo	olor fétido	olor no fétido	dolor abdominal
Salm.enter.	0%	83.3%	16.6%	50%	50%	33.3%

CUADRO # 13.

Signos y síntomas por Salmonelosis.

	consistencia		color		vómitos	IRS asoc.
	liq.	semiliq.	ama-verd.	otros		
Salm.enter.	83.3%	16.6%	50%	50%	16.6%	0%

CUADRO # 14.

Signos y síntomas por Salmonelosis.

	déficit peso- edad mayor 10%	diarrea en la familia
Salm.enter.	33.3%	0%

CUADRO # 15.

Signos y síntomas por Giardiasis.

# depos. 24 hrs.	fiebre	vómitos	IRS asoc.	déficit peso - edad mayor 10%
4.5 / - .88	0%	16.6%	0%	50%

CUADRO # 16.

Signos y síntomas por Giardiasis.

severidad		consistencia		olor	
leve	moderado	severo	liq. semiliq.	fétido	no fétido
16.6%	66.6%	16.6%	66.6%	33.3%	83.3%

CUADRO # 17.

Signos y síntomas por Giardiasis.

ama-café rillo	café-ver- doso	otros	distensión abdominal	cuadros similares con anterioridad
66.6%	16.6%	16.8%	83.3%	83.3%

CUADRO # 18.

Sensibilidad a antibióticos según Género y Especie

	cloran- fenicol	ampici- lina	Ac.nali- dixico	sulfamet. trimetoprim	tetra- ciclina
Shig.flexneri	90%	35%	75%	95%	20%
Shig.sonnei	90%	20%	70%	85%	20%
Shig.dysent.	100%	100%	50%	100%	0%
Salm.enterit.	100%	66%	83%	83%	0%

INTERPRETACION DE RESULTADOS

Cuadro # 1.

En el 39% de los pacientes estudiados, se identificaron patógenos como condicionantes o coadyuvantes para que se produjera diarrea.

Cuadro # 2.

Del total de casos positivos, el género *Shigella* es el que presenta el mayor número con 27, el género *Salmonella* 6 casos, y el protozooario *Giardia lamblia* 6 casos.

Cuadro # 3.

Del total de casos del género *Shigella* aislados, a la especie *flexneri* le corresponde el mayor número con 20, luego *sonnei* con 6 casos, y por último la especie *dysenteriae* tipo II con 1 caso.

Cuadro # 4.

Del total de casos de *Salmonellosis* aislados, a la especie *enteritidis* le corresponde el 100% de los mismos.

Cuadro # 5.

El sexo masculino presenta un ligero predominio sobre el sexo femenino al corresponderle 22 casos, o sea un 56.41%.

Cuadro # 6.

El grupo etario más afectado es el comprendido entre 11 meses y 3 años.

Cuadro # 7.

La fiebre en las especies de *Shigella* aisladas, oscila entre 37.4° y 37.9 grados centígrados. El número de deposiciones en 24 horas oscila entre 4.5 a 15. El pujo y tenesmo se presentó en el 30% de los casos por *S. flexneri*, en el 16.6% de los casos por *S. sonnei*, y en el caso por *S. dysenteriae*. El moco estuvo presente en las heces en más del 80% de los casos.

Cuadro # 8.

La presencia de sangre en las heces varía con cada especie de *Shigella* aislada; se presentó en el 35% de los casos por *S. flexneri*, en el 16.6% de los casos por *S. sonnei*, y estuvo en el caso por *S. dysenteriae*. La severidad de las deposiciones también varía con la especie aislada; en los casos por *S. flexneri* se dieron todos los grados con aproximadamente un tercio para cada situación. La mitad de los casos por *S. sonnei* presentaron un grado severo en las deposiciones, y el caso por *S. dysenteriae* presentó un grado moderado de severidad. Respecto al olor de las heces, predomina la fetidez en los casos por *S. flexneri* y *S. sonnei*. En el caso por *S. dysenteriae* no hubo fetidez.

Cuadro # 9.

Predominan las heces líquidas en más del 80% de los casos por *S. flexneri* y *S. sonnei*. En el caso por *S. dysenteriae* eran semilíquidas. El color amarillo-verdoso de las heces se presentó en más del 50% de los casos. El dolor abdominal estuvo presente en el 40% de los casos por *S. flexneri*, en el 16.6% de los casos por *S. sonnei*, y se presentó en el caso por *S. dysenteriae*.

