



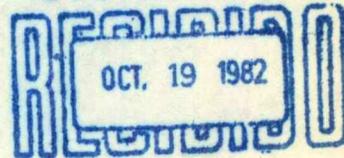
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

No. Adq.	19
No. Título	
Clas.	

REVISION BIBLIOGRAFICA
 SOBRE EL DIAGNOSTICO
 MICROBIOLOGICO DE E.
 COLI ENTEROPATOGENO.

FACULTAD DE QUIMICA
 BIBLIOTECA



U. A. Q.

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
 QUIMICO, BIOLOGO

PRESENTA:

SILVIA UGALDE TREJO

FACULTAD DE QUIMICA
 BIBLIOTECA



FACULTAD DE QUIMICA
 BIBLIOTECA

QUERETARO QRO.

OCTUBRE 1982

D

E

D

I

C

A

T

O

P

I

A

S

AL CREADOR: Por siempre haber estado ahí,
atras de todo.

A MIS PADRES:

MA. DEL CARMEN TREJO DE UGALDE

MIGUEL UGALDE NAVARRETE

En agradecimiento al apoyo, al cariño
y a la confianza que siempre deposita
ron en mí.

A SERGIO:

Por el ejemplo que siempre he tenido
de tí

A MANUELITO:

Con mucho cariño.

A MIS MAESTROS:

Mi agradecimiento por sus enseñanzas durante el transcurso de carrera.

AL Q.F.B. JORGE C. H. DE DIEGO:

Como muestra de agradecimiento por su orientación y colaboración, para la realización de este trabajo.

A MIS COMPANEROS DE ESTUDIOS:

"Recojan los frutos de la semilla sembrada".

AL PERSONAL DEL LABORATORIO GABAT:

Por la confianza y amistad que han depositado en mí.

AL GRUPO DE ORACION DEL SALESIANO Y
EN ESPECIAL AL PADRE JAVIER MARTINEZ

Por enseñarme donde encontrar la
fuerza para seguir adelante.

A: LILIA Y TERE

Por todo lo que nos une.

A TODOS MIS AMIGOS

I N D I C E

CONTENIDO.....	1-2
INTRODUCCION.....	3
HISTORIA.....	4-6
GENERALIDADES.....	7-22
DESARROLLO DEL TRABAJO.....	23-46
BIBLIOGRAFIA.....	47-51

CONTENIDO

- 1.- INTRODUCCION
- 2.- HISTORIA
- 3.- GENERALIDADES
 - a.- Etiologia de las diarreas
 - b.- Magnitud del problema "mortalidad en México"
 - c.- Factores que predisponen las enfermedades diarreicas
 - d.- Mecanismo de transmision de las enfermedades diarreicas
 - e.- Diarrea del viajero
 - f.- Diarrea del recién nacido
 - g.- Riesgo de la adquisicion de E. coli por la presencia de esta en portadores asintomáticos
- 4.- DESARROLLO DEL TRABAJO
 - a.- Generalidades sobre la Escherichia coli
 - a-1 Taxonomía de la familia de las Enterobacteriaceae
 - a-2 Organismo típico de la Escherichia coli
 - a-3 Cultivo de la Escherichia coli
 - a-4 Características del crecimiento de la Escherichia coli
 - a-5 Estructura antigénica
 - b.- Grupos de Escherichia coli productores de gastroenteritis en el hombre
 - b-1 Escherichia coli toxigénica
 - b-1-1 Generalidades de la Enterotoxina termolábil (LT)
 - b-1-2 Cuadro clínico que presenta la Enterotoxina termolábil
 - b-1-3 Generalidades de la Enterotoxina termoestable
 - b-1-4 Cuadro clínico que presenta la Enterotoxina termoestable
 - b-1-5 Factores de colonización
 - b-1-6 Genética de los factores de virulencia
 - b-1-7 Incidencia
 - b-2 Generalidades sobre la Escherichia coli invasora.
 - b-2-1 Cuadro clínico que produce la E. coli invasora
 - b-2-2 Cepas de E. coli capaces de invadir la mucosa -- intestinal
 - b-2-3 Incidencia de E. coli invasora
 - b-2-4 Dosis mínima infecciosa de la E. coli invasora

- b-3 Generalidades sobre la Escherichia coli enteropatógena
 - b-3-1 Incidencia de E. coli enteropatógena
 - b-3-2 Cepas de E. coli enteropatógenas
 - c.- Métodos de laboratorio para el Diagnóstico de E. coli --- toxigénica
 - c-1 Pruebas in vivo (Toxinas LT Y ST)
 - c-2 Pruebas in vitro (Toxina LT)
 - c-3 Pruebas simplificadas
 - c-4 Métodos serológicos (Toxina LT)
 - c-5 Determinación del factor de colonización (FC)
 - c-6 Determinación del serotipo
 - d.- Métodos del laboratorio para el Diagnóstico de E. coli --- invasora
 - d-1 Prueba de Sereny
 - d-2 Cultivo de tejidos
 - d-3 Métodos serológicos
 - e.- Métodos del laboratorio para la identificación de E. coli enteropatógena
 - f.- Inmunidad
 - g.- Otros mecanismos patogénicos
 - h.- Receptores específicos
- 5.- BIBLIOGRAFIA

I

N

T

R

O

D

U

C

C

I

O

N

El problema de la diarrea infecciosa constituye en nuestro país el principal problema de morbilidad en los niños menores de 5 años. Este problema no es local sino mundial y tiene su máxima expresión en los países en vías de desarrollo. (7)

Habitualmente este padecimiento se asocia a múltiples factores entre los que predominan el saneamiento ambiental deficiente, el bajo nivel cultural, económico y médico de la población, los problemas higiénicos de la habitación, la carencia de drenaje, de agua potable, de electrificación, de control de basuras y otros muchos que constituyen su común denominador.

Este problema constituye un padecimiento endémico y permanente a través de los años, de importancia tal que podría considerarse que en los países en vías de desarrollo, se transmite de generación en generación como un factor hereditario dominante. (2)

El único índice con que contamos, que da una idea general de la importancia de los padecimientos diarreicos son los datos provenientes de la organización mundial de la salud, que indican que en el periodo comprendido entre 1968 y 1970 se observaron tasas de mortalidad por enfermedades diarreicas que oscilaron entre 43 y 100 defunciones por 1000,000 habitantes, en países como Chile, Venezuela y Perú; de 140 a 200 en Honduras el Salvador y México; de 416 en Guatemala y 468 en Egipto. Se calcula que en 1975, en Asia, Africa y Latinoamérica murieron de diarrea entre 5 y 18 millones niños menores de 5 años de edad. Aproximadamente un tercio de todas las defunciones por enfermedades infecciosas ocurridas entre 1968 y 1971, en regiones seleccionadas de Latinoamérica, correspondió a enfermedad diarreica las tasas fueron más elevadas en el medio rural que en el urbano.

Si se admite que la morbilidad de estos padecimientos es de 100 o más veces mayor que la mortalidad, podemos apreciar el impacto que las enfermedades diarreicas infligen a la humanidad. Se estima que en cualquier momento se presentan en el mundo alrededor de 400 millones de enfermos de gastroenteritis. (1)

H

I

S

T

O

R

I

A

Desde tiempos remotos se conoce el problema de las diarreas y disentería como uno de los azotes más temibles de la humanidad. - Zinsser, en su famoso libro "ratas, Piojos e Histotia", comenta -- que junto con la peste y el tifo, han ganado más batallas que Cé-- sar, Aníbal, Napoleón y todos los generales de la historia, y a--- grega, "Las epidemias arrastran la culpa de las derrotas, los ge-- nerales el crédito de las victorias". Las diarreas no respetan, - razas, fronteras ni edades, pero sus principales víctimas son los pueblos insalubres, en los que las tasas de mortalidad por estos - padecimientos siguen siendo muy elevadas, disputándose el primer - lugar con las infecciones de las vías respiratorias. Los más po-- bres y los niños son los más afectados. (5)

El término diarrea se deriva del latín diarrhoea que signifi-- ca "fluir a través de". Desde el punto de vista etiológico, la -- diarrea ha sido atribuida a múltiples causas, pasando por el cas-- tigo divino, las fuerzas de la naturaleza (movimiento de estrellas, temblores, etc.).

La palabra diarrea señala los trastornos del aparato gastro-- intestinal que, por diversas alteraciones como la de motilidad, -- la de absorción intestinal, etc., producen evacuaciones frecuentes con heces de características anormales, tanto en consistencia, com-- posición, cantidad y coloración, como por la presencia de substan-- cias anormales. (2)

Las enfermedades diarreicas agrupan una variedad de padeci--- mientos de muy diversa índole, de la cual la más importante es, -- sin duda por su carácter contagioso, la etiología infecciosa. Al iniciarse la era pasteuriana se reconocieron los primeros agentes. Hace exactamente un siglo, Lösch demostró la presencia de trofo--- zoitos de *Entamoeba histolytica* en enfermos con disentería y en el hígado de individuos con absceso hepático. El mismo Koch anunció, un año después, el hallazgo de *Vibrio cholerae* en individuos con - el padecimiento. En 1885 Salmon, investigador norteamericano, des-- cubrió el primer germen del Grupo que lleva su nombre, *Salmonella cholerae-suis*, causante de el cólera del cerdo y de enterítis en - el hombre. A pesar de la aceptación del papel que las salmonelas tienen en las diarreas, fue hasta 1940 cuando se reconoció su ver-

dadera importancia en la enfermedad en los niños, gracias a los -- trabajos de Hormaeche en el Uruguay. Entre 1898 y 1901, Shifa en el Japón, Fexner en las Filipinas y Kruse en Alemania, demostraron el papel de las shigelas en las diarreas y disenterías. (5) Ewing integró más tarde el nuevo esquema serológico, el que comprende -- alrededor de 40 serotipos de *Shigella*. (1)

La *Escherichia coli*, fue descubierta por el pediatra Esche--- rich en 1885, durante sus investigaciones sobre la composición de la flora bacteriana normal del niño recién nacido. (1) Es un bacilo gram negativo, no produce esporas, encapsulado, aeróbico que pertenece a la familia de las *Enterobacteriaceae* y fermenta diferentes carbohidratos. Sus características antigénicas son heterogéneas y han sido estudiadas por Kauffmann en 1951. (2) La participación de la *Escherichia coli* en las diarreas se sospechó desde el siglo pasado pero no fue sino hasta 1945 en que Bray de Inglaterra demostró la asociación de un tipo serológico específico de *E. coli* (*Bacterium coli napolitanum*) con un brote de diarrea en -- tres recién nacidos; posteriormente en 1946, en el Hospital Infantil de México, Varela, Aguirre y Carrillo aislaron, de un lactante de 2 meses de edad muerto por gastroenteritis, tanto de materias fecales como de secreción purulenta del oído externo, *Escherichia coli* con un antígeno somático de la *Salmonella adelaide* mismo que denominaron *Escherichia coli-gómez* y que posteriormente los mismos autores incriminaron como causante de un brote epidémico de diarrea ocurrido en el Hospital Infantil de México, aislándose en las heces de cinco niños enfermos y en un adulto sano que trabajaba en la cocina del hospital.

