UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA

"AISLAMIENTO DE BACTERIAS ENTEROPATÓGENAS EN CITOLOGIA DE MOCO FECAL POSITIVOS EN NIÑOS MENORES A 5 AÑOS QUE ASISTEN A LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005"

POSTULANTE: UNIV. MARIA JULIA RODRÍGUEZ ORELLANA
ASESORES: Dra. MARCELA HERRERA
Dra. ROSARIO MAYDANA

TESINA DE GRADO PARA OPTAR LA LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA

LA PAZ – BOLIVIA
2005

INDICE

Página

1. INTRODUCCIÓN 1
2. JUSTIFICACIÓN 3
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 4
4. OBJETIVOS 5
   - 4.1. OBJETIVO GENERAL 5
   - 4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 5
5. DISEÑO TEORICO 6
   - 5.1. MODELO TEORICO 6
6. MARCO TEORICO 7
   - 6.1. DEFINICIÓN DE DIARREA 7
   - 6.2. EVOLUCIÓN DE LA DIARREA 7
   - 6.3. MECANISMOS FISIOPATOLOGICOS DE LA DIARREA 8
   - 6.4. CLASIFICACIÓN DE LA DIARREA 9
     - 6.4.1. DIARREA ACUOSA 10
     - 6.4.2. DIARREA CON SANGRE 13
   - 6.5. ETIOLOGÍA 14
   - 6.6. BACTERIAS QUE CAUSAN DIARREA 14
     - 6.6.1. Escherichia coli 14
     - 6.6.2. Salmonella 18
     - 6.6.3. Shigelas 20
     - 6.6.4. OTRAS BACTERIAS CAUSANTES DE DIARREA 22
   - 6.7. METODOS DE DIAGNOSTICO 23
     - 6.7.1. INSPECCIÓN DE LAS HECES 23
     - 6.7.2. EXAMEN CITOLÓGICO DEL MOCO FECAL 24
     - 6.7.3. COPROCULTIVO 26
     - 6.7.4. IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA 27

6.8. DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO 28
7. MARCO REFERENCIAL 31
8. MARCO CONCEPTUAL 33
9. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO 34
9.1. DESCRIPCIÓN DEL AMBITO DE ESTUDIO 34
9.2. DESCRIPCIÓN DEL AMBIENTE DE TRABAJO 34
10. DISEÑO METODOLÓGICO 35
10.1. UNIVERSO 35
10.2. POBLACIÓN 35
10.3. MUESTRA 35
10.4. TIPO DE INVESTIGACIÓN 35
10.5. RUTA CRITICA 36
11. MATERIAL Y METODO 38
12. RESULTADOS 42
13. DISCUSIONES 45
14. CONCLUSIONES 47
15. RECOMENDACIONES 48

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANEXOS

INTRODUCCION

La gran mayoría de las infecciones gastrointestinales resultan de la ingestión de una dosis suficiente del agente etiológico que permita atravesar las barreras protectoras del organismo como son: la barrera ácida del estómago, mucosa intest inal, motilidad intestinal, flora microbiana normal, los sistemas inmunes celulares y humorales, y los tejidos linfáticos asociados. Los síntomas pueden ser extremadamente severos en individuos que tengan comprometidos una o más de estas barreras.

La diarrea es causada por un gran número de agentes infecciosos entre los que se incluyen en orden de frecuencia virus, bacterias y protozoarios, estos agentes se transmiten por vía fecal - oral, pero existe por lo menos un agente que es el rotavirus que se trans mite por aerolización.

Esta enfermedad continua siendo uno de los principales problemas de salud de la humanidad y un azote para la inmensidad de la población infantil que vive en países del tercer mundo, donde las condiciones sanitarias favorecen su pre sentación, es así que constituye una de las consultas mas frecuentes en los servicios de consulta externa, urgencias y consultorios de médicos pediatras.

Bajo estas circunstancias los mecanismos de diagnóstico como ser : [21]

El coprocultivo cumple con la metodología adecuada para identificar las bacterias enteropatógenas, además contribuye al conocimiento de la etiología de la diarrea aguda infantil. [26]

---

[21] Pedro Sierra Rodríguez;"ACTUALIZACIÓN DEL CONTROL DE LA ENFERM EDAD DIARREICA AGUDA EN PEDIATRIA, PREVENCIÓN, DIAGNOSTICO Y TRTAMIENTO"
http://www.en colombia.com/vol33n3-pediatria-actualización2.html

[26] . COPROCULTIVO
http://www.sampac.es/index.html

Es por ello que al haberse reconocido la presencia de leucocitos en las evacuaciones es que debemos sospechar de una infección y confirmarla mediante el uso del coprocultivo, para así dar un verdadero diagnóstico en una enfermedad diarreica aguda.

Toda esta información acerca de las variables de leucocitos presentes en heces líquidas y semilíquidas, género y bacterias aisladas en el coprocultivo en niños menores a 5 años que asisten a la consulta de pediatría ha sido procesada en el periodo de noviembre del 2004 a enero del 2005 en el Hospital La Paz.

JUSTIFICACIÓN

Por datos bibliográficos sabemos que en Bolivia cada año se presentan informes de morbimortalidad causadas por infecciones diarreicas en niños menores de 5 años, es por ello que constituye un serio problema de salud pública debido sobre todo a la deficiencia en higiene y salubridad de nuestro país.

Los problemas económicos, los escasos recursos, desnutrición, las malas condiciones de vivienda hacen que en la mayoría de los pacientes no solo favorezcan la presencia del cuadro diarreico sino que hacen difícil la aplicación de métodos de dia gnóstico de utilidad reconocida.

El propósito de este trabajo es el de realizar la identificación de las bacterias aisladas mediante coprocultivo en diarreas líquidas y semilíquidas con presencia de leucocitos a predominio de polimorfonucleares en niños menores a 5 años.

Dada la naturaleza autolimitada de la mayoría de los casos de diarrea aguda, en la práctica clínica se manejan esquemas que suelen incluir la prescripción de fármacos antidiarreicos antiparasitarios y antibióticos poco justificados, de ahí la importancia de contar con un protocolo basado en la presencia de leucocitos en heces que sirva de herramienta para limitar mas que para inducir la prescripción de fármacos

.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Identificar bacterias enteropatógenas media nte coprocultivo en deposiciones diarreicas con presencia de leucocitos en niños menores a 5 años que asisten a consulta de Pediatría Hospital La Paz, en el periodo de noviembre del 2004 a enero del 2005.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

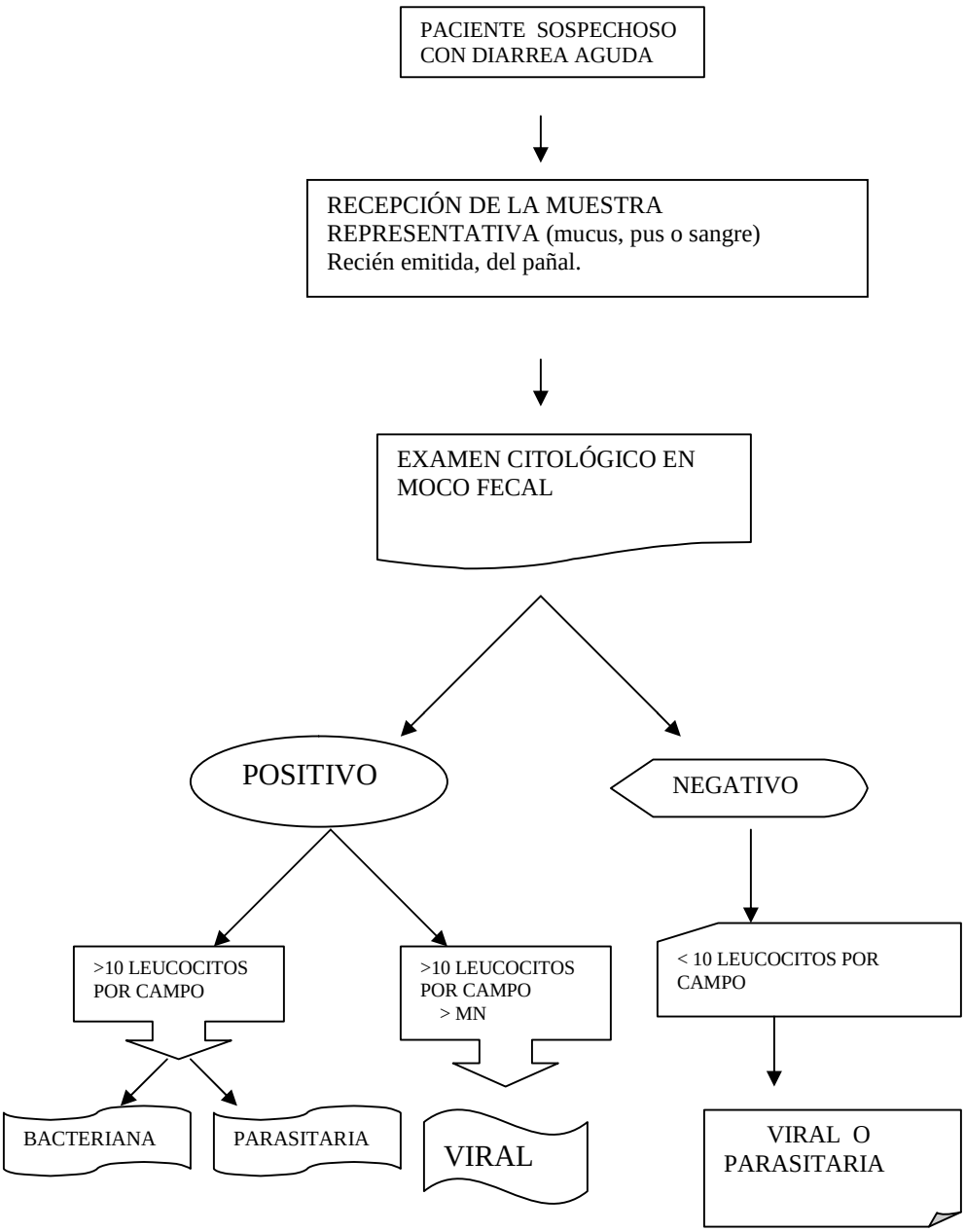
- Determinar el género que se presenta en el mayor número de casos de diarrea aguda.

- Identificar los tipos de bacterias causantes de diarrea aguda en niños con diagnóstico de diarrea