Cuadro # 10.

Los vómitos se presentaron únicamente en los casos producidos por *S. flexneri* a razón de un 25%. La IRS se asoció en el

20% de los casos por *S. flexneri* y en 16.6% de los casos por *S. sonnei*. Al momento de la consulta, en el 45% de los pacientes en quienes se aisló *S. flexneri* se encontró un déficit de peso mayor del 10%; y en el 50% de los casos en quienes se aisló *S. sonnei*. Un 15% de los pacientes refirió que hay síndrome diarreico en algún miembro de su familia al momento del examen.

Cuadro # 11.

En los casos de *Salmonelosis*, la fiebre se encuentra con una media de 37.8 grados centígrados. El número de deposiciones en 24 horas también presenta una media de 5.5. El pujo-tenesmo no se encontró en ningún caso. El moco se encuentra en las heces en todos los casos, y sangre en heces en un tercio de los pacientes.

Cuadro # 12.

De los 6 casos aislados de *S. enteritidis*, en 5 el grado de severidad de las deposiciones fue moderado. El olor fétido de las heces se encuentra en la mitad de los casos y el dolor abdominal lo refiere un tercio de los pacientes.

Cuadro # 13.

De los 6 casos aislados de *S. enteritidis*, 5 presentaban heces de consistencia líquida, y la mitad de los casos presentaban heces color amarillo-verdoso. Los vómitos se encontraron solo en el 16.6% de los casos y la IRS no se asoció o acompañó a algún caso.

Cuadro # 14.

Al momento de la consulta, de los 6 casos de *S. enteritidis* aislados, 2 presentaban un déficit de peso--edad mayor del 10%, y en ninguno de los casos fue referida la presencia de síndrome

diarreico en otros miembros de la familia.

Cuadro # 15.

La media del número de deposiciones en 24 horas en los pacientes en quienes se identificó *Giardia lamblia* es de 4.5. La fiebre no formó parte del cuadro clínico. Los vómitos se encontraron en uno de los casos del total de seis. La IRS no acompañó a ninguno de los casos. La mitad de los casos presentaban un grado de déficit de peso-edad mayor del 10%.

Cuadro # 16.

El grado de severidad que predominó en el volumen de las evacuaciones fue moderado, presentándolo 4 casos. Heces líquidas se presentaron con más frecuencia, encontrándose en 4 casos. En 5 de los 6 casos se encontró fetidez de las heces con presencia de restos alimenticios.

Cuadro # 17.

El color de las heces que predomina es el amarillo--café. En 5 de los 6 casos se obtuvo historia o se encontró al examen físico distensión abdominal y flatulencia. También 5 de los 6 casos refirieron tener cuadros similares con anterioridad.

Cuadro # 18.

Con respecto a la susceptibilidad a los antibióticos probados en la investigación según género y especie, puede decirse que más del 90% de las especies de *S. flexneri* son muy sensibles al sulfametoxazole--trimetropin y Cloranfenicol. Moderadamente sensibles al ácido nalidíxico, y resistentes a la tetraciclina y ampicilina.

La especie de *S. sonnei* es muy sensible al cloranfenicol en primer lugar y luego al sulfametoxazole trimetropim. Moderadamente sensible al ácido nalidíxico, y resistentes a la ampicilina y tetraciclina.

La especie de *S. dysenteriae* aislada fue susceptible al cloranfenicol, ampicilina y sulfametoxazole trimetropim, moderadamente sensible al ácido nalidíxico, y resistente a la tetraciclina.

Salmonella enteritidis fue sensible en todos los casos al cloranfenicol, en 5 de 6 casos al ácido nalidíxico y sulfametoxazole--trimetropim, en 4 de 6 casos a la ampicilina y en ningún caso en la tetraciclina.