En 1952, Olarte y Varela, basándose en el esquema de clasificación establecido por Kauffmann-Knipshildt-Vahlne, para el grupo *Escherichia*, pudieron probar que el *E. coli-gómez* (1946), *Bacterium* tipo de Giles y Sogster (1948) y el *E. coli* O111:B4 de --- Kauffmann y Dupont (1950), todos ellos relacionados con diversos -- brotes epidémicos de diarrea en Lactantes, eran el mismo germen. - A partir de entonces, múltiples serotipos de *Escherichia* han sido asociados a casos y brotes epidémicos de diarreas del recién nacido, de lactantes menores y de algunos adultos. (3)

En la actualidad se reconocen tres grupos de colis productores de gastroenteritis en el hombre: toxigénicos (ETEC), invasores y serotipos enteropatógenos (EPEC). (4)

G

E

N

E

R

A

L

I

D

A

D

E

S

a.- Etiología de las diarreas

Los primeros investigadores que hicieron trabajos sobre enfermedad diarreica aislaron patógenos bacterianos o virales en -- menos de la mitad de las muestras estudiadas. Más tarde otros -- investigadores por combinación de técnicas tradicionales con microscopia electrónica y mediciones de la producción de enterotoxina, ampliaron nuestro conocimiento de la importancia de los patógenos potenciales. (6)

En la actualidad las causas que condicionan las diarreas pueden agruparse en infecciosas y no infecciosas, este último grupo es muy numeroso. Sin embargo, es evidente que en México los procesos infecciosos son la causa más frecuente de diarrea. En el panorama epidemiológico nacional, los procesos infecciosos en general, constituyen en 1971, el 47.1% del total de las defunciones, correspondiendo el 18.1% a las enfermedades infecciosas y parasitarias del aparato digestivo.

En la actualidad se considera fundamentalmente cuatro grupos de agentes infecciosos como causantes de enfermedades diarreicas: bacterias, virus, parásitos y hongos.

Las infecciones bacterianas son la causa más frecuente de diarrea en nuestro medio y sólo se consideran como habitualmente patógenos, algunos serotipos de *Escherichia coli*, *Salmonelas*, *Shigellas*, y el *Estafilococo dorado*, que es causa de enterocolitis necrotizante aguda del lactante, aunque este agente actúa fundamentalmente a través de sus toxinas, o como parte de un proceso septicémico. El resto de bacterias encontradas en el intestino como el *Proteus*, el grupo paracolon, la *Klebsiella*, la *Pseudomonas* el *Vibrio para-hemolyticus*, la *Yersinia enterocolítica* y otros no son considerados enteropatógenos habituales. (2)

La frecuencia del aislamiento de los gérmenes específicamente patógenos provenientes del tubo digestivo presenta una gran variación de país y de investigador a investigador. En forma sintetizada se presentan los datos reportados por varios investigadores en diversas partes del mundo en un período de cerca de 20 años.

El porcentaje de aislamiento varía desde 4 a 62% y el número de estudios realizados de 95 a 13,545.

En algunos de ellos el predominio de una bacteria es tan franco que supera de manera definitiva a las demás como sucede con el estudio de Buttiaux en Francia y el de Gronroos en Finlandia, en donde cerca del 90% de los patógenos fueron cepas de *Escherichia coli* enteropatógenas y el de Silva en Ceilán en que el 100% fueron salmonelas.

En algunos como los de Goodwin en Estados Unidos de Norteamérica y el de Summerwille en Escocia el porcentaje de aislamiento de *Shigella* es muy elevado.

En Calcuta, India más del 40% de los gérmenes causantes de diarrea son gérmenes que en nuestro medio no son aislados. (7)

Olarte en el Hospital Infantil de México, encontró salmonellas en el 5 a 12%, a la *Shifella* en el 15 a 20% y a la *E. coli* en el 11 al 19% de los pacientes por él estudiados. (2)

En el hospital de pediatría del Centro Médico Nacional del I.M.S.S., durante el lapso comprendido entre marzo de 1963 a diciembre de 1973 se obtuvieron 69,652 muestras de materia fecal que fueron estudiadas para analizar la frecuencia de los tres géneros más importantes en nuestro medio que son *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*. Obteniéndose como resultados los siguientes:

La *Escherichia coli* ocupó el primer lugar en frecuencia, habiendo alcanzado en 1964 gran importancia, ya que en este año más de 80% de los enteropatógenos correspondieron a este género.

La *Salmonella* ocupa el segundo lugar global, sin embargo en los años de 1969 y 1972 ocupó el primer lugar global, sin embargo en los años de 1969 y 1972 ocupó el primer lugar y en otros dos (1966 y 1967) el número de cepas fueron superior a 1,000.

El tercer lugar lo ocupa la *Shigella* observándose una caída brusca en su frecuencia relativa a partir de 1964 y una franca caída absoluta a partir de 1968.

Analizando el género de *Escherichia coli*, se obtuvo como resultado que el serogrupo O111:B4 es el más frecuentemente aislado en los 11 años que duro el estudio, seguido por los serogrupos O126:B16, O119:B14, O555:B5, O86:B7 y el O125:B15. Se estudiaron sistemáticamente 10 serogrupos, sin embargo, los 6 anteriores representan el 86% de todas las cepas enteropatógenas que se presentaron en la institución. (7)

b.- Magnitud del problema: "Mortalidad en México".

La ignorancia, la pobreza y la insalubridad, tan frecuentes en las regiones en desarrollo como lo es México, son factores que proporcionan tanto la desnutrición como la propagación de las infecciones, y entre esta última, las enfermedades diarreicas en particular. La influencia recíproca entre desnutrición y diarrea, la primera favorece el cuadro clínico enteral, y la segunda incrementando el proceso de desnutrición establece un círculo vicioso que hace difícil precisar cuál de las dos entidades es más importante en la práctica. (1)

Se considera que la notificación anual de casos de gastroenteritis es aproximadamente de 150,000 y 25,000 de disentería. Sin embargo, basándose en que la tasa de letalidad es de 2.5% es posible suponer que el número de casos debe ser superior a 1,300,000 y 50,000 respectivamente.

En el Hospital Infantil de México durante el período de tiempo comprendido entre 1962 y 1971 existieron 4,624 pacientes menores de un año (20.8%) hospitalizados por gastroenteritis, con una letalidad del 11.44%. En todos los años este padecimiento fue la primera causa de hospitalización en el lactante en esta institución.

En el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de I.M.S.S., la gastroenteritis es la causa más frecuente de hospitalización y de mortalidad especialmente en el lactante, y es a la vez uno de los padecimientos que tienen mayor costo en su atención (2).

La mortalidad por diarreas observada en México en 45 años demuestra que las tasas más elevadas se presentan en los niños menores de un año y en el grupo de edad de 1 a 4 años. El primero representa del 50 al 55 por ciento del total de las defunciones provocadas por diarrea; el segundo, del 20 al 25 por ciento, y a la -

población mayor de 5 años corresponde entre 20 y 30 por ciento.

En la tabla 1, se señala la mortalidad por gastroenteritis, según entidades de la República Mexicana. La tasa elevada en el Distrito Federal, puede explicarse por la inmigración de enfermos hacia las diferentes instituciones médicas del D. F., en donde muchos fallecen. En otros lugares con tasas bajas de mortalidad como Quintana Roo, la explicación radica fundamentalmente en defecto de certificación médica de los diferentes padecimientos.

Es evidente que en México la mortalidad por diarreas ha ido disminuyendo sensiblemente en el transcurso de las últimas cuatro o cinco décadas. Este descenso, interrumpido de tiempo en tiempo, posiblemente por brotes de epidemias no siempre bien identificados, ha sido lento pero sostenido.

c.- Factores que predisponen las enfermedades diarreicas

1.- EDAD. Entre menor es la edad del niño, mayores son las probabilidades que tiene de padecer diarrea y de que su cuadro sea grave; de manera que los lactantes y los preescolares menores son los más afectados, probablemente por las mayores oportunidades que tienen para ingerir leche y otros alimentos contaminados, debido a la diseminación fecal en el ambiente, al manejo de los alimentos por falta de educación higiénica y a la falta de elementos para su refrigeración adecuada.

2.- DESNUTRICION. Los niños desnutridos son los más expuestos a presentar diarrea y en ellos los cuadros son más graves y las recaídas más frecuentes.

3.- AMBIENTE. Los menores que viven en condiciones socioeconómicas inadecuadas tienen mayor riesgo debido a las facilidades que hay en esos medios para la contaminación de los alimentos y del agua y por la carencia de agua potable, de redes de abastecimiento y de educación higiénica. Cuando estos niños enferman, suelen presentar cuadros clínicos severos y puede afirmarse que la gravedad y mortalidad de los cuadros diarreicos, guardan relación directa con el grado de desnutrición.

-MORTALIDAD POR ENTERITIS Y OTRAS ENFERMEDADES DIARREICAS EN LOS
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS POR ENTIDADES FEDERATIVAS DE MAYOR A -
MENOR TASA-

ENTIDAD	TASA
1.- Oaxaca	219.7
2.- Chiapas	209.9
3.- Fuanajuato	174.7
4.- Colima	168.9
5.- Querétaro	166.4
6.- Tlaxcala	153.2
7.- Puebla	143.9
8.- Campeche	143.9
9.- Aguascalientes	141.2
10. Coahuila	137.1
11. Tamasco	135.6
12. San Luis Potosi	132.7
13. Jalisco	130.8
14. México	130.2
15. Distrito Federal	126.4
16. Veracruz	123.9
17. Yucatán	121.6
18. Nayarit	118.7
19. Zacatecas	117.4
20. Guerrero	109.5
21. Michoacán	105.4
22. Sonora	102.3
23. Chihuahua	97.5
24. Hidalgo	96.9
25. Durango	89.9
26. Morelos	89.2
27. Baja California Sur	84.8
28. Tamaulipas	77.5
29. Quintana Roo T.	76.2
30. Sinaloa	68.9
31. Nuevo León	63.0
32. Baja California	61.1

4.- Las enfermedades diarreicas predominan en algunas regiones. Las tasas de mortalidad en la República Mexicana muestran que los estados con mayor mortalidad son: Oaxaca, Chiapas, Guanajuato, Colima y Querétaro.