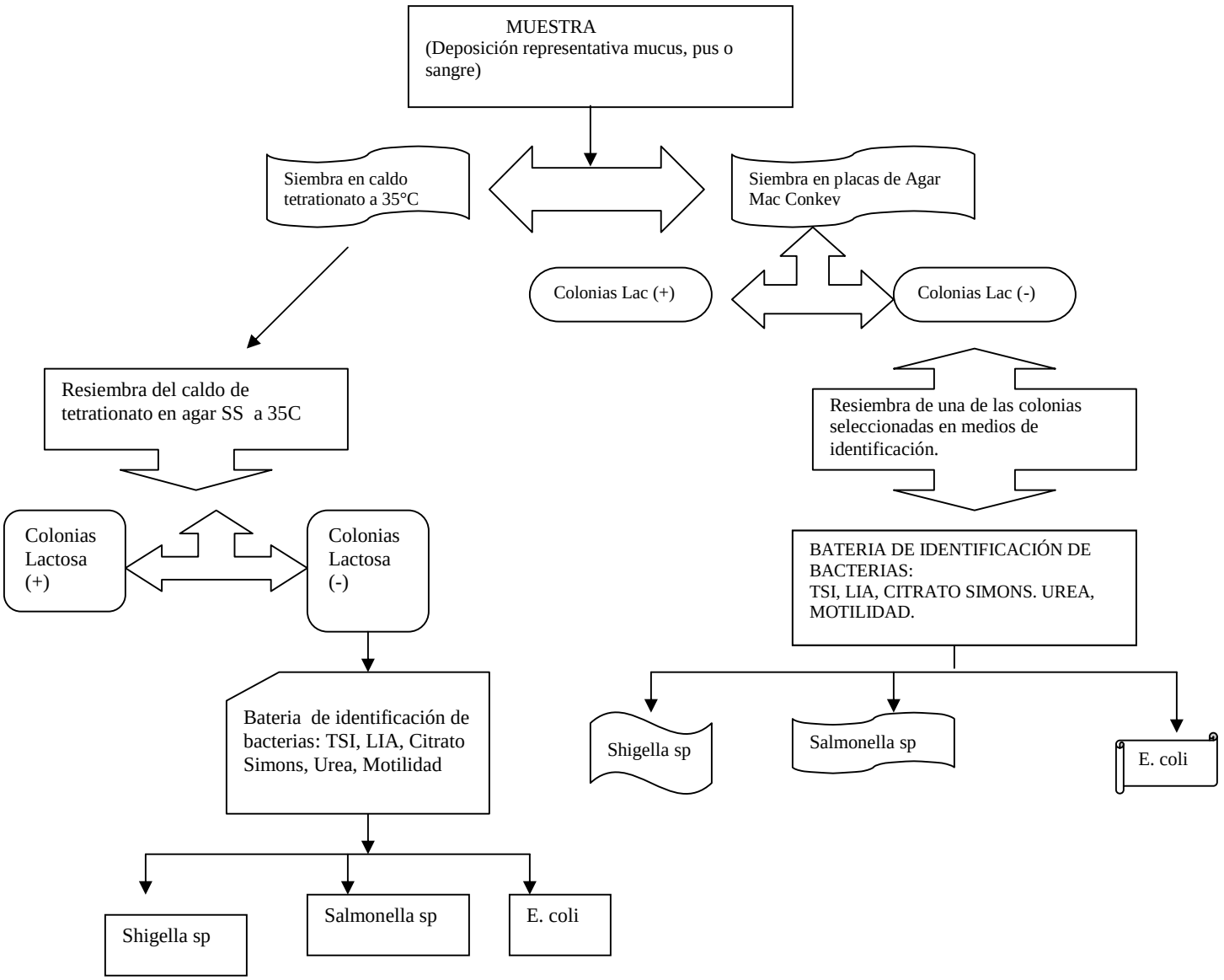
- Determinar la correlación entre la cantidad de leucocitos por campo observado en diarreas líquidas y semilíquidas y el desarrollo positivo de bacterias aisladas en coprocultivos

RUTA CRÍTICA

- Examen microscópico de leucocitos en heces:



❖ Estudio bacteriológico: coprocultivo



MATERIAL Y METODO

- **Materiales, equipo y reactivos**

Material:

- Porta objetos
- Cubreobjetos
- Tubos de ensayo
- Cajas petri
- Matraces
- Probetas
- Frascos para la recolección de la muestra
- Aplicadores
- Marcadores
- Papel madera

Reactivos:

- Solución de yodo
- Solución de azul de metileno
- Agua destilada
- Solución salina
- Medios de cultivo: Agar MacConkey
  Agar Salmonella – Shiguella
  TSI
  LIA
  UREA
  Citrato Simons
  Caldo de Tetrationato

Equipos:

- Microscopio
- Balanza analítica
- Autoclave
- Estufa

❖ **Método**

La metodología de estudio esta dada por 2 métodos: cuantitativa y experimental.

a) Método cuantitativo*:* Esta dado por las siguientes técnicas:

📖 Encuesta*:* Esta técnica nos permitió recabar la siguiente información:

Datos generales: Nombre, fecha de nacimiento, edad y género.

Datos clínicos: Presencia de fiebre, vómitos, días con diarrea antes de la consulta, número de deposiciones por día.

📖 Libreta de laboratorio.- Tuvimos la siguiente información:

Consistencia de las heces, presencia de moco en las heces, presencia de sa ngre macroscópica, número de leucocitos por campo observado, número de eritrocitos por campo observado, porcentaje de polimorfonucleares.

b) Método experimental*:* Utilizamos las siguientes técnicas:

Examen citológico en moco fecal : Las muestras fecales se recogieron directamente en recipientes limpios y secos cerrados herméticamente.

METODO

Una vez obtenidas las muestras se realizó la inspección de las heces, se busco en la materia fecal la presencia de moco o flema.

Sobre un portaobjetos se realizó la extensión de la muestra, la cual debe tener un grosor apropiado, es decir si es demasiado espesa el enfoque será difícil y quizá no se visualicen bien los leucocitos. Para este tipo de preparación se utilizó:

Solución Salina: Se colocó una gota de solución salina en el portaobjetos y con un aplicador se levanta la parte del moco de la materia y se mezcla con la solución salina, luego se coloca el cubreobjetos y se observa al microscopio con objetivo 40x, con el propósito de visualizar parásitos.

Solución de Yodo: Se colocó una gota de solución de yodo en el portaobjetos y con el aplicador se levanta la parte de moco fecal y se mezcla con la solución de yodo, se coloca con el cubreobjetos y se observa al microscopio con objetivo 40x.

Tinción con azul de metileno: Al igual que las dos técnicas anteriores el procedimiento es el mismo, esta técnica nos ayudó a diferenciar a los leucocitos en sus núcleos.

Coprocultivo: Si la determinación de leucocitos era mayor o igual a 10 leucocitos por campo observado en 100 campos, por lo que la muestra se considero positiva y se llevo a cultivo.

METODO: Para hacer el coprocultivo se tomo las partes de la materia fecal que nos llamo la atención por su aspecto sanguinolento o mucoso, pues es allí donde abundan los microorganismos patógenos.

La inoculación de la muestra se efectuó primero en agar Mac Conkey y Caldo de Tetrationato, se incubo a 35°C durante 18 - 24 horas, pasado este tiempo se observó en las placas de agar Mac Conkey el desarrollo de colonias lactosas (+) y lactosas (-), se utilizó para el estudio las lactosas negativas las cuales se resiembran en la batería de identificación Agar triple azúcar hierro (TSI), Agar sulfuro indol motilidad (SIM), Caldo Urea, Citrato Simons (CS), Agar hierro lisina (LIA). Paralelamente se realizó la resiembra del medio de enriquecimiento que es el Caldo de Tetrationato en placas de agar SS mediante la técnica de agotamiento para obtener colonias aisladas, estas placas fueron incubadas a 35°C con el mismo tiempo. En estas placas se vio el crecimiento de colonias lactosa positiva y colonias lactosa negativa.
De esta ultima siembra se aislaron colonias Lactosa negativas, lactosa negativa sulfhídricas positivas. Cada una de estas colonias se resembró en TSI, LIA, SIM, Caldo urea; Citrato Simons.

Una vez interpretados los resultados de esta serie de reacciones bioquímicas se pudo identificar a: *Shigella sp, Salmonella sp, y Escherichia coli.*

RESULTADOS

Al finalizar el estudio se tuvo un total de133 muestras de las cuales 42 muestras resultaron positivas en el examen citológico en moco fecal.

Como parámetro para considerar la muestra positiva se tomo mayor o igual a 10 leucocitos por campo, en 100 campos observados (cuadro 1) .

En el cuadro 2 se observa las bacterias mas importantes que se aislaron son: *Shigella sp, Salmonella sp, Escherichia coli.*

De acuerdo a las variables tomadas en cuenta el género en el que predomino la enfermedad fue el sexo masculino con 25 pacientes del total de 42 pacientes y el sexo femenino con 17 pacientes del mismo total (Cuadro 3) .

La presencia de bacterias aisladas en el coprocultivo con la presencia de leucocitos encontrados por campo observado en el examen citológico en moco fecal positivo es mayor o igual a 10 leucocitos por campo

El estudio de las heces nos permitió identificar al parásito Entamoeba hystolítica.

CUADRO 1 CORRELACION DE LAS MUESTRAS POSITIVAS CON LEUCOCITOS POR CAMPO OBSERVADO EN DEPOSICIONES LIQUIDAS Y SEMILÍQUIDAS EN NIÑOS MENORES A 5 AÑOS QUE ACUDEN A LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DE 2005

NÚMERO DE MUESTRAS	LEUCOCITOS POR CAMPO
14	10 –15 leucocitos por campo
11	15 – 20 leucocitos por campo
2	20 – 30 leucocitos por campo
3	30 – 60 leucocitos por campo
7	Mas de 100 leucocitos por campo
5	Leucocitos campo cubierto

CUADRO 2 : IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ENCONTRADAS EN MUESTRAS DIARREICAS SEMILÍQUIDAS Y LIQUIDAS POSITIVAS DE NIÑOS MENORES A 5 AÑOS QUE ASISTEN A LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005

NUMERO DE MUESTRAS	BACTERIAS AISLADAS
3	*Shigella sp*
1	*Salmonella sp*
9	*Escherichia coli*

CUADRO 3: DETERMINACION DE PACIENTES CON MUESTR AS DIARREICAS POSITIVAS POR GENERO QUE FUERON ATENDIDOS EN LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005

SEXO	NUMERO DE PACIENTES
Masculino	25
Femenino	17

CUADRO 4: DETERMINACIÓN DE BACTERIAS AISL ADAS EN EL COPROCULTIVO EN MUESTRAS DIARREICAS LIQUIDAS Y SEMILÍQUIDAS CON PRESENCIA DE MAS DE 10 LEUCOCITOS POR CAMPO OBSERVADO EN NIÑOS QUE ASISTIERON A LA CONSULTA DE PEDIATRIA DEL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005

NUMERO DE MUESTRAS	BACTERIAS AISLADAS	LEUCOCITOS POR CAMPO
3	*Shigella sp*	Leucocitos campo cubierto
9	*Escherichia coli*	Mas de 100 leucocitos por campo
1	*Salmonella sp*	30 – 60 leucocitos por campo

.

DISCUSIONES

La presencia de leucocitos en el moco fecal nos oriento hacia la posible etiología de la diarrea y al realizar el coprocultivo en los casos donde la presencia de leucocitos en muestras diarreicas era positivo se aislaron las siguientes bacterias: *Salmonella sp, Shigella sp, Escherichia coli,* donde mostró una evidente asociación con la presencia de leucocitos y el aislamiento de estas bacterias. Según literatura esta asociación ha sido descrita en los estudios realizados por la Dra. Mercedes Fernández García y colaboradores en el año 2004 en México y en el estudio realizado en el mismo país por el Dr. Larrosa – Haro y colaboradores en el año 2002 en donde solo se identifico *Salmonella sp* y *Shigella sp.*

En Bolivia también se realizo un estudio en donde se ve la misma asociación de bacteria s aisladas, fue realizado por la Dra. Giovanna Dorigo y colaboradores en el año 1986.

El hallazgo de evacuaciones con sangre, moco y leucocitos en las heces de algunos niños en quienes se identifico quistes de *Entamoeba Hystolítica,* es interesante ya que este parásito se suele localizar en la luz del intestino, al realizar el coprocultivo se aisló *Shigella sp,* lo que nos hace suponer que la infección se producía tanto por el parásito como por la bacteria aislada.

Clínicamente estos pacientes presentaban un inicio brusco de diarrea con un promedio de 10 - 15 evacuaciones por día, con fiebre, vómitos, heces mucosas y presencia de sangre macroscópica.

En el estudio realizado por el Dr. Larrosa – Haro en México en el año 2002 en casi similares condiciones se identifico al *Cryptosporidium parvum* en coinfección con *Shigella sp.*[8]

En los coprocultivos procesados en donde se aislaron *Escherichia coli* la cual es fermentadora retardada de la lactosa, por las características de las pruebas bioquímicas y por el examen citológico en moco fecal donde se pudo observar mas de 100 leucocitos por campo observado y eritrocitos de 10 – 15 por campo observados. Clínicamente hubo presencia de vómitos y de fiebre, con inicio brusco de diarrea, lamentablemente no pudimos realizar la serotipificación de esa enterobacteria.