CONCLUSIONES

- 1.- El porcentaje de casos que presentaban "síndrome--diarreico" y en quienes se logró identificar los patógenos investigados, es alto. (39%)
- 2.- Del total de casos en quienes se logró identificar patógenos, al género *Shigella* le corresponde el mayor número de ellos, y al género *Salmonella* y al protozooario *Giardia lamblia* les corresponde el segundo lugar con el mismo número de casos.
- 3.- La presencia de quistes y/o trofozoitos de *E.histolytica* en las heces de los pacientes investigados, o síntomas compatibles con la enfermedad, no son frecuentes.
- 4.- La especie de *Shigella* que se aísla con más frecuencia es "*flexneri*".
- 5.- La especie de *Salmonella* que se aísla con más frecuencia es "*enteritidis*".
- 6.- En los casos en quienes se identificó patógenos, no hay predominio significativo de ningún sexo.
- 7.- El grupo etario más afectado es el comprendido entre los 11 meses de edad y los 3 años.
- 8.- El cuadro clínico presentado por los casos en los cuales se identificaron bacterias (*Shigella* y *Salmonella*), presenta algunas diferencias significativas que orientan al clínico para diferenciarlo del presentado por el protozooario *Giardia lamblia*.
- 9.- El cuadro clínico presentado por los casos en quienes se aislaron bacterias (*Shigella* y *Salmonella*) es difícil de diferenciar entre sí.

10.- Cloranfenicol y Sulfametoxazole-trimetoprim son los antibióticos que logran los porcentajes más altos de cobertura contra las infecciones por Shigella y Salmonella, que producen diarrea.

11.- Tetraciclina y Ampicilina son los antibióticos que lograron los más bajos porcentajes de cobertura contra las infecciones producidas por Shigella y Salmonella.

DISCUSION

Como puede verse, en el 39% de los pacientes estudiados, se identificaron patógenos como condicionantes o coadyuvantes en la producción de "síndrome--diarreico", cifra nada despreciable y que supera con creces, los límites fijados en la hipótesis. Además si se hubiera estado en la capacidad de reconocer a otros agentes que sabemos producen diarrea infecciosa, principalmente Rotavirus, Escherichia coli toxigénica e invasiva, y Yersinia enterocolitica, el porcentaje se hubiera elevado mucho más, alcanzando cifras alarmantes. A todo esto hay que agregar que no todos los pacientes con diarrea infecciosa buscan ayuda médica, y en muchos casos durante la investigación, se tuvieron que descartar pacientes para el estudio, ya que habían sido tratados por empíricos o por ellos mismos con toda clase de medicamentos incluyendo antibióticos, principalmente tetraciclinas y sulfas.

Es importante hacer notar que no fue frecuente el hallazgo de quistes o trofozoítos de E. histolytica en los pacientes estudiados; durante la investigación no se encontró ningún caso. Tengo la impresión que a nivel de consulta externa se sobrediagnostica amebiasis, ya que se identifican en exámenes de heces en fresco Entamoebas que no son histolytica, y no es sino mediante una adecuada coloración de las heces que se hace un diagnóstico diferencial preciso.

Con respecto al cuadro clínico encontrado en los casos de diarrea bacteriana y por Giardia lamblia, se encontraron algunas diferencias, que en el futuro pueden orientar al clínico que no cuenta con un laboratorio. Los casos de diarrea bacteriana se acompañaron por lo general por temperatura rectal superior a los 37.5 grados centígrados, la deshidratación grado I que cedió con la reposición de electrolitos por vía oral fue presentada por el 50% de los pacientes, y en 3 casos se necesitaron soluciones endovenosas por DHE severo.

No se obtiene historia de una evolución más o menos prolongada, los vómitos se presentan en un bajo porcentaje de los casos, la IRS puede preceder o acompañar el cuadro también en un bajo porcentaje de los casos, y las heces en su mayor parte son de color amarillo-verdoso, con moco, y en un tercio de los casos con sangre. Por el contrario la Giardiasis evoluciona afebril por sí sola, no se acompaña de grados variables de deshidratación, por lo general se obtiene historia de una evolución del proceso más o menos prolongada, no se acompaña de vómitos o IRS sobreagregada, y la mitad de los pacientes tienen un grado de desnutrición mayor del 10% en relación peso--edad. Las heces son amarillo cafés, fétidas con restos alimenticios, y un alto porcentaje de los pacientes refieren flatulencia o meteorismo.

El hallazgo de un cuadro de disentería (presencia de heces con moco y sangre, con pujo y tenesmo), nos debe hacer pensar en diarrea bacteriana por *Shigella* más que por *Salmonella*, ya que durante la investigación el género *Shigella* presentó porcentajes más elevados de esta sintomatología que el género *Salmonella*.