5.- Estaciones del año. La frecuencia de las enfermedades diarreicas es diferente según las distintas estaciones del año. El mayor número de casos se presentan en los meses de marzo a agosto u una disminución de la frecuencia durante los meses fríos. El calor favorece la multiplicación de los gérmenes en los alimentos y bebidas y la pérdida de líquidos orgánicos por altas temperaturas hace más difícil la homeostasia en el niño (12) (13)

d.- Mecanismo de transmisión de las enfermedades diarreicas

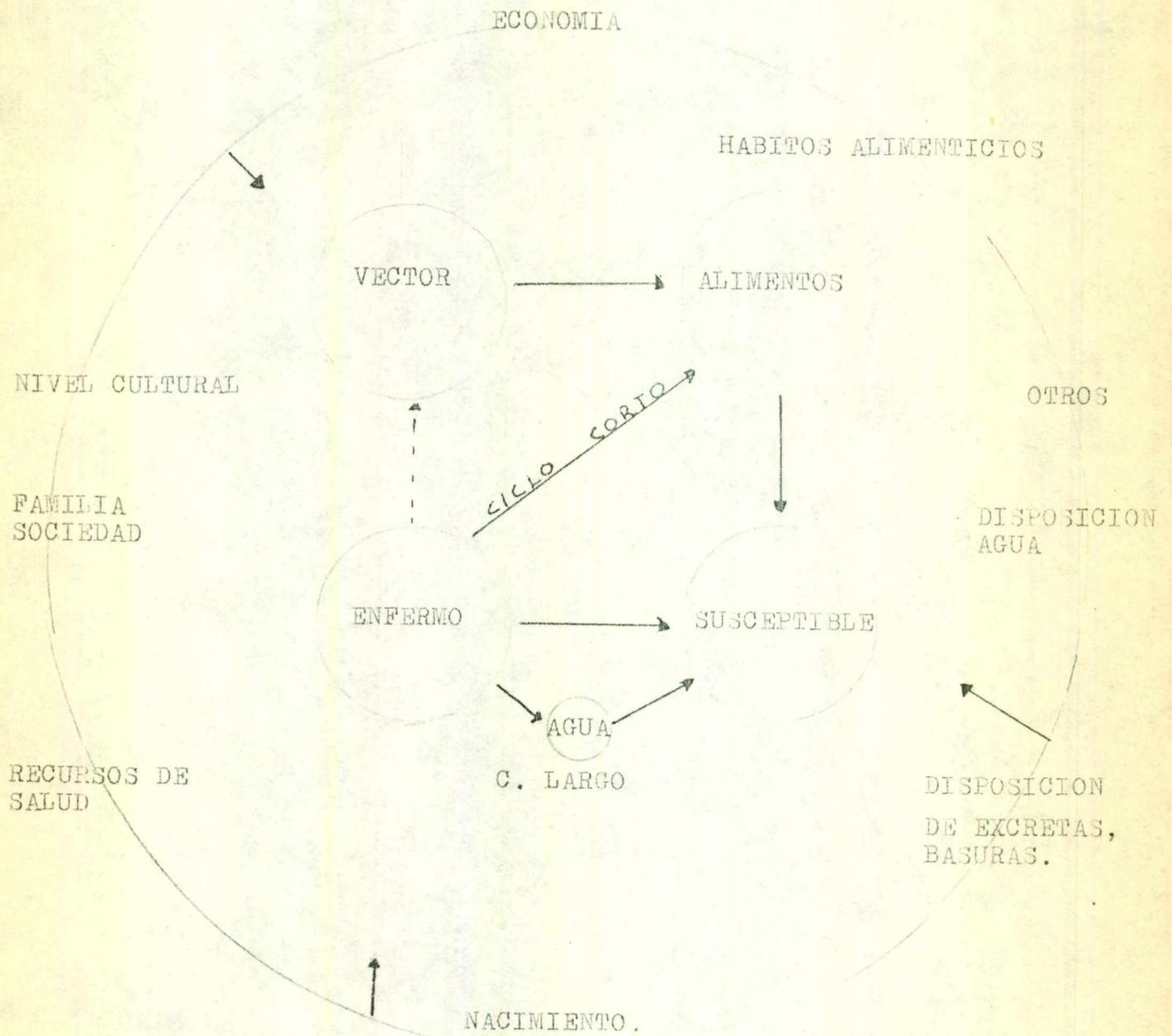
Los mecanismos de transmisión de las enfermedades diarreicas dependen del agente, de las vías de transmisión y del huésped.

Las vías de transmisión de las enfermedades infecciosas pueden ser agrupadas en: aérea, digestiva, por contacto, por insecto vector, trasplacentaria y experimental o accidental. En las infecciones del aparato digestivo (intestino), la vía de entrada más importante es la boca, aunque recientemente se señala a la vía aérea como puerta de entrada de algunas bacterias enteropatógenas. Esta última podría tener importancia en explicación de brotes epidémicos de diarrea del recién nacido por *Escherichia coli* en cuneros. También podría facilitar las infecciones cruzadas a nivel hospitalario.

Se han señalado dos ciclos como mecanismos de transmisión de las enfermedades diarreicas.

1.- El ciclo corto (tabla 2) es considerado como el más importante y se encuentra representado por la relación entre la materia fecal y la boca, lo que se logra por "contacto directo" de la mano contaminada de una persona infectada y la boca de un susceptible. En este renglón son un factor determinante los manejadores de alimentos. En ocasiones los objetos contaminados pueden favorecer la

TABLA # 2
MECANISMOS DE TRANSMISION, FACTORES CONDICIONANTES



infección, especialmente en la niñez. Menor importancia tienen -- los vectores mecánicos como las moscas y las cucarachas.

2.- El ciclo largo en el que interviene fundamentalmente el -- agua y cuyo papel en la transmisión de enfermedades fue demostrado por Budd y Snow en Inglaterra, a partir de los cuales se han pue-- to en práctica diversos medios efectivos de potabilización y con-- trol del agua.

En el niño, la diarrea es la resultante de la interrelación de diversos factores condicionantes entre los que señalaremos los de tipo económico, sociocultural y sanitario de la población y de su grupo familiar. Entre estos factores debemos señalar la influen-- cia que el nivel cultural tiene sobre sus hábitos higiénicos y a-- limenticios, perpetuando tradiciones, costumbres y tabúes que se -- transmiten a través de generaciones. En México, 23.8% de la pobla-- ción es analfabeta. El nivel económico de la población habitual-- mente es bajo y se traduce por ingreso familiar pobre, distribu--- ción inadecuada del presupuesto familiar, alimentación insuficien-- te en calida y cantidad, mala conservación y preparación de los -- alimentos y otros problemas que son el reflejo de lo que sucede en la comunidad.

El medio que favorece el contacto directo es el nacimiento. -- La deficiencia en la dotación de agua intradomiciliaria (61%) con que cuenta la población, el drenaje (41.5), el manejo de basuras, el control de insectos y roedores y otros factores más, que son -- propiciados por las condiciones ambientales deficientes.

Los recursos de salud que son del reporte gubernamental, y -- que proporcionan las medidas de prevención, facilitan el diagnós-- tico oportuno, el tratamiento adecuado y la educación médica de la población, son con frecuencia insuficientes y habitualmente no son utilizados oportunamente y eficazmente.

La desorganización familiar y los cambios de costumbres (ma-- dres que trabajan, madres solteras) que influyen en la vigilancia y el control méfico del niño, en la preparación, conservación y o-- frecimiento de los alimentos son factores que seguramente, propor-- cionan infecciones entéricas, sobre todo si coinciden con sanea--- miento ambiental deficiente (2)

e.- Diarrea del viajero

La frecuencia y la sintomatología diarreica de viajeros se conocen desde hace cierto tiempo. Poco después de llegar a un país extranjero la persona sufre diarrea, con grados variables de fiebre, dolor abdominal, calambres y vómitos. Las personas que viven en zonas endémicas gozan de una inmunidad natural. (8)

La diarrea del viajero, constituye un serio problema internacional, fué investigada entre los asistentes a un congreso que se realizó en la Ciudad de México, observándose que el 44% de individuos que la sufrieron, albergaban *Escherichia coli* enterotoxigénicas (9), y el resto otros patógenos comunes incluyendo cepas de *Shigella* y *Salmonella*, *G. lamblia*, *E. histolytica* y rotavirus. Hay datos indicando que los alimentos son el vehículo principal a través del cual se transmite la infección.

La mejor manera de evitar el problema es comer en restaurantes que tengan reputación merecida de seguridad (o sea donde la experiencia indica una frecuencia muy baja de diarreas), consumir alimentos cocidos que lleguen a la mesa humeantes (El alimento que lleva muchas especias, y por eso irrita, no es seguro), quitar la corteza de las frutas, y beber bebidas carbónicas embotelladas. Hay que evitar las verduras crudas.

Cuando la diarrea ocurre en grupos de personas, se ha de estimar el periodo de incubación, determinar la presencia o ausencia de fiebre, y establecer si hay o no hay vómitos. Un periodo de incubación breve, y establecer si hay o no hay vómitos. Un periodo de incubación breve sugiere intoxicación por toxina estafilocócica, especialmente si hay mucho vómito y el paciente no tiene fiebre, sugiere infección mediada por enterotoxina; si ocurre en América Latina hay que pensar en *El coli* enteroxígeno. Cuando la fiebre es importante hay que pensar en gérmenes invasores como *Shigella* y *Salmonella*; más raramente la diarrea febril depende de *Escherichia coli* invasor. (8) Ver tabla 2.