En el estudio realizado por la Dra. Mercedes Fernández García en 2004 en México se encontró de igual manera la presencia de *Escherichia coli*, y tenia las mismas características clínicas. En este estudio se pudo aislar a la *ECEI* realizando métodos serológicos.[36]

En el caso de la *Salmonella sp* se presento de 30 –60 leucocitos por campo observado con un porcentaje de 80% de leucocitos polimorfonucleares y eritrocitos 1 -5 por campo observado, clínicamente se observo fiebre recurrente, vómitos , diarrea con 10 días de evolución antes de la consulta, lo que nos hace suponer que la infección se había diseminado al torrente sanguíneo. En el estudio de La Dra. Mercedes Fernández García se aisló a la *Salmonella sp* el cual fue el enteropatógeno mas frecuentemente detectado en el grupo estudiado.[36]

CONCLUSIONES

El estudio experimental realizado en el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital La Paz, en el periodo de noviembre del 2004 a enero del 2005, nos permite llegar a las siguientes conclusiones:

- Se aisló y se identifico bacterias enteropatógenas mediante coprocultivo en deposiciones diarreicas con presencia de leucocitos en niños menores de 5 años que asistieron a la consulta de pediatría en el Hospital La Paz.

- De acuerdo al sexo de los pacientes cabe notar que el mayor numero esta relacionado con el sexo masculino entre los 42 pacientes con diarrea aguda , pero no tiene relación directa con la afección diarreica .

- Por los datos obtenidos en el presente trabajo se logro identificar a las bacterias enteropatogenas causantes de diarrea aguda en niños menores de 5 años siendo estos: *Shigella sp y Salmonella sp , Escherichia coli.*

- Hacer coprocultivo en muestras diarreicas en donde la presencia de leucocitos nos da una lectura mayor o igual a 10 leucocitos por campo observado, muestra una evidente asociación de su presencia con el aislamiento de bacterias enteropatógenas.

RECOMENDACIONES:

1. El examen citológico en moco fecal en niños menores a 5 años con diarrea aguda debe añadirse a los pilares básicos de manejo, en donde los datos de laboratorio son útiles para mejorar el enfoque de diagnóstico y terapéutico.
2. Si el examen citológico en moco fecal es positivo, con predominio de polimorfonucleares se debe realizar coprocultivo, y el tratamiento debe ser realizado tomando en cuenta el resultado de sensibilidad del antibiograma.
3. Cuando el examen citológico en moco fecal es negativo y la diarrea persiste se debe pensar en otras causas diferentes por ejemplo: parasitosis, viral.
4. Evitar el uso indiscriminado de fármacos antidiarreicos, antiparasitarios y antibióticos que produce una influencia negativa sobre la evolución del paciente. En este estudio se evidencio una vez mas que los pacientes que se automedican, no tienen una recuperación franca y el estudio laboratorial ya no podía establecer una medicación correcta, porque el coprocultivo presentaba un resultado negativo
5. El examen de citodiagnóstico fecal, debe ser considerado un examen de urgencia, por lo tanto debería ser aceptado en todos los laboratorios en cualquier horario.
6. Es importante que el personal medico y enfermería recomienden a las mamas el lavado de manos después de haber hecho uso del baño , para e vitar contagio de infecciones, también se recomienda el lavado apropiado de las mamaderas o cualquier utensilio que se utilice para dar el alimento a los niños, para evitar reinfecciones.

1 . INTRODUCCION

La gran mayoría de las infecciones gastrointestinales resultan de la ingestión de una dosis suficiente del agente etiológico que permita atravesar las barreras protectoras del organismo como son: la barrera ácida del estómago, mucosa intestinal, motilidad intestinal, flora microbiana normal, los sistemas inmunes celulares y humorales, y los tejidos linfáticos asociados. Los síntomas pueden ser extremadamente severos en individuos que tengan comprometidos una o más de estas barreras.

La diarrea es causada por un gran número de agentes infecciosos entre los que se incluyen en orden de frecuencia virus, bacterias y protozoarios, estos agentes se transmiten por vía fecal - oral, pero existe por lo menos un agente que es el rotavirus que se transmite por aerolización.

Esta enfermedad continua siendo uno de los principales problemas de salud de la humanidad y un azote para la inmensidad de la población infantil que vive en países del tercer mundo, donde las condiciones sanitarias favorecen su presentación, es así que constituye una de las consultas mas frecuentes en los servicios de consulta externa, urgencias y consultorios de médicos pediatras.

Bajo estas circunstancias los mecanismos de diagnóstico como ser :[21]

El coprocultivo cumple con la metodología adecuada para identificar las bacterias enteropatógenas, además contribuye al conocimiento de la etiología de la diarrea aguda infantil. [26]

---

[21] Pedro Sierra Rodríguez;"ACTUALIZACIÓN DEL CONTROL DE LA ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA EN PEDIATRIA, PREVENCIÓN, DIAGNOSTICO Y TRTAMIENTO"
http://www.en colombia.com/vol33n3-pediatria-actualización2.html

[26] . COPROCULTIVO
http://www.sampac.es/index.html

Es por ello que al haberse reconocido la presencia de leucocitos en las evacuaciones es que debemos sospechar de una infección y confirmarla mediante el uso del coprocultivo, para así dar un verdadero diagnóstico en una enfermedad diarreica aguda.

Toda esta información acerca de las variables de leucocitos presentes en heces líquidas y semilíquidas, género y bacterias aisladas en el coprocultivo en niños menores a 5 años que asisten a la consulta de pediatría ha sido procesada en el periodo de noviembre del 2004 a enero del 2005 en el Hospital La Paz.

2. JUSTIFICACIÓN

Por datos bibliográficos sabemos que en Bolivia cada año se presentan informes de morbimortalidad causadas por infecciones diarreicas en niños menores de 5 años, es por ello que constituye un serio problema de salud pública debido sobre todo a la deficiencia en higiene y salubridad de nuestro país.

Los problemas económicos, los escasos recursos, desnutrición, las malas condiciones de vivienda hacen que en la mayoría de los pacientes no solo favorezcan la presencia del cuadro diarreico sino que hacen difícil la aplicación de métodos de diagnóstico de utilidad reconocida.

El propósito de este trabajo es el de realizar la identificación de las bacterias aisladas mediante coprocultivo en diarreas líquidas y semilíquidas con presencia de leucocitos a predominio de polimorfonucleares en niños menores a 5 años.

Dada la naturaleza autolimitada de la mayoría de los casos de diarrea aguda, en la práctica clínica se manejan esquemas que suelen incluir la prescripción de fármacos antidiarreicos antiparasitarios y antibióticos poco justificados, de ahí la importancia de contar con un protocolo basado en la presencia de leucocitos en heces que sirva de herramienta para limitar mas que para inducir la prescripción de fármacos

.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hoy en los albores del siglo XXI, cada año millones de niños menores a los cinco años mueren en el mundo por causa de las diarreas.

Las bacterias han constituido los agentes etiológicos principales de las enfermedades diarreicas, y su investigación periódica interesa por las variaciones temporales, estaciónales y geográficas que las caracteriza.

La limitación en cuanto a recursos financieros no ha otorgado prioridad a la investigación en laboratorio e impide el uso rutinario de cultivo en heces; sin embargo un correcto uso del examen citológico en heces nos ayuda a tener un pronóstico rápido y permite tener una mejor orientación para realizar el coprocultivo.

Al haber presencia de leucocitos en las evacuaciones es que debemos sospechar de una infección y confirmarla mediante el uso del coprocultivo para dar un diagnóstico.

Conociendo estos parámetros es que planteamos lo siguiente:

Cuál es la identificación de las bacterias aisladas mediante el coprocultivo y cual su relación con la presencia de leucocitos fecales en el examen citológico de heces en niños menores a 5 años que asisten al servicio de pediatría del Hospital La Paz

4. OBJETIVOS

4. 1. OBJETIVO GENERAL

- Identificar bacterias mediante coprocultivo en deposiciones diarreicas con presencia de leucocitos en niños menores a 5 años que asisten a consulta externa de Pediatría Hospital La Paz, en el periodo de noviembre del 2004 a enero del 2005.

4. 2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

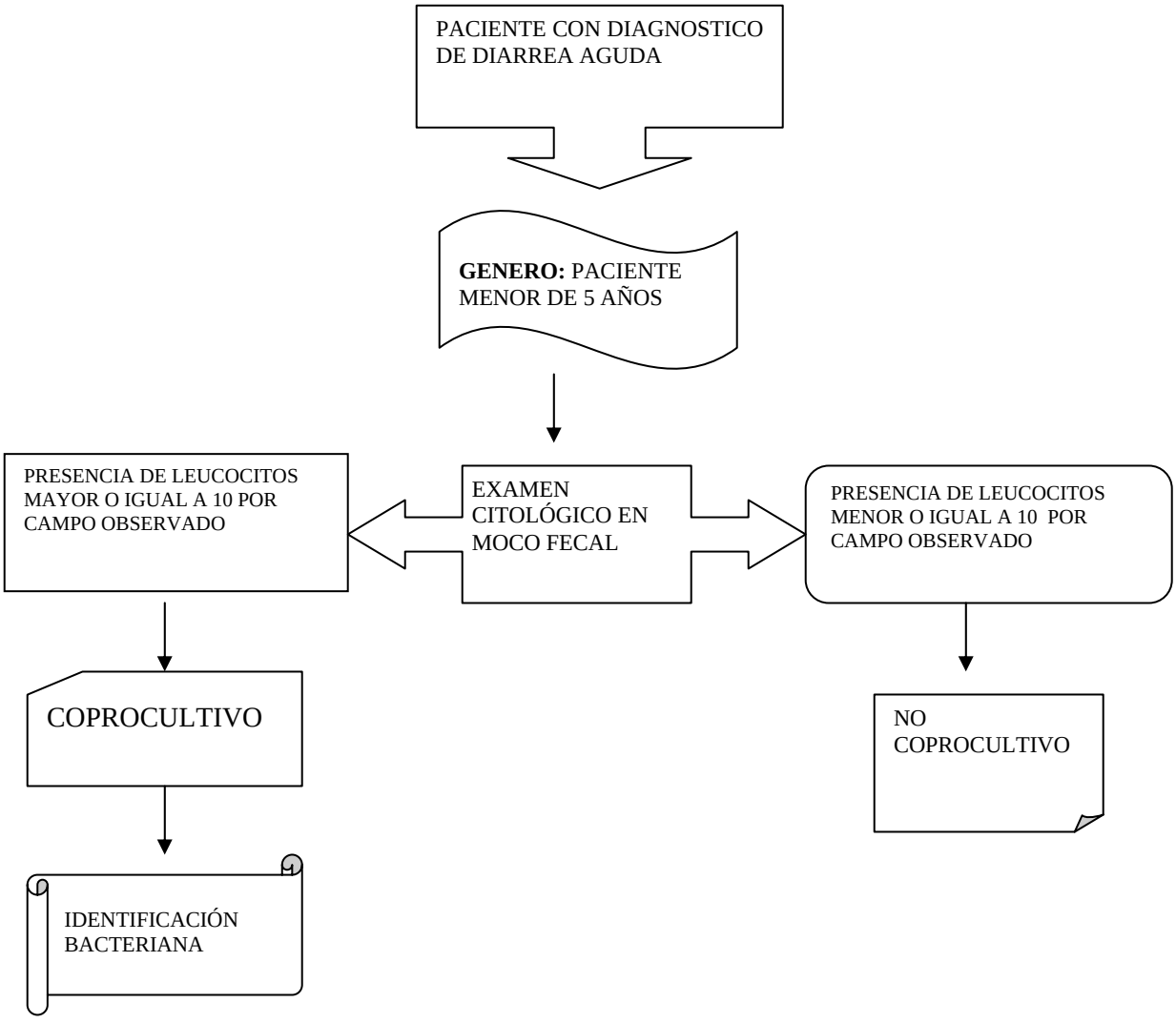
- Determinar el género que se presenta en el mayor número de casos de diarrea aguda.

- Identificar los tipos de bacterias causantes de diarrea aguda en niños con diagnóstico de diarrea

- Determinar la correlación entre la cantidad de leucocitos por campo observado en diarreas líquidas y semilíquidas y el desarrollo positivo de bacterias aisladas en coprocultivos

5. DISEÑO TEORICO

5.1. MODELO TEORICO



6. MARCO TEORICO

6. 1. DEFINICIÓN DE DIARREA

La diarrea es un síndrome clínico de etiología diversa que se acompaña de la expulsión frecuente de heces de menor consistencia de lo normal y a menudo vómitos y fiebre. Es causada principalmente por agentes infecciosos como bacterias, virus, parásitos, pero también puede ser producida por ingestión de fármacos o toxinas, alteraciones en la función intestinal, intolerancia a algunos alimentos, reinstauración de nutrición enteral después de un ayuno prolongado.