Al hablar sobre el uso de antibióticos en estas infecciones, deben de usarse los mismos definitivamente en el caso de encontrarse *Giardia lamblia*, ya que no es una infección autolimitante (16), y mientras no se erradique el parásito, seguirá causando problemas. Ahora en el caso de aislar *Shigella* o *Salmonella* me limita a decir que queda a juicio del médico y según cada caso en particular el uso de los mismos. A este respecto quiero indicar que por lo general cuando se reciben los resultados de los cultivos 4 ó 5 días después, el paciente suele estar ya asintomático. En los casos de Shigellosis el uso de antibióticos acorta el período de la diarrea y la persistencia de microorganismos viables en las heces; a diferencia de los casos de gastroenteritis por *Salmonella* en la cual el tratamiento específico influye poco en la misma (18). En caso se decida usarlos, es correcto solicitar un antibiograma para orientar la terapéutica y así elegir el mejor medicamento para el paciente. En la presente investigación todos los casos de diarrea infecciosa bacteriana fueron tratados con Sulfametoxazole--trimetoprim con buenos resultados clínicos.

RECOMENDACIONES

- 1.- Comparar los resultados del presente estudio en otras áreas geográficas de Guatemala.
- 2.- Efectuar en todo paciente que consulte por "síndrome diarreico", un coprocultivo y coloración tricrómica de las heces, ya que el porcentaje de GECA infecciosa en el grupo estudiado fue alto.
- 3.- Hacer uso de la fijación de las heces con PVA y coloración tricrómica de las mismas, cuando se quiera hacer un diagnóstico parasitológico exacto.
- 4.- Implementar el uso de la técnica de la coloración tricrómica en las clínicas familiares.
- 5.- Solicitar en todo paciente en quien se logre aislar alguna especie del género *Shigella*, un antibiograma, para corroborar o modificar la terapéutica inicial.
- 6.- Descartar el uso de Ampicilina y Tetraciclina en el tratamiento de las gastroenteritis por *Salmonella* y *Shigella*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) (6) (7) (8): Síndrome diarreico, causas biológicas de interés epidemiológico, Unidad de Diarrea, Fase II, Fac. CC.MM. USAC, por Dr. Eduardo Pérez G.
- (2) (3) (4) (5): Consideraciones sobre Enfermedad Diarreica, - - Unidad de Diarrea, Fase II, Fac. CC.MM. USAC, por los doctores Fernando Rendón, Clementino Castillo, Jorge Palma.
- (9): Ascoli. W. Mata. L. Studies of diarrheal diseases in Central-America. Am. J. Trop. Med. Hyg. 14:1965.
- (10): Gordon. J.E. Behar. M. Scrimshaw. N. Acute diarrheal disease in less developed countries. An epidemiological basis for control. Bull. Wld. Hlth. Org. 31:1964.
- (11): Bruch. H. Ascoli. W. Scrimshaw. N. Studies of diarrheal diseases in Central América. Am. J. Trop. Med. Hyg. 12:1963.
- (12): Enfermedades diarreicas en el niño. México, D.F. Edición-médica. Hosp. Inf. Mex. 1973.
- (13): Características de la mortalidad de la niñez. Inf. de la investigación inter. de mortalidad en la niñez. OPS 262:1973.
- (14): Vilchis, J. Epidemiología de las diarreas. Salud Pública. - Mex. 11:1969.
- (15): Revista médica de Chile. 106:319:1978. Actualización sobre Amebiasis.
- (16): Giardiasis; Parasit. clínica. Antonio Atías. Amador Neghmo. Ed. Intermed. Buenos Aires, 1979.

(17): Current concepts in Parasitology. Giardiasis, Dr. Martin s. Wolfe.

(18): Patogenia de la diarrea bacteriana, gastroenteritis inf. aguda. Clin. Ped. Norteamérica. Ago. 1974.

(19): Recognition Nechanisms in Inf. dis. Hosp. Practice. # 8. - vol 14, ago, 1979.

(20): The color atlas of intestinal parasites. Drs. Francis. M. -- Spencer, Lee. S. Monroe. Charles. C. Thomas publisher, 1961.

(21): Difco, manual de bacteriología, novena edición en inglés-trad. al español, 1978.

(22): Difco, información técnica del antibiograma y sus técnicas, mayo 1978.

Vecindad.

Br.

Rodolfo Francisco Espinosa Montes

Asesor.

andro Samayoa

rector de Fase III

or. A. Nuila

Dr.

Revisor.

Dr. Oscar Armando Guerrero

Dr.

Secretario en funci

Dr. Claudio González

Dr.

Decano.

Dr. Rolando Castillo Montalvo.