TABLA 3

AGENTES FRECUENTES (EN AGUA O ALIMENTOS) ORIGEN DE BROTES DE DIARREA

Periodo de incubación	Fiebre en uno o más	Vómitos sin proporción con la diarrea	Etiología probable	Establecimiento del diagnóstico
4 horas	No	Si	Toxina de <i>Staphylococcus aureus</i>	Diagnosticado clínicamente
6 a 8 horas	Sí	Sí o No	Shigella, E. coli - invasor, Salmonella, V. parahaemolyticus	Cultivo de heces
Más de 6-8 horas	No	Si o No	Clostridium perfringens, E. coli enterotoxigeno	El laboratorio no es capaz de descubrir sistemáticamente el causante

f.- Diarrea del recién nacido

Después del nacimiento, el intestino del niño comienza rápidamente a ser colonizado por microorganismos sobre todo por *Escherichia coli*, si bien esto suele no afectar al neonato, es, sin embargo, más susceptible a las infecciones por gérmenes gram negativos principalmente por *Escherichia coli*, ya que recibe muy poco o casi nada de anticuerpos transplacentarios contra dichos gérmenes y además, tarda en producir sus propios anticuerpos como lo demostraron Nestter y Col. Todo esto favorece que estos microorganismos sean con mayor frecuencia los que causen la diarrea en los neonatos, y constituyan un problema de salud pública. (11)

Son varios tipos de *Escherichia coli* los que se han asociado a la diarrea infantil y que tienen importancia por su frecuencia y son los serogrupos 026:B6; 086:B7; 0111:B4; 055:B5; 0119:B14 y --- 0127:B8

Al aclararse el papel de ciertos serotipos de *Escherichia coli* como agentes etiológicos de la diarrea del recién nacido, se estableció un progreso en el conocimiento bacteriológico de estas enfermedades.

Recientemente en Inglaterra se han aislado variedades de *E. coli* 0114 en algunas epidemias de diarrea en recién nacidos, y además tanto en nuestro medio como en otros países se ha aislado un nuevo serotipo de *E. coli* 0142:K86:H6 como causante de epidemias graves en servicios donde se atienden neonatos.

En la Sala de Neonatología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional en un estudio de 464 coprocultivos, se encontró que 41% fue positivo a 10 serotipos distintos de colis patógenos y fueron los más frecuentes el 055, el 086 y el 0126. En 3.8% no se presentó desarrollo y en el 55.2% restante se encontraron --

proteus, pseudomonas y coliformes como Klebsiellas, Escherichias - coli no patógenas y paracolon cuya acción patógena no se ha demostrado aún, aunque en determinadas circunstancias y en ciertos pacientes parece ser que juegan papel importante sobre todo como gérmenes oportunistas. En el año de 1972, en 104 casos de neonatos de la sala de gastroenteritis se observó lo mismo, es decir, franco predominio de los E. coli enteropatógenos (60.6%) como causa de la diarrea, siendo los más frecuentes los serotipos O:86 y O:119. La diferencia fué que en esta ocasión se aisló Salmonella en ----- 39.39% de los casos, la más frecuente fue la enteritidis (33.33%). Sin embargo es interesante señalar que este hallazgo coincidió con un brote epidémico de diarrea tanto en la sala de neonatología como en otras del hospital originado por este microorganismo. Tabla # 4.

La infección puede ser adquirida de la madre a través de la placenta, por vía hematógena (bacteriemia) y por vía ascendente -- (ruptura prematura de las membranas), o bién, adquirida durante el parto. En relación con E. coli estos dos últimos mecanismos son los más frecuentes. La contaminación es muy elevada dado que los pacientes eliminan en las heces grandes cantidades de E. coli, contaminando los cuvículos, los muebles, la ropa, etc. La infección se propaga fácilmente a través de las manos del personal que maneja a los recién nacidos, de la leche de los biberones, de los equipos, así como por el aire durante el aseo. Por otra parte, se sabe que las E. coli pueden permanecer vivas en el ambiente hasta -- por varios meses y además son resistentes a los antisépticos más usuales. Algunos estudios han señalado que a través de las manos de las madres se facilita la diseminación de la E. coli y es importante señalar la influencia de los portadores de este tipo de microorganismos en las infecciones intestinales, pues se ha comprobado que 46% de las personas que estuvieron en el hospital por --- tres semanas o más eran portadores de E. coli.

El sistema inmunológico general del neonato se caracteriza -- por la carencia de IgM que no es transportada de la madre al feto y las IgA plasmáticas que son deficientes al momento del nacimiento.

TABLA # 4

FRECUENCIA DE GERMENES AISLADOS EN 104 CASOS DE GASTROENTERITIS

Patógenos	No. casos	%	No patógenos	No. casos	%
E. coli			E. coli	84	40.38
086	8	24.24	Klebsiella	64	30.77
0119	7	3.03	Proteus:		
0128	1	3.03			
0127	1	3.03	mirabilis	27	12.97
0125	1	3.03	vulgaris	17	8.17
0124	1	3.03	rettgeri	2	0.96
055	1	3.03	Pseudomona	13	6.25
Salmonellas:	11	33.33	Micrococcus sp	1	0.48
enteritidis	1	3.03			
Thompson	1	3.03			
readine					
Total	33	99.99		208	99.98

Estadística de la Sala de Neonatología. Hospital de Pediatría, --
Centro Médico Nacional del I.M.S.S., 1972

to y no aparecen antes de la sexta semana de la vida, lo que se traduce en el recién nacido en niveles bajos o ausentes de IgA e IgM con niveles normales de IgG maternas que sí pasan la barrera placentaria.

La ausencia de IgM, en las que se localizan los anticuerpos bactericidas contra las enterobacteriáceas, explica la frecuencia de las infecciones por este tipo de gérmenes en el neonato y la facilidad con la que se diseminan (septicemia) o se localizan en otros órganos y sistemas (gastroenteritis, neumonía, meningitis).

La IgA secretorias se empiezan a producir en las células plasmáticas de la lámina propia del intestino, cuando el neonato se pone en contacto con antígenos bacterianos, encontrándose cantidades demostrables de IgA secretoria al final de la tercera semana de la vida. Esta inmunoglobulina en presencia de complemento puede actuar como eficaz opsonina para gérmenes Gram negativos como E. coli enteropatógeno y estos microorganismos opsonificados estarían en situación de ser ingeridos por las células del sistema retículo endotelial de la submucosa y otros tejidos linfoides del intestino.

Se ha demostrado que el poder opsónico para E. coli en los sueros de los recién nacidos es menor que el de sus madres y lo mismo se encontró para todas las especies bacterianas, cuando se quitó el complemento al suero, lo que sugiere que la capacidad opsónica menor del suero de los neonatos para E. coli radica en deficiencia de anticuerpos 19-S que son por excelencia opsónicos los que aumentan su eficiencia cuando se les agrega complemento. Por otra parte, los niveles de complemento (c') son bajos en el recién nacido y la quimiotaxis de los neutrófilos se considera francamente menor por lo que la fagocitosis es deficiente.

La leche materna protege al neonato contra cierto tipo de infecciones, principalmente gastrointestinales; por su alto contenido de inmunoglobulinas sobre todo IgA de tipo secretoria del calostro, que otorga protección local ya sea actuando como un anticuer-

po opsonificante; también puede actuar como células portadoras de información que activan los mecanismos de defensa local del intestino del niño (sistema linfoide o macrófagos) o como productoras de proteínas que aportan IgA u otros factores inespecíficos antibacterianos como lisozima, lactoferrina e interferón.

Estudios recientes, han señalado que algunos gérmenes de la flora habitual del intestino pueden producir ácidos grasos volátiles que suelen limitar o impedir la proliferación de enteropatógenos; y en los niños alimentados con leche materna la presencia del bacilo bifidus en la flora del intestino, acidifica el medio al producir ácidos láctico y acético lo que inhibe el desarrollo de enteropatógenos particularmente E. coli.

Las condiciones inmunológicas muy particulares, como el hecho de que un alto porcentaje de recién nacidos no se alimentan con leche materna, unos porque la propaganda comercial ha influido para sustituirla por fórmulas artificiales y otros porque no la pueden recibir por ser neonatos de alto riesgo que permanecen internados en salas especiales dedicadas a sus cuidados por algún tiempo y las malas condiciones ambientales señaladas, explican por qué se mantienen altos índices de morbilidad de esta enfermedad en países como el nuestro, donde además, la mitad de los partos no reciben atención médica y los que la obtienen en un porcentaje de ellos dicha atención no se realiza de manera óptima.

g.- Riesgos de la adquisición de Escherichia coli, por la presencia de esta en portadores asintomáticos.

El aislamiento de la Escherichia coli como bacteria enteropatógena en portadores asintomáticos ha mostrado una frecuencia variable según la población y época en que se estudie; por ejemplo: en Dinamarca, 910 niños menores de un año y 538 menores de un mes

72
fueron negativos para dos serotipos patógenos de *Escherichia coli*; en Inglaterra se estudiaron 210 niños, siendo todos negativos, al igual que en los Estados Unidos, en donde se incluyeron 398. En Escocia, 2.5% de 271 y 4% de 101 niños asintomáticos excretaron -- *E. coli* enteropatógena, en Israel se encontró 31% de portadores asintomáticos y en otros estudios en Inglaterra se encontró que la frecuencia fue de 20%, exclusivamente para *E. coli* O111. En la sala de neonatología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social, se estudiaron 164 niños sanos en un lapso de ocho meses, teniendo como resultado que el 18.9% tuvieron coprocultivo positivo a *E. coli* enteropatógena. La *E. coli* se consideró como enteropatógena cuando el serotipo aislado fue de reconocida capacidad para producir diarrea, de acuerdo con estudios epidemiológicos previos.

El criterio de portador asintomático se estableció cuando el paciente con coprocultivo positivo a *E. coli* enteropatógena no tuviera diarrea, su curva térmica fuera normal y la ponderal estuviera en ascenso.

Respecto a los serotipos de *E. coli* hubo 21 cepas distintas, predominando el serotipo O111 y ocupando el segundo lugar el serotipo O20:B84.

El aspecto a destacar aquí es la elevada frecuencia de portadores asintomáticos de *E. coli* enteropatógena (18.9%), los cuales pueden ser el punto de partida de una epidemia. Por lo que se ha sugerido que en unidades de recién nacidos de alto riesgo se realice rutinariamente la toma de coprocultivos a todo el que ingrese y de esa manera efectuar cuidados específicos con el portador.

La ausencia de signología clínica en el portador de *E. coli* enteropatógena puede deberse a que la bacteria haya perdido su plasmidio y con ello su patogenicidad, o que el inóculo bacteriano sea pequeño, o una virulencia disminuida o una mayor resistencia del huésped para dicho microorganismo. (10)

D

E

S

A

R

R

O

L

L

O

a.- Generalidades sobre la Escherichia colia-1 Taxonomía de la familia de las Enterobacteriaceae

La *Escherichia coli* pertenece a la familia de las Enterobacteriaceae. Las enterobacterias son microorganismos que se multiplican rápidamente y al reproducirse forman colonias macroscópicas cuando se les suministra alimento, temperatura y humedad convenientes en una base sólida o semisólida, es decir un medio de cultivo adecuado.

Para este tipo de cultivos se utilizó inicialmente una placa de gelatina introducida por Koch (1881). Más tarde Hesse empleó -placas de agar, a las que se adicionaron sustancias nutritivas. - De este modo se ha ido elaborando una amplia gama de medios de cultivo que permiten el crecimiento e identificación de los más variados microorganismos y a partir de cualquier espécimen.