La mayor parte de las diarreas infecciosas se adquieren por transmisión, a través de ingestión de agua o alimentos contaminados con desechos humanos, como consecuencia de sistemas inadecuados de evacuación o por la presencia de estos en agua o alimentos de residuos de heces de animales domésticos o salvajes

6. 2. EVOLUCIÓN DE LA DIARREA

De acuerdo a la evolución, la diarrea puede ser aguda o prolongada, que también se conoce como crónica.

La diarrea aguda es aquella que tiene una evolución de menos de dos semanas, aunque algunos autores consideran que puede ser aguda hasta de tres semanas cuando existe intolerancia a los azúcares.

Por lo regular, la diarrea aguda es de origen infeccioso y sé auto limita la mayoría de las veces, mientras que la crónica o de evolución prolongada se perpetúa, aunque ya no exista el agente infeccioso que la provocó; sus causas también pueden ser de origen extrainfeccioso

6. 3. MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DE LA DIARREA

La diarrea es una consecuencia de la disfunción en el transporte de agua y electrólitos a nivel del intestino.

Como resultado de esta alteración se produce un aumento de la frecuencia, cantidad y volumen de las heces, así como un cambio en su consistencia por el incremento de agua y electrólitos contenidos en ellas.

Todo esto condiciona un riesgo, que es la deshidratación y los trastornos del equilibrio hidromineral. (Fig. 1)

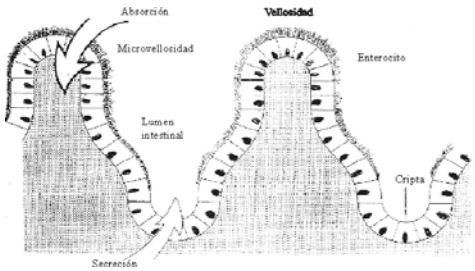


FIG. 1. *Estructura del intestino delgado normal.*
Fuente: WHO. Diarrhoeal diseases. Control program.
WHO/CDD Serie 90.13.

Los mecanismos patógenos que ocasionan diarrea están en dependencia de los agentes causales que la producen. En la actualidad se describen varios mecanismos:

- Invasividad: Invasión de la mucosa seguida de multiplicación celular intraepitelial y penetración de la bacteria en la lámina propia.
- La capacidad de una bacteria para invadir y multiplicarse en una célula, causando su destrucción, está determinada por la composición del lipopolisacárido de la pared celular de dicha bacteria en combinación con la producción y liberación de enzimas específicas.

- La invasividad está regulada por una combinación de plásmidos específicos y genes cromosomales que varían de un entero patógeno a otro.

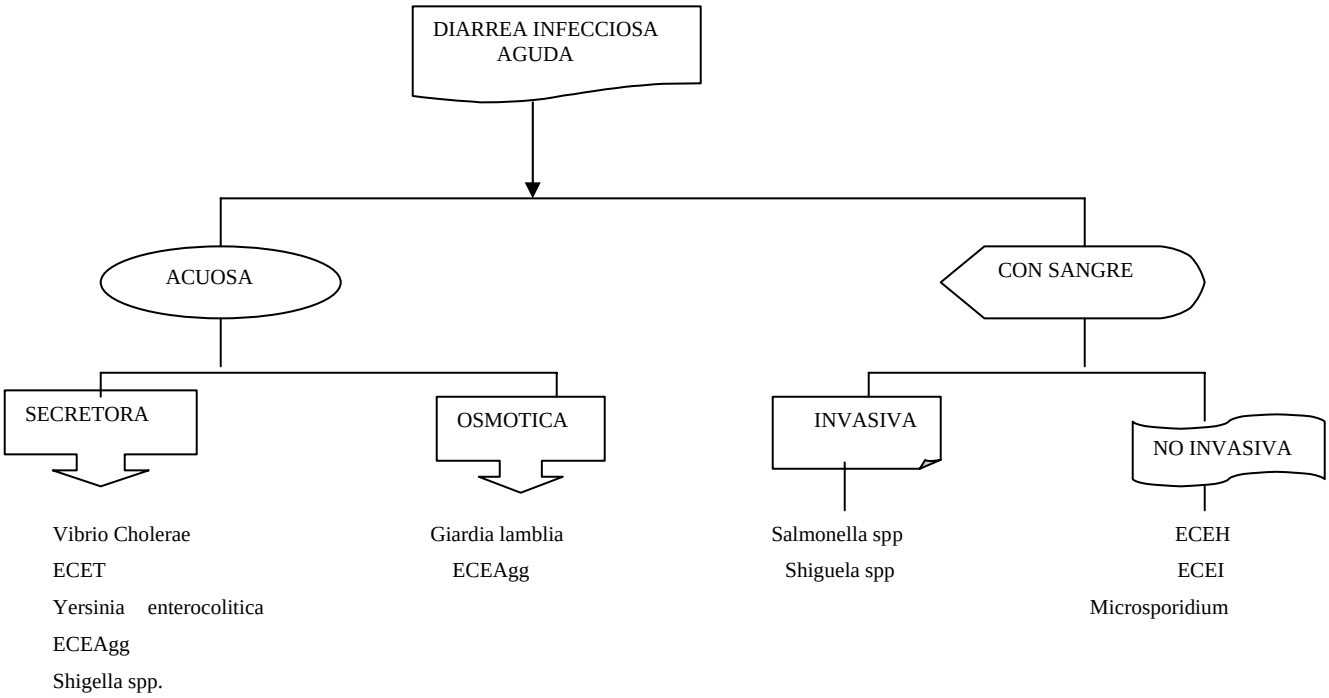
- Producción de citotoxinas. Estas producen daño celular directo por inhibición de la síntesis de proteína.
- Producción de enterotoxinas. Da lugar a trastornos del balance de agua y sodio y mantienen la morfología celular sin alteraciones.
- Adherencia a la superficie de la mucosa. Esto da por resultado el aplanamiento de la micro vellosidad y la destrucción de la función celular normal.
- En la adherencia celular intervienen factores como: pelos o vellos, glicoproteínas u otras proteínas que permiten la colonización bacteriana del intestino.

La presencia de uno o varios de estos factores que se unen a receptores específicos en la superficie del enterocito, tiene gran importancia en la adhesión, que constituye la primera fase de la infección. [16]

6. 4. CLASIFICACIÓN DE LA DIARREA INFECCIOSA AGUDA

La diarrea infecciosa aguda es aquella que tiene una duración menor de 14 días. Actualmente se clasifica de manera práctica en diarrea acuosa y diarrea con sangre (Fig. 2)

[16] RIVERON, C. Raúl; "FISIOPATOLOGIA DE LA DIARREA AGUDA"; Págs. 100-101



- ECEAgg: Escherichia coli enteroagregativa
- ECET : Escherichia coli enterotóxigenica
- ECEH: Escherichia coli enterohemorrágica
- ECEI: Escherichia coli enteroinvasiva

FIG. 2. *Clasificación de la diarrea infecciosa aguda.*

Fuente: Adaptado de: Riverón Corteguera RL, González Fernández NA. Atención de la diarrea con sangre. Rev. Cubana MED Gen Integral 1996; 12(1): 50-8

6. 4. 1. DIARREA ACUOSA

La diarrea acuosa puede ser secretora u osmótica y la diarrea con sangre puede ser invasiva o no invasiva.

6. 4. 1. a. DIARREA SECRETORA

Se define como un cuadro diarreico, aquél que es el resultado del movimiento neto de agua y electrólitos desde la mucosa intestinal hasta el lumen, y cuyo volumen excede los 10 ml/kg/día y cuya osmolaridad es similar al plasma.

La diarrea secretora es una diarrea acuosa abundante que produce deshidratación con trastornos del equilibrio hidroelectrolítico y ácido básico, es producida principalmente por el *Vibrio cholerae* y la *Escherichia coli enterotoxigénica (ECET),* aunque otras bacterias como la *Shigella spp, la Yersinia enterocolítica* y las *Aeromonas* también pueden producirla. [16]

6. 4. 1. b. DIARREA OSMÓTICA

La diarrea osmótica es aquélla que se produce por un incremento de carbohidratos en el lumen intestinal, como consecuencia de lesiones en forma de parches en las vellosidades intestinales y por la invasión de los enterocitos de la vellosidad y la posterior aglutinación de las vellosidades afectadas (Fig. 3)

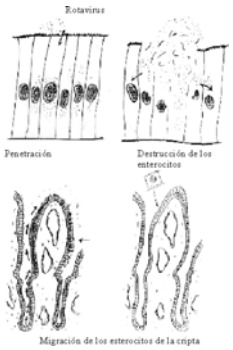


FIG. 3. *Mecanismo de producción de la diarrea osmótica.*

[16] RIVERON, C. Raúl; "FISIOPATOLOGIA DE LA DIARREA AGUDA"; Págs. 100-101

Fuente: Tomado de: Chauliae M. Water requirement: Physiology and pathology. En: Diarrhoeal diseases. International children´s. París: Children in the Tropics 1985;158:11-9.

La necrosis de la porción superior (ápex) de las vellosidades da lugar a que en un período de 12 a 40 horas, los enterocitos de las criptas, que son enterocitos secretores, cubran totalmente la vellosidad y den lugar a áreas donde hay secreción de líquidos y la absorción está disminuida o ausente. En la medida que las lesiones se hacen más extensas tendrá lugar una menor absorción y se aumentará la secreción. Este mecanismo de producción de diarrea osmótica es el que provocan los agentes virales, principalmente los rotavirus.

Otro mecanismo de producción de diarrea osmótica es el que ocurre por la adhesión de algunos protozoos al "borde en cepillo" del enterocito que bloquean la entrada de agua, electrólitos y micronutrientes lo que produce un exceso de carbohidratos a nivel del lumen intestinal, que son atacados por las bacterias con producción de ácido láctico, lo cual da lugar a una diarrea ácida que se traduce clínicamente por un marcado eritema perianal.

Los parásitos que con mayor frecuencia presentan este tipo de diarrea con acentuada malabsorción a los carbohidratos son la *Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum, Ciclospora cayetanensis* y los *Microsporidios,* aunque los pacientes inmunosuprimidos presentan un componente de hipersecreción.

También puede producirse una diarrea osmótica cuando se ingiere una sustancia osmóticamente activa de pobre absorción, esto puede suceder cuando se administran purgantes como el sulfato de magnesia. Si la sustancia es ingerida con una solución isotónica, el agua y los solutos pasan por el intestino sin absorberse, y esto da lugar a la diarrea osmótica. Este tipo de diarrea se puede observar en los pacientes con malabsorción a los disacáridos (lactosa) y en lactantes alimentados con el seno materno

(exceso de lactosa) o cuando se administran grandes cantidades de leche animal o leches muy concentradas. [16]

6. 4. 2. DIARREA CON SANGRE

La diarrea con sangre se presenta con una elevada frecuencia en niños menores de 5 años. Constituye un problema de salud en los países subdesarrollados y puede expresarse con manifestaciones clínicas severas que pueden llevar al paciente a la muerte y, en otras ocasiones, su cuadro clínico es más benigno, por tener sus agentes causales una vida autolimitada. De una manera práctica, la diarrea con sangre puede ser invasiva y no invasiva.

6. 4. 2. a. DIARREA CON SANGRE INVASIVA

La diarrea con sangre invasiva tiene como prototipo a la *Shigela*, aunque también puede ser producida por otros agentes bacterianos enteropatógenos como son: *Escherichia coli enteroinvasiva, Salmonella, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolítica* y *Vibrio parahemolyticus* .

6. 4. 2. b. DIARREA CON SANGRE NO INVASIVA

La diarrea con sangre no invasiva tiene como prototipo a la *Escherichia coli entero hemorrágica* (ECEH) El aspecto clínico más relevante de la ECEH es su habilidad para causar el síndrome hemolítico uremico, caracterizado por anemia microangiopatica, trombocitopenia e insuficiencia renal. [16]

[16] RIVERON, C. Raúl; "FISIOPATOLOGIA DE LA DIARREA AGUDA"; Págs 101-102; 105-106.