La familia de las Enterobacteriaceae se divide en tribus, géneros y especies, llegándose a esta última clasificación por reacciones bioquímicas específicas de cada microorganismo que integra la familia. (17)

NOMENCLATURA DE LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

TRIBU	GENERO	ESPECIE
Escherichieae	Escherichia	E. coli
	Shigella	S. dysenteriae
		S. flexneri
		S. boydii
		S. sonnei
Edwardsiellae	Edwardsiella	E. tarda
Salmonelleae	Salmonella	S. choleraesuis
		S. typhi
		S. enteritidis
	Arizona	A. hinshawii

	Citrobacter	C. freundii C. diversus	
Klebsielleae	Klebsella	K. pneumoniae K. azaenae K. rhinoscleromatis	
	Enterobacter	E. cloacae E. aerogenes E. hafniae E. agglomerans	
	Serratia	S. marcescens S. liquefaciens S. rubidaea	
Proteeae	Proteus	P. vulgaris P. mirabilis P. morgani P. rettgeri	
	Providencia	P. alcalifaciens P. stuartii	
Yersinieae	Yersinia	Y. pestis Y. pseudotuberculosis Y. enterocolitica	
Erwinieae	Erwinia	E. amylovora	
	Pectobacterium	P. carotovorum	(18)

La tabla anterior es el resultado de varios años de investigación y aún actualmente se encuentra en un cambio constante. (19)

a-2 Organismo típico de la Escherichia coli.

La Escherichia coli es la especie predominante en el intestino grueso; por lo que se denomina también "colibacilo". Es un bacilo corto (0.5 por 1 a 3 um) gramnegativo, aerobio, carece de cápsula y de esporas, la mayoría de las cepas poseen flagelos peritricos y son móviles, forman indol y fermentan la lactosa con producción de ácido y gas. Se desarrollan bien en medios artificiales, y en condiciones de cultivo desfavorables (por ejemplo, en presencia de antibióticos) aparecen formas filamentosas largas. (19,20)

a-3 Cultivo de la Escherichia coli

Cuando crece en medio líquido produce un enturbiamiento difuso; pero si se desarrolla en condiciones subóptimas, puede formar largas cadenas filamentosas y originar un crecimiento granular. - En agar, las colonias de cepas lisas (S) son brillantes, convexas e incoloras; pero cuando tales cepas se resiembran repetidamente en medios artificiales, se vuelven rugosas (R) y determinan la formación de colonias mucoides, en especial cuando se incuban a bajas temperaturas y crecen en medio pobre de nitrógeno y fósforo, pero rico en carbohidratos. Algunas cepas son hemolíticas, y en medios sólidos despiden un olor fétido característico. (21)

a-4 Características del crecimiento de la Escherichia coli.

1.- Fermentación de carbohidratos: La E. coli descompone muchos carbohidratos con producción de ácido y gas.

2.- Prueba del Indol: La E. coli produce indol en caldo que contiene triptófano.

3.- Prueba del rojo de metilo. Esta prueba indica el pH final del cultivo en caldo con 0.5% de glucosa después de una incu--

bación de 4 días a 37°C. E. coli da un pH inferior a 4.5 y es, - por lo tanto, rojizo de metilo-positiva.

4.- Prueba de Voges-Proskauer: La E. coli es negativa para esta prueba que depende de la producción de acetilmetilcabinol a partir de la glucosa.

5.- Prueba del citrato: La E. coli no utiliza el citrato como fuente de carbono. (22)

a-5 Estructura antigénica

La Escherichia coli tiene una estructura antigénica muy compleja, las cepas son heterogéneas en su comportamiento serológico. Se clasifican por sus antígenos que son de tres tipos, O, K y H.

Los antígenos O (somáticos) no quedan inactivados por el calor a 121°C por lo que son llamados termostables.

Los antígenos K, son también somáticos y constan de tres variedades conocidas como L, A y B, se presentan como cápsulas o envolturas por lo que son llamados capsulares o superficiales, presentando como característica principal el ser termolábiles.

Los antígenos H son los antígenos flagelares que sólo se encuentran en las cepas móviles.

Con técnicas de aglutinación específicas se han identificado más de 145 antígenos O de E. coli diferentes, se han descrito aproximadamente 50 antígenos H y más de 80 antígenos capsulares K diferentes.

Se piensa que la existencia de los antígenos K contribuyen a la patogenicidad de las pocas cepas de E. coli que producen gastroenteritis infantil. (23)

b.- Grupos de Escherichia coli productores de gastroenteritis en el hombre.

El mecanismo de acción de los E. coli enteropatógenos se atribuía exclusivamente a las endotoxinas y fue a partir del descubrimiento reciente de toxinas hemolíticas, las neurotoxinas y la enterotoxinas que se han aclarado algunos conceptos. Los nuevos conocimientos sobre los mecanismos patógenicos en el cólera y en la --shigellosis por los estudios realizados en diversos animales y voluntarios humanos han demostrado que E. coli patógenos pueden ocasionar diarrea por dos mecanismos más: uno parecido al del cólera que está en relación con la producción de una enterotoxina y otro parecido a la disentería por invasión de la mucosa intestinal como lo hace la shigella. (14)

Por lo anterior, en la actualidad se reconocen tres grupos de colis productores de gastroenteritis en el hombre; toxigénicos (E-TEC), invasores y serotipos enteropatógenos (EPEC).

b.1- Escherichia coli toxigénica.

En 1970 se describió un brote de diarrea en una población militar británica estacionada en Medio Oriente, y se comprobó que --estaba causada por una cepa)148 de E. coli, que más tarde se comprobó producía enterotoxina. Esta fue la primera vez que se observó que los adultos estaban en peligro neto de desarrollo de enfermedad entérica causada por cepas de Escherichia coli.

La E. coli toxigénica elabora dos tipos de enterotoxina, una viable al calor (LT) llamada termolábil y otra resistente al calor (St) llamada termoestable. (16) Las dos toxinas se pueden presentar simultáneamente en el mismo germen (LT⁺, ST⁺), o bien sólo una de ellas (LT⁺, ST⁻ o LT⁻, ST⁺), dando origen a tres variedades de cepas capaces de producir diarrea: LR/ST, LT y ST. Las cepas LT/ST aparentan ser las más virulentas. (1)

Se ha demostrado que las cepas de E. coli toxigénicas de ori-

gen humano pertenecen a los grupos 0:6, 0:8, 0:15, 0:25, 0:26, ---
 0:55, 0:78, 0:111, 0:119, 0:125, 0:148, considerando los seis sero
 tipos siguientes como más frecuentes: 06:H14, 08:H9, 015:H11, ----
 025:H42, 078:H11 y 078:H12 (3, 16) Tabla # 5

b-1-1 Generalidades de la Enterotoxina termolábil (LT)

La toxina LT de E. coli es antigénica y de naturaleza proteí-
 nica; su actividad es semejante a la de la toxina del cólera y se
 inactiva bajo la acción del calor y los ácidos. Su acción provie-
 ne de la activación del sistema adenil-ciclasa en el epitelio del
 intestino delgado, la que a su vez determina un incremento en los
 niveles intracelulares de adenosin-mono-fosfato cíclico (AMC). --
 Estos cambios van acompañados de alteraciones profundas como son -
 disminución de la absorción de sodio y aumento de la secreción de
 clóro, modificaciones de la presión hidrostática a nivel de la lá-
 mina propia y aumento de la secreción de líquidos, lo que origina
 diarrea, pérdida de agua y electrólitos (1,3,15) Ver tabla # 6

Se ha logrado purificar la toxina LT sólo en forma parcial,
 se estima que tiene un peso molecular aproximado de 95,000 y está
 formada por unas cinco subunidades, de las cuales, como sucede en
 la membrana epitelial del intestino delgado, en tanto que otra ---
 subunidad penetra en la célula y origina el daño. No muestra ac--
 tividad en el colon. (1)

b-1-2 Cuadro clínico que presenta la Enterotoxina termolábil

El cuadro clínico que origina en el hombre es por lo general
 benigno y de corta duración; las evacuaciones son líquidas, sin --
 leucocitos ni sangre; algunas veces hay vómito al inicio del pade-
 cimiento, así como fiebre de poca intensidad; con frecuencia el --
 enfermo se queja de dolor abdominal leve o moderado. (1)