[16] RIVERON, C. Raúl; "FISIOPATOLOGIA DE LA DIARREA AGUDA"; Págs 101-102; 105-106; 109

6. 5. ETIOLOGÍA

Las causas que producen diarrea son diversas e incluyen enfermedades infecciosas, inflamatorias, reacciones adversas a medicamentos, respuesta a la ingesta de grandes cargas osmóticas, reinicio de la alimentación tras periodos prolongados de ayuno e impactación fecal.

La mayoría de casos tienen un origen infeccioso, la ruta de contaminación más común es la fecal – oral, si bien algunos virus también son transmitidos por vía respiratoria. [28]

6. 6. BACTERIAS QUE CAUSAN DIARREA Y SUS MECANISMOS PATÓGENOS

La familia *enterobacteriaceae* esta formada por un gran grupo heterogéneo de bacilos Gram. Negativos, pequeños, móviles por medio de flagelos peritricos, o inmóviles; sin cápsula; no forman esporas, no son ácido resistente; crecen fácilmente en los medios de laboratorio.

Son quimioorganotróficos, fermentan muchos carbohidratos y alcoholes; generalmente aerobios; catalasa positivo; oxidasa negativa.

La familia incluye muchos géneros por ejemplo: *Escherichia, Shigela, Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia y Proteus;* algunos microorganismos intestinales, por ejemplo, *Escherichia coli*, son parte de la flora normal y producen de manera incidental enfermedad, en tanto que otros, como *salmonellas y shigelas* son patógenos de manera regular para el hombre, poseen una estructura antigénica compleja y producen diversas toxinas y otros factores de virulencia.

6. 6. 1. *Escherichia coli*

[28] "DIARREA AGUDA EN NIÑOS"
http://www.medilegis.com/bancoconocimiento/T/Tribuna102n3pamc/pamcdiarrea2.htm

Son bastoncillos gramnegativos cortos que pueden formar cadenas. Se observa la morfología típica en el crecimiento sobre medios sólidos in vitro, pero ésta es muy variable en las muestras clínicas. [9]

Es un microorganismo presente de forma habitual en el tracto gastrointestinal en el humano, es una bacteria móvil, reductora de nitratos, catalasa positivo, fermentador de lactosa. [17]

- **Manifestaciones clínicas**

Escherichia coli produce gastroenteritis por diversos mecanismos de patogenicidad:

- *Escherichia coli enterotoxigénica (ECET*)

La (ECET) produce 2 tipos diferentes de enterotoxinas, la termolábil (TL) y la termoestable (TE) Ambas dan lugar a diarrea secretora.

Las cepas de ECET poseen los plásmidos necesarios para producir una enterotoxina TL, que es similar a la toxina colérica (TC) producida por el *Vibrio cholerae*.

Ambas toxinas son estructuralmente similares y la homología de sus aminoácidos tiene alrededor del 80 % de similitud. Una de sus diferencias radica en que los genes que regulan el TL se encuentran en los plásmidos, mientras que los genes del TC están en los cromosomas.

La ECET se adhiere a las células epiteliales de la mucosa intestinal por medio de organelos en forma de pelos, y denominadas fimbrias o pilis, ubicadas en la superficie de las bacterias. Ellas actúan como factor de colonización que permiten contrarrestar los movimientos peristálticos intestinales y además constituye un mecanismo de defensa del huésped.

- *Escherichia coli enteroinvasiva* (ECEI)

[9] JAWETZ,Ernest et.al; " MICROBIOLOGIA MEDICA"; Págs. 225;247
[17] RODES, T .Júan et.al; "MEDICINA INTERNA"; pág 1730

Su mecanismo patogénico es muy similar al de la *Shigela*, tiene la capacidad para colonizar, invadir y destruir los enterocitos del colon, propiedades que se codifican genéticamente por ADN cromosomal y de plásmidos.

La ECEI posee un plásmido de 120 microdaltons que guarda cierta homología con el plásmido de virulencia de la *Shigela.* Elabora una enterotoxina que se presenta con mayor intensidad en presencia de un ambiente bajo en hierro.

- *Escherichia coli enterohemorrágica* (ECEH)

La diarrea con sangre no invasiva tiene como prototipo a la *Escherichia coli enterohemorrágica* (ECEH) Los primeros estudios de este tipo de *Escherichia coli* se realizaron en 1983, cuando se asociaron cepas de *Escherichia coli* del serotipo $O_{157}H_7$ raramente encontradas con anterioridad, con un brote de una nueva enfermedad, la colitis hemorrágica, caracterizada por diarrea con abundante sangre y sin fiebre

Estudios realizados posteriormente pusieron de manifiesto que dichas cepas pueden producir también un síndrome hemolítico urémico y llevar a una insuficiencia renal aguda.

Las cepas de serotipo $O_{157}H_7$ elaboran 2 potentes citotoxinas que destruyen las células Vero, por lo que reciben el nombre de verotoxinas (VT-1 y VT-2)

Estas toxinas están relacionadas, biológica y estructuralmente, con la toxina Shiga sintetizada por la *Shigela dysenteriae tipo l* (Sdl) por lo que se propuso la denominación de toxinas similares a la toxina Shiga (SLT-1 y SLT-2)

El aspecto clínico más relevante de la ECEH es su habilidad para causar el síndrome hemolítico urémico, caracterizado por anemia microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal. La ECEH presenta 3 mecanismos patogénicos característicos:

- Adherencia mediada por un plásmido que codifica sus fimbrias.
- Lesiones de unión y destrucción esfacelada idénticas a las que produce la ECEP y mediadas por un gen cromosomal similar a la ECEP
- Producción de 1 ó 2 toxinas similares a la toxina elaborada por la Shigella dysenteriae tipo 1 y denominadas toxinas parecidas a la toxina Shiga I y II (SLT-1 y SLT-2).

También se les ha dado el nombre de verotoxina I y II (VT-1 y VT-2) por su capacidad de destruir las células Vero en cultivos de tejidos.

Estas toxinas inhiben la síntesis de proteínas y causan daño directo a la célula epitelial del intestino.

❖ *Escherichia coli enteroagregativa* (ECAgg)

Los estudios realizados sobre la capacidad adherente de la *Escherichia coli* a células heteroaploides (HEp-2) muestran que, además de la adherencia localizada, existen otros 2 mecanismos: uno llamado difuso, que se produce cuando las bacterias se unen al citoplasma celular, y otro agregativo, que se forma cuando las bacterias se acumulan en forma de empalizada tanto en la superficie celular como en el vidrio de la preparación.

Estudios recientes han definido algunas características de estas cepas, como es el fenómeno de la autoagregación, que está determinado por un plásmido de 55 a 65 microdaltons, que codifica para una fimbria de adherencia, un lipopolisacárido uniforme y una nueva enterotoxina termoestable (TE) denominada toxina enteroagregativa estable (TEAE) Se han detectado algunas cepas que elaboran una segunda toxina termolábil antigénicamente relacionada con la hemolisina de *E.coli*, la cual puede causar necrosis de las microvellosidades, acortamiento de las vellosidades intestinales e infiltración mononuclear de la submucosa.

La capacidad de las cepas de *E.coli enteroagregativa* (ECEAgg) para sobrevivir largo tiempo en el intestino humano y la producción de una o más de las toxinas descritas, pudiera explicar la persistencia de las diarreas por ellas producidas.

Se han aislado cepas de ECEAgg en niños con diarrea con sangre, aunque en la actualidad se desconoce si existen diferentes cepas agregativas relacionadas con diarreas persistentes u otras en relación con diarrea con sangre.

Estudios recientes muestran la existencia de una toxina que es capaz de producir lesiones hemorrágicas severas cuando se inoculan ratas con la toxina purificada. Esto pudiera apoyar la capacidad de cepas de ECEAgg para causar diarrea con sangre en humanos[16]

6. 6. 2. *Salmonella*

Las *salmonellas* son a menudo patógenas para el hombre y los animales cuando se adquieren por vía bucal. Se transmiten desde los animales y los productos de estos hacia el hombre, en el cual producen enteritis, infección general, y fiebre intestinal

La longitud de las diversas especies varia. Estos microorganismos crecen con facilidad en medios sencillos, pero casi nunca fermentan la lactosa o la sacarosa.

Forman ácido y a veces gas a partir de la glucosa y manosa. Suelen producir sulfuro de hidrógeno, sobreviven a la congelación en el agua durante periodos prolongados, son resistentes a ciertos productos químicos por ejemplo; verde brillante, tetrationato de sodio y desoxicolato de sodio que inhiben a otras bacterias intestinales; por lo tanto, estos compuestos son de utilidad para su inclusión en los medios de cultivo con objeto de aislar a las salmonellas del excremento. **[9]**

---

[16] RIVERON, C. Raúl; "FISIOPATOLOGIA DE LA DIARREA AGUDA"; Págs. 103;108; 109-110

[9] JAWETZ, Ernest et. al; " MICROBIOLOGIA MEDICA"; Págs. 225;247

- **Manifestaciones clínicas:**

La salmonellas pueden producir varios síndromes: enteritis autolimitada, fiebre tifoidea o fiebre entérica, bacteriemia sin enfermedad metatastásica - diseminación gastroenteritis, o portador asintomático. Lo más frecuente es la salmonelosis no tifoidea. La salmonella no tifoidea es la causa más frecuente de toxiinfección alimentaría.

La patogénesis no es bien conocida, los microorganismos invaden la mucosa del intestino delgado y grueso y además producen una enterotoxina que aumenta los niveles de AMP cíclico del enterocito inhibiendo la reabsorción de sodio y aumentando la secreción neta de cloro. Existen factores adicionales de virulencia no identificados.

La clínica habitual es diarrea, fiebre y escalofríos, en ocasiones también nauseas, vomito y retortijones. No suele haber leucocitosis, la evolución es autolimitada con desaparición de la fiebre en dos días y de la diarrea en una semana.

Entre los factores que la favorecen están:

- Edad inferior a 5 años
- Reducción de la motilidad intestinal
- Alteración de la flora intestinal, aclorihidria,
- Uso de antiácidos, gastrectomía, infección HIV,
- Enfermedades linfoproliferativas y diabetes.

Aunque antes se consideraba que el inóculo infeccioso mínimo era 10^6 - 10^9 se considera que 1000 bacterias son suficientes para producir gastroenteritis.
En heces se observan leucocitos y hematíes, pero es raro ver sangre macroscópica. [27]

[27] "GASTROENTERITIS AGUDA"; http://www.uninet.edu/tratado/c0303i.html

6. 6. 3. *Shigelas*

Las *Shigelas* son bastoncillos gramnegativos inmóviles, no productoras de gas, ni de ácido sulfúrico, fermentadoras de glucosa, pero no en general, no de la lactosa (S. sonnei fermenta tardíamente este azúcar) [17]

Pertenecen a este grupo cuatro especies, de los cuales cada grupo se subdivide en función de sus diferentes antígenos "O" en serotipos:

- *Shigella dysenteriae:* Serogrupo A; 13 subtipos
- *Shigella flexneri:* Serogrupo B; 6 subtipos; y 13 subfactores
- *Shigella boydii:* Serogrupo C; 18 subtipos.
- *Shigella sonnei:* Serogrupo D; 1 subtipo.

Este ultimo grupo presenta dos variantes en su único subtipo:

- Forma I: Lisa.
- Forma II: Rugosa [35]

➢ **Manifestaciones clínicas**

La diarrea invasiva por *Shigela* se produce cuando ésta es ingerida y vence las barreras de resistencia inespecíficas del huésped, tales como la motilidad intestinal, la flora normal del intestino y el moco. La enterotoxina induce cambios en la motilidad intestinal lo que favorece la colonización del intestino.

Existen evidencias de que en la flora normal del colon, las proteasas y glucosidasas pueden modificar el epitelio colónico al mejorar la adherencia de la *Shigela*. El género *Shigela* produce una potente toxina que posee efectos enterotóxicos, citotóxicos y neurotóxicos.

---

[17] RODES, T. Júan; "MEDICINA INTERNA"; PÁG 1735
[35] "GASTROENTERITIS BACTERIANAS, VIRICAS, PARASITARIAS Y TOXICOINFECCIONES" http://www.seima.org/protocolos/microbiología/Indice7.htm

La *Shigela dysenteriae 1* (Sd1) produce la mayor cantidad de toxina *Shiga*, mientras que otras especies elaboran concentraciones más pequeñas de una toxina similar a la toxina *Shiga*.