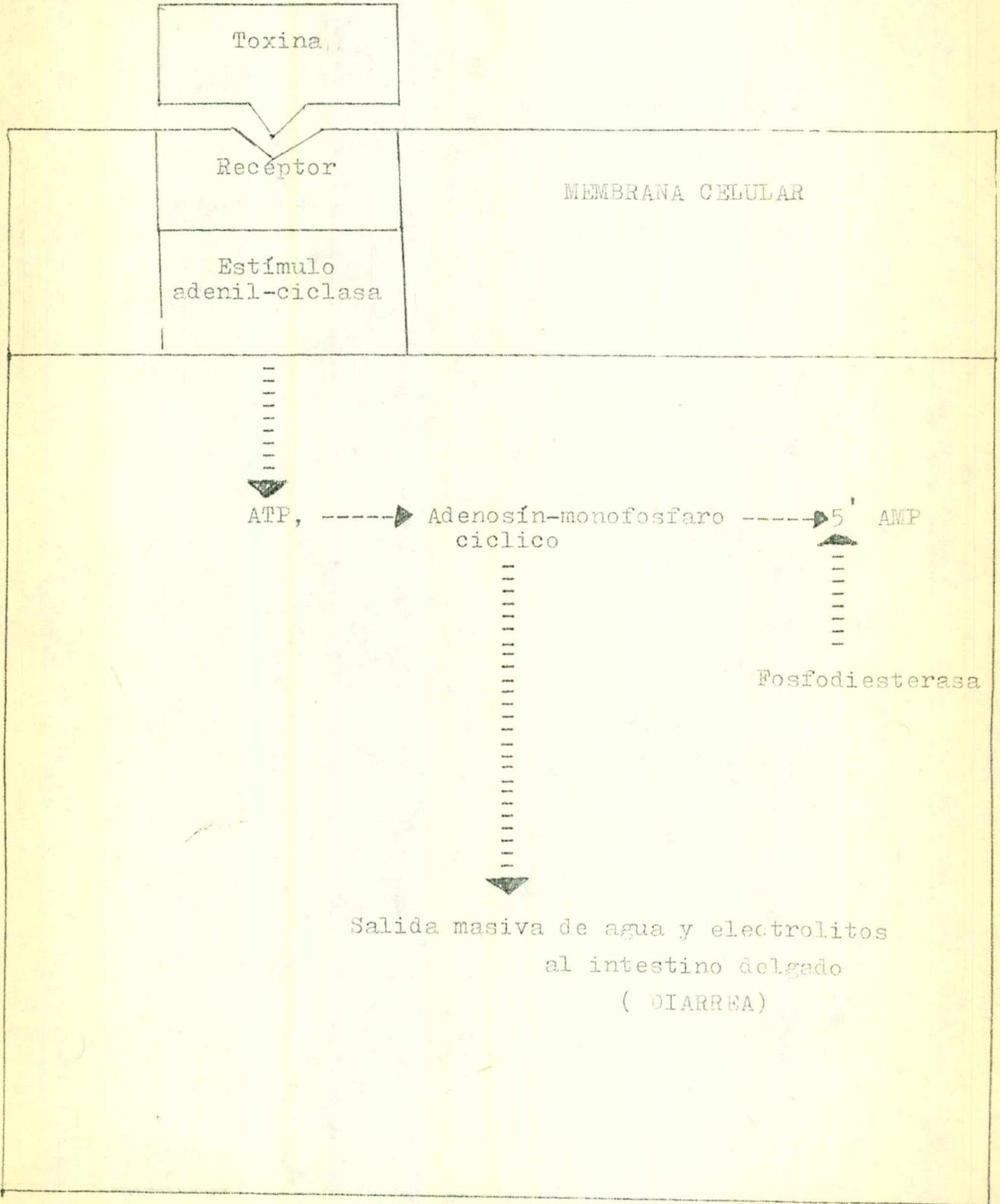
29

TABLA # 5

CARACTERÍSTICAS DE LAS ENTEROTOXINAS LT
(TERMOLABIL) Y ST (TERMORRESISTENTE) DE
ESCHERICHIA COLI.

Característica	LT	ST
Resistencia al calor (100°C, 15 minutos)	-	+
Resistencia a los ácidos	-	+
Naturaleza química	Proteínica	Polipéptido
Peso molecular	95,000	1900-5100
Acción	Activador de la adenilciclase	Activador de la guanilciclase
Secreción intestinal	Aparición lenta, duración prolongada	aparición rápida, corta duración
Anticuerpos neutralizadores		?
Localización genes	Plasmidios	Plasmidios

Acción de la enterotoxina de la Escherichia coli (termolábil) en el epitelio del intestino delgado.



b-1-3 Generalidades de la Enterotoxina termoestable

Se trata de un polipéptido resistente a la acción de ácidos, a las enzimas proteolíticas y al calentamiento a 60°C, por lo que se denomina termorresistente o St. Inicialmente su peso molecular se calculó entre 4,400 y 5,100 daltons; sin embargo, en fecha reciente se ha aislado un polipéptido con peso molecular de sólo --- 1,900 daltons, que conserva la actividad biológica.

La enterotoxina termoestable no tiene parentesco inmunológico con la toxina del cólera, aparentemente no es antigénica y en su acción es más rápida que la de la toxina termolábil, pero de duración más corta.

Quizás su acción secretora se vea explicada por la capacidad de esta toxina de activar el sistema de la guanilciclasa.

b-1-4 Cuadro clínico que presenta la Enterotoxina termolábil (LT).

El cuadro clínico que origina la toxina St es semejante al de la toxina LT, aunque posiblemente más benigno y de duración más corta, al igual que su periodo de incubación. (1,3)

Aunque los síntomas de diarrea en los infantes en México no pueden generalmente asociarse con la enterotoxina E. coli en evacuaciones, sin embargo, se da una edad conectada por la adquisición de anticuerpos de E. coli -resistentes al calor- del nacimiento a los tres años. (16)

b-1-5 Factores de colonización

Como ocurre con otros patógenos microbianos, la capacidad de un microorganismo para unirse al epitelio intestinal puede ser --

requisito primario de la infección entérica. (15) Para muchas cepas de E. coli el factor adhesivo es una estructura o apéndice filamentosos que se proyecta de la superficie de la bacteria, denominado "fibria o pili". Estas estructuras son de naturaleza proteínica, antigénica y termolábiles, no tienen relación alguna con los flagelos.

Para que la infección por colibacilos toxigénicos progrese -- hasta causar el padecimiento, es indispensable que el germen venza el peritaltismo intestinal, deteniéndose en el intestino delgado, en el cual se multiplica y elabora in situ la toxina.

Se conocen distintas clases de pili; sin embargo, sólo algunos de ellos poseen la propiedad de unirse específicamente a los receptores que existen en la mucosa intestinal.

El primero de estos pili fue descubierto en colibacilos patógenos para el cerdo; se trata del antígeno denominado K-88. Su papel en la patogenia de la infección quedó plenamente confirmado mediante la inoculación experimental del cerdo con tres variedades de E. coli: una que poseía los dos factores de virulencia (enterotoxina y antígeno K-88); otra, sólo la enterotoxina, y la tercera nada más el antígeno K-88; la primera había sido aislada del cerdo con la infección natural, en tanto que las dos últimas fueron obtenidas a través de manipulación genética. Como se ve en la tabla no. 11, los animales inoculados con la cepa original resultaron -- colonizados por el germen, y se observó su multiplicación en el intestino delgado, al mismo tiempo que los cerdos desarrollaban diarrea intensa; los animales inoculados con la cepa que tenía sólo el factor K-88 también fueron colonizados, pero apenas si presentaron diarrea intensa; los animales inoculados con la cepa que tenía sólo el factor K-88 también fueron colonizados, pero apenas si presentaron diarrea; en tanto que los inoculados con la cepa toxigénica, pero desprovistos del antígeno K-88, no fueron colonizados ni desarrollaron diarrea. En resumen, el proceso infeccioso requiere, primero, la colonización del intestino delgado, seguida de la producción de la enterotoxina.

Se han encontrado otros factores de adherencia en colibacilos tóxicos que infectan a los bovinos, el carnero y al cerdo mismo, entre ellos el K-99.

En cuanto a los colibacilos toxigénicos que atacan al hombre, se han descrito por lo menos dos factores de colonización, designados CFA/1 y CFA/11, los que igualmente parecen jugar un papel importante en la patología de estas infecciones, como ha sido demostrado por inoculaciones experimentales realizadas en humanos. Estos antígenos presentan en común con los pili K-88 y K-99, la propiedad de aglutinar los eritrocitos de ciertas especies animales, en presencia de manosa, característica que ha resultado útil en la diferenciación de los factores de colonización, de otros pili que no intervienen en el fenómeno de adherencia. Recientemente se ha encontrado en colibacilos toxigénicos un factor de adherencia a las células del epitelio bucal humano, distinto a los anteriores, que posiblemente también participe en el proceso de colonización del intestino.

Es interesante precisar que los diferentes factores de colonización descritos hasta el momento, poseen características antigénicas que confieren al germen especificidad de especie; es decir, las cepas de E. coli que los poseen atacan sólo a determinadas especies animales, o sólo al hombre, no obstante que la toxina proveniente de las distintas cepas aparentemente es idéntica. Los anticuerpos específicos contra estos pili son capaces de bloquear o impedir el fenómeno de adherencia de la bacteria a la mucosa del intestino delgado, y constituye quizás la fase más importante de la inmunidad en estos padecimientos.

Se realizan estudios tendentes al desarrollo de vacunas elaboradas con los propios pili, o con cepas de E. coli no toxigénicas que los posean, que puedan ser útiles en la prevención específica de la infección.

Mecanismo semejante de adherencia a las mucosas intervienen en la patogenia de distintas enfermedades producidas por otras bacterias, como el cólera mismo, en la infección por *Neisseria gonorrhoeae*, algunos estreptococos, las de vías urinarias originadas por *Escherichia coli*, etc. (1)

b-1-6 Genética de los factores de virulencia.

En la *Escherichia coli* los genes que determinan tanto la síntesis de las enterotoxinas (LT y ST), como la formación de los factores de colonización (K-88, K-99, CFA/I), se encuentran localizados en pequeños anillos de DNA extracromosómicos, pertenecientes a la familia de los plasmidios.

Se ha demostrado que los genes que codifican la síntesis de la enterotoxina ST, así como la formación del factor de colonización (CF/1), pueden estar integrados en un mismo plasmidio.

Al igual que sucede con los factores R que determinan la resistencia a los agentes antimicrobianos, este material genético extracromosómico es fácilmente transferible de una bacteria a otra, por lo menos en forma experimental; en la misma forma, se pierde también con facilidad. Usando métodos de conjugación entre cepas de *E. coli* toxigénicas y de *E. coli* desprovistas de factores de virulencia, por ejemplo *E. coli* K-12, es factible obtener híbridos, útiles en el estudio de los fenómenos de patogenidad de estos en el desarrollo de vacunas. (1)

b-1-7 Incidencia.

Aparentemente, las infecciones por colibacilos toxigénicos -- son más frecuentes en las regiones o poblaciones en donde prevalecen condiciones sanitarias deficientes, que en los países industrializados.

En los países en desarrollo, los colibacilos toxigénicos parecen representar el agente etiológico más común en el síndrome conocido como "diarrea del viajero" o "turista". En investigaciones realizadas en México se señala una incidencia de colibacilos toxigénicos, en este tipo de enfermos, que va del 38 al 72 por ciento, cifra muy superior a la de los agentes clásicos. Resultados semejantes se han obtenido en otras regiones poco desarrolladas, como Bangladesh, así como en las diarreas de la población adulta autoc-

tona de las mismas.

En niños mexicanos con diarrea aguda se han encontrado colibacilos toxigénicos con una frecuencia que varía entre 7 y 47 por ciento, en estudios llevados al cabo en diferentes años; fructuaciones igualmente apreciables (7 a 47 por ciento, en estudios llevados a cabo en diferentes años; fructuaciones igualmente apreciables (7 a 86 por ciento) en la incidencia de estos gérmenes en los niños con gastroenteritis han sido observadas en diferentes países, sin que se conozcan con certeza los factores que las originan. (1)

b-2 Generalidades sobre la Escherichia coli invasora

La Escherichia coli invasora al igual que las Shigellas penetran a la submucosa intestinal a través de las células epiteliales de las vellosidades al parecer mediante un proceso de pinocitosis y fagocitosis (14)

La capacidad invasora estudiada en cepas de shigella es una propiedad cromosómica, y no es probable que se transmita entre cepas bacterianas. La similitud de estos dos grupos de bacterias se aprecia por el hecho de que la mayor parte de aislados de E. coli invasor aglutinan en presencia de antisueros para Shigella. (15)

b-2-1 Cuadro clínico que produce la Escherichia coli invasora

La Escherichia coli invasora al penetrar el epitelio y multiplicarse en el interior de la pared intestinal, produce una inflamación local y destrucción de tejidos. Al principio, se da una fase de la enfermedad en el intestino delgado asociada con fiebre y diarrea acuosa seguida -en uno o dos días- por una afección del colon que se asocia con evacuaciones más frecuentes aunque de menor volumen, sangre y moco en las heces (disentería), y urgencias (tenesmo). Cuando la materia fecal se examina al microscopio se -

36
pueden ver muchos polimorfonucleares indicando que hay una colitis difusa. Asimismo, la lesión de la mucosa puede provocar pérdida de líquido y electrólitos a través del tracto intestinal. (3, 14, 16).