La *Shigela* penetra en el tubo digestivo y produce una invasión superficial, atraviesa las barreras propias del organismo, penetra en las células epiteliales intestinales (enterocitos) y da lugar a lesiones inflamatorias y en ocasiones ulceraciones en la porción distal del íleon y, de forma más marcada, en el colon.

Una vez en el interior del enterocito prolifera allí o en la lámina propia y produce una citotoxina. El organismo, como una respuesta inflamatoria, moviliza hacia la circulación sanguínea una serie de elementos como linfocitos, plasmocitos y leucocitos polimorfonucleares (PMN) con la finalidad de neutralizar al agente agresor.

La citotoxina liberada por la *Shigela* (toxina Shiga) tiene un origen endocelular, con un peso molecular que oscila entre 68 000 y 76 000 daltons y es elaborada por una proenzima que requiere de modificaciones para obtener su actividad máxima.

La toxina *Shiga* tiene varias acciones, la primera es la de actuar como una enterotoxina y desencadenar el sistema adenilatociclasa, lo que da lugar a una diarrea secretora en sus inicios, con pérdidas elevadas de agua y electrólitos, que pueden producir una deshidratación.

Otra de las acciones de la toxina *Shiga*, es aquella dependiente de las subunidades que la componen. Así la subunidad A es la que actúa inactivando los ribosomas 70S, que inhiben la síntesis de proteínas y las subunidades B forman parte de la molécula que ataca a las células de la membrana. Este efecto citolítico de la toxina destruye al enterocito en pocas horas, ocasiona ulceraciones en la mucosa, y da lugar a la producción de heces con moco, pus y sangre con polimorfonucleares; la otra acción de la toxina es la de comportarse como una neurotoxina y producir edema y hemorragias como consecuencia del daño ocasionado en el endotelio de los pequeños vasos del sistema nervioso central (Fig. 4)

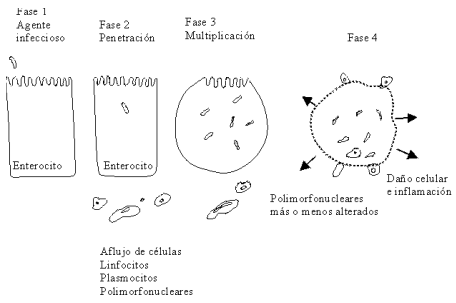


FIG. 4. *Mecanismo de producción de la diarrea invasiva.*

Fuente: Tomado de: Chauliac M. Water requirement: physiology and pathology.

En: Diarrhoeal diseases. International Children´s. París: Children in the Tropics 1985;158:11-9.

Los factores determinantes de la virulencia de la *Shigela* están codificados por genes localizados en el ADN cromosomal y del plásmido. Se ha demostrado que los genes más recientes son portadores de grandes plásmidos de 120-140 microdaltons los cuales se encuentran en el interior de la bacteria.

La *Shigela* produce diarrea por invasión de la mucosa y proliferación bacteriana en el interior del enterocito. Cuando se examinan las heces microscópicamente, el moco de ésta contiene abundantes leucocitos polimorfonucleares. [16]

6.6.4. OTRAS BACTERIAS CAUSANTES DE DIARREA AGUDA

- ***Campilobacter jejuni***

Se ha manifestado como un agente patógeno del hombre que produce principalmente enteritis y en ocasiones, invasión general. La bacteria es por lo menos tan comun como las salmonelas y las shiguelas como causa de diarrea.

Las manifestaciones clinicas consisten en iniciación aguda de dolor abdominal de tipo retortijón, diarrea profusa que puede ser francamente sanguinolenta, artralgias, malestar general y fiebre.

[16] RIVERÓN, C. Raúl; "FISIOPATOLOGIA DE LA DIARREA AGUDA"; Págs. 107-108

- ***ROTAVIRUS***

Son causa importante de diarrea en lactantes humanos y animales jóvenes. Las infecciones en le hombre y animales adultos, son también comunes. Entre los rotavirus están los agentes de diarrea infantil humana, diarrea de los terneros de Nebraska.

Los rotavirus son causantes de la mayor parte de las enfermedades diarreicas en lactantes y niños. Los síntomas típicos incluyen diarrea, fiebre, dolor abdominal y vómitos causando la deshidratación, la pérdida grave de electrolitos y líquidos resulta mortal a menos que se trate.

6. 7. METODOS DE DIAGNOSTICO

6. 7. 1. Inspección de las heces

La inspección de las heces es muy importante, ya que puede conducir a un diagnóstico de infestación parasitaria, diarrea, o perdida de sangre en el conducto gastrointestinal.

Al recibir las muestras en el laboratorio se observa detenidamente sus características, tales como el olor, color, consistencia, o la presencia de mucosidades, sangre o restos de alimentos sin digerir.

Estos detalles pueden orientar algo en él diagnostico; así por ejemplo, unas heces liquidas con grumos en forma de agua de arroz, harán pensar en el cólera, o la sangre y mucosidades indicarán una sintomatología inflamatoria del intestino, que puede ser debida a una disentería. [28]

[28] ESTUDIO MICROBIOLOGICO DE LAS HECES;
http://edicion-micro.usal.es/web/educativo/m_especial/recursos.html

- **Moco**

La mucina, producto de las glándulas muciparas distribuidas en todo el epitelio de la mucosa del tubo digestivo cumple una función fisiológica al protegerla por lubricación, en las heces fisiológicas lo contienen en muy escasa cantidad.

En casos patológicos la mucina se concreta y constituye el moco y otras veces aparece en solución, cuando él tránsito es acelerado.

La presencia de moco en las heces significa la existencia de un proceso inflamatorio de la mucosa del intestino y es un signo seguro del mismo.

Puede ser visible a simple vista como masas amorfas o seudomembranas, más o menos voluminosas y en escasa o gran cantidad, aislado, más o menos entremezclado con las heces íntimamente mezclado bajo forma de pequeños copitos inapreciables a simple vista y solo descubierto al examen macroscópico previa dilución.

6. 7. 2. EXAMEN CITOLÓGICO EN MOCO FECAL

Esta prueba sirve para identificar el tipo de glóbulos blancos que contiene el moco fecal, de esta manera se puede tener las características que esta produciendo la diarrea y nos orienta si la etiología es viral o bacteriana.

Los leucocitos solos son posible observarlos con todas sus características morfológicas y tintoriales si son eliminados con la deposición de regiones altas con tránsito acelerado, sin detención en el recorrido del tracto intestinal. De lo contrario, pierden sus características parciales o totalmente.

Bien conservado, es fácil identificarlos en los preparados sin teñir, teniendo presente el tamaño (de 12 a 14 micras, aproximadamente el doble del hematíe) u forma circular, de bordes netos, el protoplasma liso o apenas granuloso, se distingue el núcleo polimorfo

compuesto por un variable número de partes unidas por finos o gruesos puentes de cromatina, característica de gran importancia para su reconocimiento.

Las soluciones acuosas de azul de metileno o de violeta de genciana permiten una más fácil identificación al colorar el núcleo. [4]

La eliminación de leucocitos en las heces ha despertado el interés de los investigadores por establecer su asociación con cuadros diarreicos de etiología invasora. Aunque su valor como elemento de aproximación precoz al diagnostico etiológico del síndrome diarreico agudo, no ha sido claramente demostrado, la presencia de leucocitos fecales refleja una característica patogénica importante que permite distinguir dos poblaciones entre los pacientes con diarrea.

- ✓ Aquella en la cual la enfermedad cursa con un proceso inflamatorio y alteraciones anatómicas secundarias del intestino.

Otra cuya etiología no condiciona daño orgánico evidenciable. [22]

- ✓ La eliminación de leucocitos en las heces ha despertado el interés de los investigadores por establecer su asociación con cuadros diarreicos de etiología invasora.

Aunque su valor como elemento de aproximación precoz al diagnóstico etiológico del síndrome diarreico agudo, no ha sido claramente demostrado.

Willmore y Shearman en 1918 dieron importancia al estudio de leucocitos en heces para él diagnostico de la diarrea disenteriforme. Desde entonces, el perfeccionamiento de las metodologías de diagnostico permitió el descubrimiento de numerosos agentes etiológicos de diarreas, en 1972 fue reactualizado por Harris.

---

[4] FERNADEZ ,I. Edilbert.; "EL LABORATORIO Y LA CLINICA, ANALISIS DE LAS HECES" : Págs. 205-206

[22] SEPULVEDA, M. Melvy; "PREDICCIÓN ETIOLÓGICA DE LA DIARREA MEDIANTE LA CITOLOGIA DEL MOCO FECAL"; TESINA

La cantidad de leucocitos en heces varia:

- De un microorganismo a otro
  - Según el momento evolutivo de la enfermedad
  - Probablemente según el área geográfica

Shigella, Escherichia Coli enteroinvasivo y la colitis ulcerosa presentan leucocitos en mas del 70% de los casos, en 68% de los casos debidos a *Shigella* se observa 25 leucocitos por campo.

En cambio en los casos por *Salmonella*, el 50% tiene menos de tres leucocitos por campo, *Salmonella typhi*, en 95% de los casos presenta leucocitos mononucleares a diferencia de los serovars diarreogenicos que presentan polimorfonucleares. [12]

6. 7. 3. COPROCULTIVO

Es un examen bacteriológico de heces fecales que comprende la siembra, aislamiento e identificación de microorganismos existentes en dicha muestra para establecer él diagnostico de infecciones bacterianas intestinales.

El cultivo de la muestra para el aislamiento de microorganismos sigue un proceso paralelo:

- Cultivo de enriquecimiento: Este sistema de cultivo permite aumentar el número de gérmenes patógenos con relación a los microorganismos coliformes que se encuentran normalmente en heces.

- Cultivo para aislamiento primario: Este sistema de cultivo permite diferenciar a los microorganismos fermentadores de lactosa de los no fermentadores, en el

[12] Rodolfo Notario;"DETERMINACIÓN DE LEUCOCITOS EN HECES"; Cátedra de Microbiología y Parasitología; Facultad de Ciencias Medicas UNR
http://www.drwebsa.com.ar/aam/bol145/index.html

laboratorio se utilizan principalmente los siguientes medios: agar Mac Conkey, agar SS, agar EMB. Una vez sembrada la muestra se incuba 24 horas a 35 °C. [24]

6. 7. 4. IDENTIFICACIÓN BIOQUIMICA DE UNA CEPA BACTERIANA

La identificación de un aislamiento bacteriano puede realizarse utilizando diferentes combinaciones de características y diferentes criterios en la evaluación de similitudes.

Los ensayos bioquímicos tradicionalmente utilizados, llamadas pruebas bioquímicas convencionales, generalmente determinan la actividad de una vía metabólica (conjunto de reacciones químicas) a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer transforma o no.

Existen diferentes sistemas que facilitan la realización de tales ensayos, porque proponen el mejor conjunto de pruebas bioquímicas para la identificación de un grupo bacteriano.

Las pruebas o ensayos bioquímicos, son pruebas simples que se han desarrollado para demostrar en forma clara una determinada característica bioquímica como presencia o ausencia de una determinada actividad enzimatica, grupo de enzimas o determinada vía metabólica, crecimiento a una determinada temperatura, crecimiento en presencia de inhibidores, etc.

Las pruebas bioquímicas empleadas con fines de identificación para las enterobacterias y las que se utilizará en este trabajo se enumerarán a continuación:

- Prueba del Citrato
- Prueba del TSI (triple hierro azúcar)
- Prueba del LIA (Agar hierro lisina)
- Reacción de la Ureasa
- Prueba de la Motilidad

[24] TRIGOSO, Christian; "BACTERIOLOGIA BASICA" ;pp 171-172

6. 8. DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO DE LAS BACTERIAS

a) *Escherichia coli*

Él diagnostico microbiológico de los procesos diarreicos causados por *Escherichia Coli* resulta complicado debido a que esta especie es un componente abundante de la microflora normal del intestino. [35]

Escherichia coli forma colonias circulares, convexas lisas con bordes definidos. A menudo se emplean para la diferenciación química los patrones de fermentación de los carbohidratos y la actividad de las descarboxilasas de los aminoácidos y otras enzimas. Se utilizan a menudo algunas pruebas, por ejemplo, producción de indol a partir del triptofano en los sistemas de identificación rápida, en tanto que se usan menos a menudo la reacción de Voges – Prokauer.