Por el momento no existen datos sobre los mecanismos responsables de las lesiones del epitelio producidas por la infección de tales colis invasores. (3)

b-2-2 Cepas de Escherichia coli capaces de invadir la mucosa intestinal.

Las cepas de E. coli capaces de invadir la mucosa intestinal pertenecen a los siguientes grupos: E. coli O:28, O:112, O:115, -- O:136, O:143, O:147, O:152 . (3)

Es importante hacer notar que la mayor parte de estos organismos comparten antígenos con uno u otro de los serotipos de Shigella, por lo que pueden confundirse. Además, algunos son inmóviles y presentan reacciones atípicas, como la fermentación lenta de la lactosa. Tal confusión quizás sea más frecuente de lo que se supone. (1, 3)

b-2-3 Incidencia de la Escherichia coli invasora.

Las infecciones por colibacilos invasores suelen ser raras tanto en el niño como en el adulto. Entre octubre y diciembre de 1971 hubo en Estados Unidos una serie de brotes causados por -- una cepa invasora de E. coli que había contaminado un queso francés importado. Excepto por esta epidemia, no se ha observado E. -- coli invasor como causa importante de diarrea en Estados Unidos. -- (15): En Brasil y Japón; se han descrito solo unos cuantos brotes de diarrea causada por estos gérmenes. (1)

b-2-4 Dosis mínima infecciosa de la E. coli invasora

En el caso de los colibacilos invasores, la dosis mínima infecciosa es bastante elevada (alrededor de 10^8 células), en comparación con la shigelosis (10^{1-2}). Probablemente la infección se transmite a través de los alimentos. (1)

b-3 Generalidades sobre la Escherichia coli enteropatógena

Durante las décadas de 1940 y 1950 hubo brotes de diarrea aguda en salas pediátricas de los hospitales y se identificaron cepas de E. coli tanto en heces como en sangre de las criaturas enfermas. Estos estudios llegaron a la conclusión de que algunos serotipos de E. coli eran causa de diarrea infantil. Estas cepas identificadas por serotipos han sido denominadas E. coli enteropatógenas o EPEC. (15)

Generalmente se admite que los serotipos clásicos de E. coli enteropatógenos no suelen producir toxinas termostables o termolábiles, ni son invasoras, según se valoran actualmente. Sin embargo estas cepas pueden ser virulentas para el hombre por uno o más mecanismos todavía mal conocidos. (15)

b-3-1 Incidencia de E. coli enteropatógena

De preferencia, los serotipos patógenos infectan a los niños menores de 6 meses de edad, en particular prematuros y recién nacidos; su papel en las diarreas del niño mayor o del adulto es dudoso, lo que ha dado lugar a controversias acerca de su participación en las gastroenteritis.

Con fines diagnósticos, estos serotipos deben buscarse principalmente en brotes de diarrea epidémica del recién nacido, que ocurran en salas-cuna u otros albergues de infantes, en donde en

Ocasiones se observa una mortalidad elevada, que puede llegar hasta el 50 por ciento o más de los niños que sufren el padecimiento (1).

En el departamento de Medicina del Hospital Infantil de México, al estudiar 10 pacientes con diarrea menores de 60 días de edad, se encontró en los coprocultivos realizados 31% de E. coli enteropatógenos, en el Hospital de Niños de Columbus, Ohio, en el período de 1961-1964 en 1972 admisiones de niños menores de 2 años con diarrea, encontraron 6.3% de E. coli enteropatógena.

b-3-2 Cepas de E. coli Enteropatógena

En diversos estudios realizados en México, han sido encontrados prácticamente todos los serotipos enteropatógenos descritos, aunque con predominio de E. coli 0111:K58 (B4), E. coli 0127:K63(B8), E. coli 0126:K71 (B6) y E. coli 0142:K86:H6. (1)

c.- Métodos de laboratorio para el Diagnóstico de E. coli toxigénica

No se dispone por el momento de métodos de diagnóstico que estén al alcance del laboratorio ordinario. En laboratorios de investigación o centros especializados, se utilizan tres grupos de pruebas, útiles en la detección de colibacilos toxigénicos, basadas en la acción in vivo de las toxinas LT y ST en diversos modelos animales, en la actividad in vitro de la toxina LT en cultivo de tejidos, así como en la capacidad antigénica de la toxina Lt en cultivo de tejidos, así como en la capacidad antigénica de la toxina LT (Tabla # 7) (1)

PRUEBAS MAS COMUNES UTILIZADAS EN LA DETECCION DE
E. COLI TOXIGENICA

Prueba	LT	ST
<u>MODELO DE ANIMALES</u>		
Conejo de asas ligadas (íleon)	+(18 horas)	+(6 horas)
Conejo recién nacido (intragástrica)	+	+
Conejo intradérmica	+	-
Ratón recién nacido (intragástrica)	-	+
Rata perfusión in vivo (yeyuno)	+	+
<u>Cultivo de tejidos:</u>		
Y1 (tumor adrenales ratón)	+	-
CHO (ovario Hamster chino)	+	-
VERO (riñón mono verde africano)	+	-
<u>Serodiagnóstico:</u>		
Imunohemólisis pasiva E		
Inhibición de la inmunohemólisis	+	-
RIA (radio inmunoensayo)	+	-
ELISA (inmunoabsorbencia enzimática)	+	-

c-1 Pruebas in vivo (Toxina LT y ST)

El modelo clásico consiste en la inoculación intraluminal de pequeños segmentos ligados de intestino delgado, en conejos vivos, del cultivo del germen que se supone elabora toxina, o bien, del filtrado o sobrenadante del cultivo (libre de células), o la toxina purificada. Cuando en la luz de estas asas se deposita la bacteria, los sobrenadantes de los cultivos o la toxina pura, se produce la secreción de agua y electrólitos, llenándose de líquido el asa, la que toma la apariencia de una salchicha pronta a estallar. En el caso de la toxina LT es más lenta, siendo necesario esperar alrededor de 18 horas, antes de sacrificar el animal. Es necesario incluir controles negativos y positivos, alternándolos en los distintos segmentos. El calentamiento de la preparación destruye la actividad de la toxina LT, lo que sirve de prueba diferencial con la toxina ST.

El modelo anterior se puede remplazar con el uso del conejo recién nacido (2 a 3 días de edad), inoculando por la vía intragástrica: sin embargo, esta técnica no se ha generalizado.

Se cuenta con un modelo experimental capaz de detectar específicamente la presencia de la toxina ST, que consiste en la inoculación intragástrica del ratón recién nacido (1 a 4 días), con (0.1) de el filtrado o sobrenadante, libre de células, del cultivo que se desea probar; la toxina origina la acumulación de líquido en el intestino. Los animales se sacrifican unas 2 a 4 horas más tarde, se practica la resección del tubo digestivo completo, y se pesan por separado éste y el resto del cuerpo del animal; si la relación entre los dos pesos es de 0.09, o mayor la prueba es positiva. Por lo general, se utilizan cuatro ratones en cada prueba y se calcula la relación del promedio de los pesos del intestino y el cuerpo de los cuatro animales. (15, 16)

Otro método más sencillo consiste en la inoculación intradérmica en el conejo de los sobrenadantes de los cultivos que se supone contienen la toxina termolábil. Con fundamento en esta propie-

dad de la toxina, se ha desarrollado una prueba en este animal, -- que sirve para detectar tanto la presencia de la toxina, como la -- capacidad de neutralización de la misma por la antitoxina corres-- pondiente.

Un modelo experimental bastante complejo consiste en la perfu-- sión in vivo del yeyuno de la rata, con preparaciones parcialmente purificadas de las toxinas (LT, ST u otras), por medio del cual es posible estudiar, en forma cuantitativa, la acción de las mismas -- sobre el transporte de agua y electrólitos a través de la pared in-- testinal.

c-2 Pruebas in vitro (Toxina LT)

Un método más sencillo, ampliamente usado, se basa en la de-- tección de la acción de la toxina LT en ciertas líneas de cultivo de tejidos, como las células adrenale Y-1, las CHO y las VERO; las dos primeras han sido las mejor estudiadas. La inoculación de es-- tas líneas de tejido con preparaciones de toxina parcialmente puri-- ficada, origina cambios característicos en la morfología de las -- células, así como en la secreción de esteroides. Los dos efectos se utilizan en estudios cualitativos y cuantitativos; pueden ser -- neutralizados por la antitoxina específica. Se observa buena co-- rrelación con los resultados obtenidos con las líneas Y-1 y CHO, y las asas ligadas de conejo. (1) (3) (16)

La prueba con células adrenales Y-1 ha sido adaptada a un sig-- tema de minucultivo, que resulta muy práctico como prueba prelimi-- nar para la identificación de la toxina LT.

c-3 Pruebas simplificadas

Con fines prácticos, se ha estudiado la posibilidad de probar

una mezcla de 5 a 10 cepas o colonias de E. coli, en vez de hacerlo en forma individual, tanto con las células adrenales, para la toxina LT, como en el ratón recién nacido, para la toxina ST, con resultados que parecen ser satisfactorios. (1)

c-4 Métodos Serológicos (Toxina LT)

Como anteriormente se mencionó, de las dos enterotoxinas conocidas de E. coli, sólo la LT es antigénica, por lo que la aplicación de inmunodiagnosís se limita a ésta.

Un buen número de pruebas serológicas ha resultado útil en el estudio de la toxina LT, tanto para la detección de las cepas toxifénicas aisladas de las heces, como para demostrar su presencia directamente en las evacuaciones de los enfermos; sirve también -- para estimar la cantidad de antitoxina que estos últimos desarrollan.

Se las pruebas que se mencionan en la tabla 10, la ELISA es, en apariencia, la más práctica. Sin embargo, hasta el momento todos los sistemas serológicos presentan limitaciones, derivadas de la falta de métodos sencillos para la obtención y purificación de la toxina que sirva como antígeno, así como del antisuero correspondiente y la estandarización de los mismos. (15)

c-5 Determinación del factor de colonización (FC)

Como ocurre con otros patógenos microbianos, la capacidad de un microorganismo para unirse al epitelio intestinal puede ser requisito primario de la infección entérica. Para muchas cepas de E. coli el factor adhesivo es una estructura o apéndice filamentososa que se proyectan de la superficie de la bacteria, denominado "fibria" o "pili". Estas estructuras son de naturaleza proteínica, antigénicas y termolábiles, no tienen relación alguna con los flagelos. (1) (15)

Se han descrito varios métodos aplicables en la detección y estudio de los factores de colonización, como son la hemaglutinación de eritrocitos humanos del grupo "A", la aglutinación de los cultivos de E. coli con antisueños específicos y la adherencia de la bacteria a células epiteliales de intestino humano (cultivo de tejidos, línea HIE).

La técnica ELISA ha sido usada con éxito en la titulación de los anticuerpos circulantes contra el FC, presente en individuos infectados con colis toxigénicos. (1)

c-6 Determinación del serotipo

No se ha encontrado una relación definida entre la producción de enterotoxina y la composición antigénica de E. coli, por lo que, con fines prácticos, por lo menos por el momento, no ha sido útil en su diagnóstico el método serológico clásico para la clasificación de los colibacilos.

d.- Métodos del laboratorio para el diagnóstico de E. coli -- invasora.

d-1 Prueba de Serény

Para demostrar que un germen (E. coli o Shigella) aislado de las heces de pacientes con disentería bacilar es invasor, la prueba más segura es la de Serény, la cual consiste en poner en el saco conjuntival de un cobayo unas gotas de suspensión concentrada de la cepa recién aislada. Si la prueba es positiva, en un periodo de uno a siete días, el animal desarrolla una queracoconjuntivitis purulenta importante. Una vez aisladas, las bacterias pierden su propiedad invasora con relativa rapidez, por lo que la prueba debe realizarse antes de un mes. (1)

d-2 Cultivo de tejidos

Otra de las pruebas es el cultivo de tejidos (heLa o HE_p-2), en los que se observa la penetración de las células por el germen (3)

d-3 Métodos serológicos

Los métodos serológicos habituales usados en la clasificación de E. coli, presentan limitaciones para el diagnóstico de los colis invasores, ya que no hay una relación plena entre el poder invasor y el serotipo. (1)

Las infecciones por colis invasores se presentan con menor -- frecuencia que las de otras bacterias enteropatógenas, por lo que en la práctica su importancia es quizá reducida. (3)

e.- Métodos de laboratorio para la identificación de E. coli Enteropatógena.

En años recientes se ha discutido mucho la significación de E. coli identificado en serotipos (las cepas EPEC). Algunos autores consideran que establecer los tipos tiene poco valor para conocer el poder patógeno de los E. coli aislados. Otros sostienen firmemente que estas cepas son causas importantes de enfermedad humana, ya que guardan relación con el 10 al 20 por 100 de diarreas pediátricas, y por cuanto las cepas más comunes identificadas serotípicamente se han aislado de las heces y la sangre de lactantes durante brotes aparecidos en salas pediátricas. (15)

f.- Inmunidad.

Observaciones epidemiológicas indican que los individuos expuestos a la infección natural por colibacilos toxigénicos adquieren cierta resistencia, al mismo tiempo que muestran el desarrollo de anticuerpos humorales específicos. Se desconoce el grado y duración de esta inmunidad. En inoculaciones experimentales en animales, así como en voluntarios humanos, se ha demostrado que tanto la toxina LT, como los factores de colonización, inducen la formación de anticuerpos protectores. No obstante, falta precisar cuáles son de estos anticuerpos responsables de la inmunidad natural, aunque hay indicios de que la resistencia local provocada por los anticuerpos secretores IgA es la más importante.

Por lo que se refiere a los colibacilos invasores, si se toma en consideración lo que ocurre en la shigelosis, sería de esperarse que la inmunidad sea homóloga o específica de tipo.

Se cuenta con pocos estudios relacionados con los mecanismos de inmunidad que tienen lugar en las infecciones originadas por los serotipos enteropatógenos de E. coli; sin embargo, se sabe que el individuo desarrolla anticuerpos contra los antígenos O, K y H. La protección que se observa parece ser de tipo homólogo.

g.- Otros mecanismos patogénicos.

Recientemente ha sido descrito un nuevo mecanismo de enteropatogenicidad, que pudiera ser de gran importancia práctica. La cepa de Escherichia coli conocida como RDEC-1, perteneciente al serotipo O15, da origen, en el conejo, a un síndrome diarreico grave. El germen no es enterotoxigénico ni invasor, pero posee un sistema -- por medio del cual es capaz de destruir las microvellosidades intestinales, a nivel del íleon terminal, ciego y colon del animal,

para después adherirse estrechamente a su superficie, sin invadir el epitelio. Hay inflamación ligera y edema de la lámina propia. Una patología semejante ha sido observada en un niño infectado con *E. coli* O125ac:H21, que corresponde a uno de los serotipos enteropatógenos conocidos.

Estos hallazgos abren nuevos caminos, útiles en el esclarecimiento de las numerosas lagunas que todavía existen en el conocimiento de la etiología y fisiopatología de las diarreas infecciosas. (1)

h.- Receptores específicos

Para que la interacción entre el huésped y los distintos elementos de virulencia de los microorganismos como las enterotoxinas y los factores de colonización, se realice es indispensable que en la membrana de la célula epitelial del primero existan receptores capaces de reaccionar de manera específica con los factores capaces de reaccionar de manera específica con los factores de virulencia. Se trata de un fenómeno biológico general que, respecto a los mecanismos patogénicos de las enfermedades infecciosas, apenas empieza a conocerse; es éste el caso del cólera y los colibacilos toxigénicos. Su esclarecimiento permitirá comprender mejor la patogenia de estas infecciones, y se podrá entonces abordar en forma más racional su posible prevención y tratamiento. (1)

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Jorge Olarte
"Avances en el conocimiento de la etiopatogenia de las diarreas"
Editorial: Academia Nacional de medicina
Septiembre de 1981
Pags: 8, 13, 19-34

- 2.- Dr. Jorge Larracilla Alegre
"Síndrome diarreico infeccioso agudo". Etiología y epidemiología
Revista Mexicana de Pediatría
Vol, 43, mar-abr., 1974
Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional del I.M.S.S.
Pag. 133, 134, 136, 138-139, 140, 141

- 3.- "Enfermedades diarreicas en niños"
Cuarta edición
Hospital Infantil de México
México 1977
Pag. 73, 74, 75, 76, 77, 87, 88, 201, 204

- 4.- Bennington. Fouty. Hougie
"El laboratorio en el diagnóstico clínico"
La prensa Médica Mexicana
Primera edición en español, (1976)
Pag 91

- 5.- Jorge Olarte
"Nuevos conocimientos en relación con la etiopatogenia de las diarreas"
Boletín Médico del Hospital Infantil
Vol XXXI, mayo-junio, 1976
Pag. 595, 596

- 6.- Dr. Roger M. Barkin
"Diarrea infecciosa aguda en niños"
Medicina de Postgrado
Vol 8, No. 11, Noviembre 1980
Pag. 16

- 7.- Dr. Francisco Resano Pérez y Q.B.P. Vilma Zúñiga Tellería
"Bacterias enteropatógenas en el Hospital de Pediatría del
I.M.S.S. en la ciudad de México (Experiencia de 11 años)"
Revista Mexicana de Pediatría
Vol 43, marzo- abril, 1974

- 8.- Dr. Herbert L. DuPont
"Diarrea en Viajeros Estadounidenses que van a America Latina"
Editado por: Clínicas médicas de norteamérica
Vol 5 / 1977
Pag 959

- 9.- Memorias del décimo congreso internacional de Química Clínica
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica A. C.
Febrero de 1978. México D. F.
Pag 1-3

- 10.- Arturo Vargas Origel y Luis Jasso Gutiérrez
"Riesgo de adquisición de E. coli enteropatógena y su rela--
ción con la diarrea del recién nacido"
Salud Pública de México
Vol XXI. Epoca V. Número 2
marzo-abril de 1979
Pag 181, 182, 184

- 11.- Dr. Félix Abdo Bassol
"Diarrea en el recién nacido"
Revista Mexicana de Pediatría
Vol. 43, marzo-abril, 1974
Pag. 164
- 12.- Dr. Julio Manuel Torroella
"Gastroenteritis"
Actualización médica continua, "Centro científico de Richter"
Año II, Número 4
Pag. 27, 45, 46
- 13.- Dr. Julio Manuel Torroella
"Gastroenteritis: el fantasma de la infancia"
Atención Médica
Mayo de 1979
Pag. 45
- 14.- Dr. Jorge Larracilla Alegre, M.S.P. y Dra. Nelly Núñez
Septicemia de origen gastrointestinal
Revista Mexicana de Pediatría
Vol 43, marzo- abril, 1974
pag 191
- 15.- Directores huéspedes (DR. Martín C. McHenry, Dr. Phillip I. Lerner)
"Enfermedades infecciosas"
Editado por: Clínicas médicas de norteamérica
Vol 5/ 1977
Pag 951, 952, 954, 955

- 16.- Dr. Gonzalo Gutiérrez
"Etiología de la Diarrea infecciosa aguda en niños de la
ciudad de México"
Publicado por: "subdirección General Médica" -Jefatura de
los servicios de enseñanza e investigación del I.M.S.S.
México 1978
Pag 11, 12
- 17.- Servicio Informativo "Merck"
Número 9
México, D. F.
- 18.- "Laboratory approaches to the identification of
enterobacteriaceae"
"Human Pathology"
Volumen 7
Number 2
March 1972
Pag. 152
- 19.- Lynch Raphael
Metodos de laboratorio
Editorial Interamericana S. A. de C. V.
Segunda Edicion
Pags 953-955
- 20.- Pelczar, Reid, Chan
Microbiología
Cuarta edición
Editorial McGraw-Hill
Pag 525
- 21.- B. D. Davis
Tratado de microbiología

Editorial Salvat S. A.
Reimpresion de 1977
Pag. 787, 788

22.- Ernest Jawetz
Joseph L. Melnick
Edward A. Adelberg
"Microbiología Médica"
Editorial el Manual Moderno, S. A.
Septima edición
Pag 787

23.- Todd-Sanford
"Diagnóstico Clínico por el Laboratorio"
6ª Edición
Editorial Salvat
Pag 1004