El cultivo en medios diferenciales que contienen colorantes especiales y carbohidratos por ejemplo: Eosina y azul de metileno, medio de Mac Conkey o medio de desoxicolato distingue entre las colonias que fermentan la lactosa (adoptan color) y las que no fermentan (no se pigmentan y puede permitir la identificación presuntiva rápida de las bacterias. [9]

b) *Salmonella*

Los métodos bacteriológicos para el aislamiento de las *salmonellas* son:

- **Cultivos en medio diferencial**

Los medios EMB, MacConkey o desoxicolato permiten la identificación rápida de no fermentadores de lactosa (no solo salmonellas y shigellas sino también proteus, serratia, pseudomonas, etc.), los microorganismos grampositivos se inhiben algo.

---

[35] GASTROENTERITIS BACTERIANAS, VIRICAS, PARASITARIAS Y TOXICOINFECCIONES" http://www.seima.org/protocolos/microbiología/Indice7.htm

[9] JAWETZ,Ernest et.al; " MICROBIOLOGIA MEDICA"; pág 226

Un medio con sulfato de bismuto permite la identificación rápida de S. typhi, que forma colonia negras debido a la producción de H_2S.

- **Medios selectivos de cultivo**

La muestra se siembra en agar para salmonella-shigella (SS), agar Hektoen enterico o agar citrato y desoxicolato, medios ambos que favorecen el crecimiento de las salmonellas y las shigelas sobre otras enterobacteriaceae.

- **Medios enriquecidos**

La muestra también se siembra en selenito de fluor o caldo de tetrationato, los dos inhiben la proliferación de bacterias intestinales normales y permiten el crecimiento de salmonellas. Después de la incubación por uno o dos días, se extiende en placas de medios diferenciales o selectivos o se examina por inmunofluorescencia directa.

- **Identificación final**

Las colonias sospechosas desarrolladas en medios sólidos se identifican mediante sus patrones de reacción y pruebas de aglutinación en laminilla con sueros específicos.

c) *Shigelas*

Las *shigelas* son microorganismos anaerobios facultativos, pero crecen mejor en medio aerobio, las colonias de forma convexa circulares y transparentes alcanzan un diámetro de cerca de 2mm en 24 horas.

Todas las *shigelas* fermentan la glucosa, con excepción de *Shigella sonnei*, no fermenta la lactosa, su incapacidad para fermentar la lactosa distingue a las shigelas en medios diferenciales forman ácido a partir de los carbohidratos, pero rara vez producen gas.

Se pueden clasificar también en las que fermentan el manitol y las que no la fermentan. [9]

Las muestras de heces deben ser procesadas para cultivo idealmente dentro de las dos primeras horas tras su emisión.

Si esto no es posible, es conveniente su conservación en un medio de transporte como el Cary-Blair, las muestras conservadas en medio de transporte se mantienen en refrigerados hasta su siembra.

Entre los medios empleados para el cultivo rutinario de *Shigella sp* se pueden incluir medios diferenciales de baja o moderada selectividad como agar MacConkey, medios diferenciales más selectivos como agar xilosa-lisina-deoxicolato, agar entérico de Hektoen o salmonella-shigella y medios liquidos de enriquecimiento como caldo selenito y caldo GN.

En agar de MacConkey las cepas de *Shigella sp* aparecen tipicamente como colonias lactosa negativas, este medio permite el crecimiento de cepas que pueden ser inhibidas en otros medios entéricos más selectivos.

El medio de xilosa-lisina-deoxicolato constituye un medio de selectividad intermedia, excelente para el aislamiento y diferenciación presuntiva de estas bacterias. Las cepas raras de shigella que fermentan xilosa pueden no ser detectadas en este agar y por ello este medio debe emplearse en combinación con agar MacConkey.

Otros medios más selectivos como el agar Hectoen o el agar salmonella-shigella permiten una adecuada tasa e aislamiento de estos microorganismos y deben ser utilizados en combinación con los anteriores. En ellos, las colonias de shigella aparecen cono lactosa negativas y sin evidencia de producción de H_2S.

[9] JAWETZ,Ernest et.al; " MICROBIOLOGIA MEDICA"; pág 233; 234-235

En aquellos casos en los que la realización de coprocultivos se demore respecto al inicio delos síntomas, puede ser conveniente utilizar un caldo de 0enriquecimiento como GN o selenito.

Las colonias sospechosas en los medios diferenciales (lactosa y xilosa negativas, sin producción de H_2S) pueden ser sometidas antes de una identificación bioquímica completa a un proceso de despistaje o identificación presuntiva mediante una batería de pruebas que puede incluir además de TSI o Kliger, los medios de lisina, citrato, urea y manitol-movilidad.

Los aislamientos identificados presuntivamente como posibles *Shigella sp* debe ser definitivamente adscritos a este patógeno a partir de una identificación bioquímica completa.[35]

7. MARCO REFERENCIAL

Según la bibliografía que se refiere a este tipo de estudios tenemos las opiniones de autores como por ejemplo:

- Nava Gonzáles Matilde Maria en 1990 dijo: ”Consultando la etiología del Síndrome Diarreico las causas infecciosas son las mas importantes y entre estas la de origen bacteriano. La Entamoeba histolytica agente etiológico de la Disentería amebiana cumple un rol en el estudio global de las enfermedades diarreicas, la amebiasis ha dejado de ser una afección de países cálidos para convertirse en una enfermedad cosmopolita”. [13]

- Sepúlveda Medina Melvi Lidia en 1991 dijo: “La presencia de leucocitos fecales refleja una característica patogénica importante que permite distinguir dos poblaciones entre los pacientes con diarrea. Esta prueba puede servir de guía diagnostica y terapéutica puesto que identifica la presencia de leucocitos

[35] **“**GASTROENTERITIS BACTERIANAS, VIRICAS, PARASITARIAS Y TOXICOINFECCIONES**”** http://www.seima.org/protocolos/microbiología/Indice7.htm
[13] Matilde M. Nava G.; “MOCO FECAL”; Trabajo Monográfico de Internado; 1990

en heces indicio de colitis con lesión de la mucosa intestinal que puede ser confirmable mediante cultivo"[22]

- Silva Cachicatari Cecilia en 1990 dijo: "Este método permite tipificar la diarrea, si es infecciosa (parasitaria, bacteriana) de las otras etiologías (toxigenica, viral) estas dos ultimas no requieren un tratamiento especifico, pero si los primeros, este es un examen tan sencillo el cual nos reporta ayuda directa al enfermo" [20]

- Dra. Dorigo Giovanna, et. al. En 1986 dijeron: "El presente trabajo prospectivo trata de demostrar la importancia del examen, citodiagnóstico fecal en el diagnostico de la diarrea aguda, como método de bajo costo, práctico y aplicable en nuestro medio; teniendo en cuenta el curso autolimitado de las diarreas y la indicación restringida de antibióticos"[3]

- Larrosa, Haro A. y colaboradores en 2002 dijeron:" La realización de un protocolo de evaluación diagnostica de las heces de los niños con diarrea aguda podría resultar una herramienta útil para limitar, mas que para inducir la prescripción de fármacos o de formulas especiales. El estudio de las heces de lactantes y preescolares con diarrea aguda podría añadir a los pilares básicos de manejo, a saber, hidratación oral y alimentación normal, datos útiles para mejorar el enfoque diagnostico y terapéutico de este problema"[8]

- Dra. Mercedes Fernández García y colaboradores en 2004 dijeron: "La diarrea aguda constituye la primera causa de mortalidad en niños menores de 5 años en países en vías de desarrollo y es una de las principales causas de malnutrición.

---

[22] Melvy L. Sepúlveda M.; "PREDICCIÓN ETIOLÓGICA DE LA DIARREA MEDIANTE LA CITOLOGÍA DEL MOCO FECAL"; Tesina; 1991

[20] Cecilia Silva Cachicatari; "ESTUDIO DEL MOCO FECAL"; Trabajo Monográfico de Internado; 1990

[3] Giovanna Dorigo, et.al; "EL CITODIAGNOSTICO FECAL EN EL DIAGNOSTICO DE LA DIARREA"; Rev. Sociedad Boliviana de Pediatría; Vol. 25 (1); 1986; pp. 33 – 48

[8] Larrosa-Haro A. Et al; "UTILIDAD DEL ESTUDIO DE LAS HECES PARA EL DIAGNOSTICO Y EL TRATAMIENTO DE LACTANTES Y PREESCOLARES CON DIARREA AGUDA"; 2002; pp. 328-334

La diarrea con sangre representa aproximadamente el 10% de la diarrea aguda"[36]

8. MARCO CONCEPTUAL

Aclorhidria: Falta de ácido clorhídrico en la secreción gástrica

Amorfo*:* Que no tiene forma definida

Células Vero*:* Línea de células renales del mono verde africano.

Diarrea aguda*:* Diarrea con menos de 14 días de evolución

Diarrea con sangre*:* Episodio de evacuaciones disminuidas de consistencia (pastosas o liquidas) en las que hay sangre visible.

Diarrea infecciosa*:* Diarrea debió a una etiología infecciosa. Suele ser acompañada por náuseas, vómitos y dolor abdominal.

Eutróficos, Eutrofia*:* Estado normal de nutrición.

Esfacelada: Masa de tejido gangrenado

Mialgias*:* Dolor muscular

Mucina: Glucoproteina no liquida, constituyente principal del moco, insoluble en el agua, precipita por el ácido acético, alcohol y alumbre

[36] Mercedes Fernadez G.,et.al;" ETIOLOGÍA DE LA DIARREA CON SANGRE EN MENORES DE 5 AÑOS";2004.

Seudomenbranas: Falsa membrana o neomembrana, especialmente la formada por exudados fibrinosos, bacterias y leucocitos

Síndrome disentérico*:* Alteración en el contenido de agua, volumen o frecuencia de las deposiciones, disminución de la consistencia y un aumento de la frecuencia.

Toxina*:* Término general para las sustancias productoras de efectos tóxicos en especial las de origen vegetal, animal o bacterianos; cuyos caracteres generales más importantes son los de producir los efectos tóxicos y de ser antígenos.

Morbilidad: Número proporcional de personas que enfermedad en una población y tiempo determinados.

Mortalidad: Cifra de defunciones de niños menores de un año por cada 1000 nacidos vivos.

9. DESCRIPIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

Esta constituido por el conjunto de los niños menores de 5 años que presenten diarrea aguda y asistan al servicio de consulta externa y pacientes internos de pediatría del Hospital La Paz en el periodo de noviembre del 2004 a enero del 2005.

9.1. DESCRIPCIÓN DEL AMBITO DE ESTUDIO

El Hospital La Paz es una institución pública, se encuentra ubicada en la zona 14 de septiembre al frente de la plaza Garita de Lima.

El director es el Dr. Ramiro Pary, el hospital cuenta con tres consultorios externos de pediatría además cuenta con dos salas de internación, el hospital es de segundo nivel.

9.2. DESCRIPCIÓN DEL AMBIENTE DE TRABAJO E INVESTIGACIÓN

La investigación se realizó en el Laboratorio clínico del Hospital La Paz, en la sección de Microbiología, el laboratorio esta dirigido por la Dra. Miriam Acosta, cuenta con tres profesionales .

Este es un ambiente bien equipado con todo el material necesario para realizar dicha investigación

10. DISEÑO METODOLÓGICO

10.1. UNIVERSO

El universo en estudio son todas las muestras de heces de niños menores a 5 años con diarrea aguda que concurren a la consulta externa y pacientes internos del servicio de Pediatría en el Hospital La Paz.

10.2. POBLACIÓN

Esta constituida por 133 niños menores a 5 años con deposiciones liquidas y semilíquidas en los cuales se realizo el examen citológico en heces.

10.3. MUESTRA

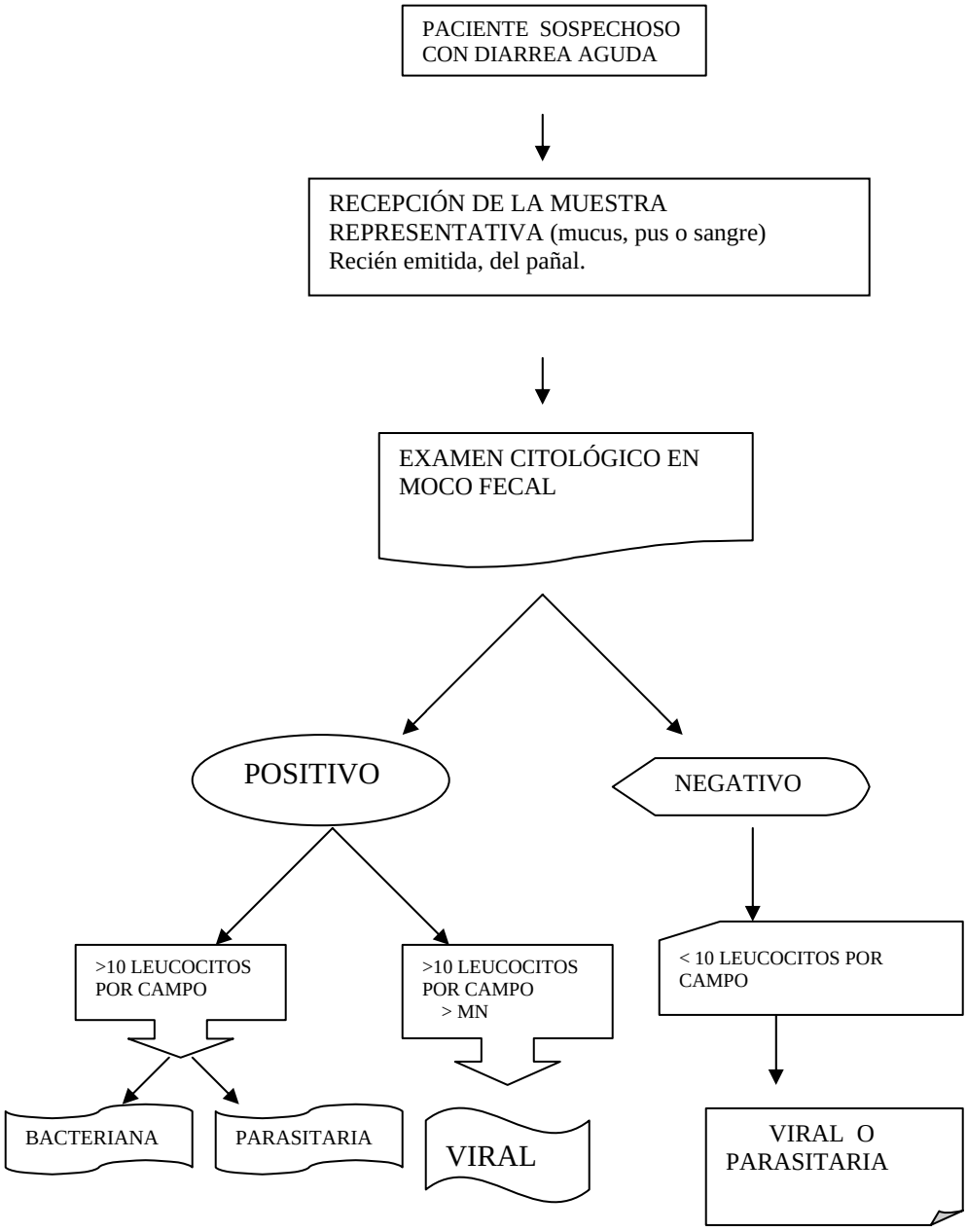
La muestra esta constituida por todas las evacuaciones diarreicas líquidas y semilíquidas con presencia de leucocitos en heces a los cuales se les realizó coprocultivos para observar el crecimiento de bacterias causantes de la diarrea

10.4. TIPO DE INVESTIGACIÓN

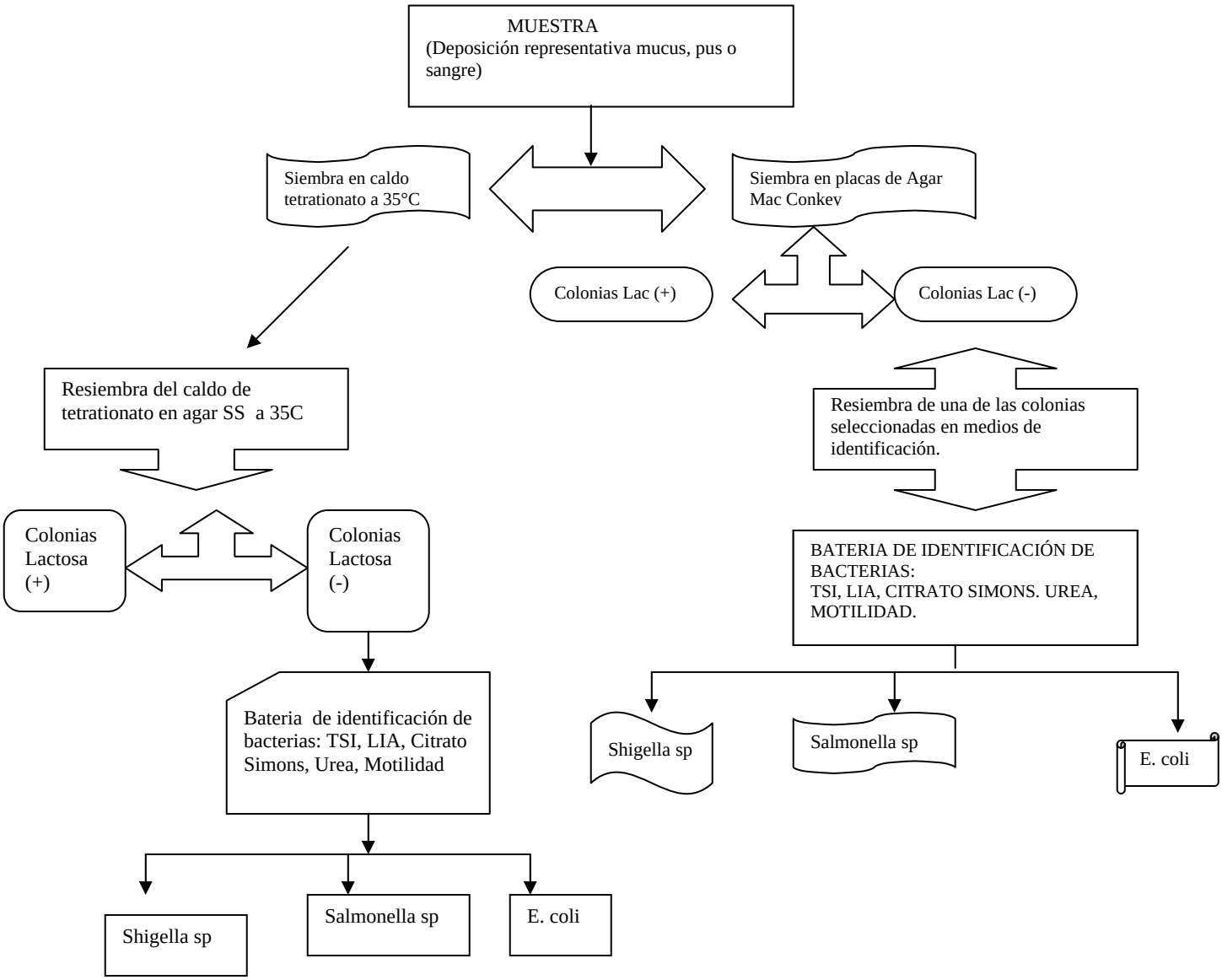
El presente trabajo es un estudio transversal longitudinal y descriptivo

10.5. RUTA CRÍTICA

- Examen microscópico de leucocitos en heces:



❖ Estudio bacteriológico: coprocultivo



11. MATERIAL Y METODO

❖ Materiales, equipo y reactivos

Material:

- Porta objetos
- Cubreobjetos
- Tubos de ensayo
- Cajas petri
- Matraces
- Probetas
- Frascos para la recolección de la muestra
- Aplicadores
- Marcadores
- Papel madera

Reactivos:

Solución de yodo

- Solución de azul de metileno
- Agua destilada
- Solución salina
- Medios de cultivo: Agar MacConkey
  Agar Salmonella – Shiguella
  TSI
  LIA
  UREA
  Citrato Simons
  Caldo de Tetrationato

Equipos:

- Microscopio
- Balanza analítica
- Autoclave
- Estufa

❖ **Método**

La metodología de estudio esta dada por 2 métodos: cuantitativa y experimental.

a) Método cuantitativo*:* Esta dado por las siguientes técnicas:

📖 Encuesta*:* Esta técnica nos permitió recabar la siguiente información:

Datos generales: Nombre, fecha de nacimiento, edad y género.

Datos clínicos: Presencia de fiebre, vómitos, días con diarrea antes de la consulta, número de deposiciones por dia.

📖 Libreta de laboratorio.- Tuvimos la siguiente información:

Consistencia de las heces, presencia de moco en las heces, presencia de sangre macroscópica, número de leucocitos por campo observado, número de eritrocitos por campo observado, porcentaje de polimorfonucleares.

b) Método experimental*:* Utilizamos las siguientes técnicas:

Examen citológico en moco fecal : Las muestras fecales se recogieron directamente en recipientes limpios y secos cerrados herméticamente.

METODO

Una vez obtenidas las muestras se realizó la inspección de las heces, se busco en la materia fecal la presencia de moco o flema.

Sobre un portaobjetos se realizó la extensión de la muestra, la cual debe tener un grosor apropiado, es decir si es demasiado espesa el enfoque será difícil y quizá no se visualicen bien los leucocitos. Para este tipo de preparación se utilizó:

Solución Salina: Se colocó una gota de solución salina en el portaobjetos y con un aplicador se levanta la parte del moco de la materia y se mezcla con la solución salina, luego se coloca el cubreobjetos y se observa al microscopio con objetivo 40x, con el propósito de visualizar parásitos.

Solución de Yodo: Se colocó una gota de solución de yodo en el portaobjetos y con el aplicador se levanta la parte de moco fecal y se mezcla con la solución de yodo, se coloca con el cubreobjetos y se observa al microscopio con objetivo 40x.

Tinción con azul de metileno: Al igual que las dos técnicas anteriores el procedimiento es el mismo, esta técnica nos ayudó a diferenciar a los leucocitos en sus núcleos.

Coprocultivo: Si la determinación de leucocitos era mayor o igual a 10 leucocitos por campo observado en 100 campos, por lo que la muestra se considero positiva y se llevo a cultivo.

METODO: Para hacer el coprocultivo se tomo las partes de la materia fecal que nos llamo la atención por su aspecto sanguinolento o mucoso, pues es allí donde abundan los microorganismos patógenos.

La inoculación de la muestra se efectuó primero en agar Mac Conkey y Caldo de Tetrationato, se incubo a 35°C durante 18 - 24 horas, pasado este tiempo se observó en las placas de agar Mac Conkey el desarrollo de colonias lactosas (+) y lactosas (-), se utilizó para el estudio las lactosas negativas las cuales se resiembran en la batería de identificación Agar triple azúcar hierro (TSI), Agar sulfuro indol motilidad (SIM), Caldo Urea, Citrato Simons (CS), Agar hierro lisina (LIA). Paralelamente se realizó la resiembra del medio de enriquecimiento que es el Caldo de Tetrationato en placas de agar SS mediante la técnica de agotamiento para obtener colonias aisladas, estas placas fueron incubadas a 35°C con el mismo tiempo. En estas placas se vio el crecimiento de colonias lactosa positiva y colonias lactosa negativa.
De esta ultima siembra se aislaron colonias Lactosa negativas, lactosa negativa sulfhídricas positivas. Cada una de estas colonias se resembró en TSI, LIA, SIM, Caldo urea; Citrato Simons.

Una vez interpretados los resultados de esta serie de reacciones bioquímicas se pudo identificar a: *Shigella sp, Salmonella sp, y Escherichia coli.*

12. RESULTADOS

Al finalizar el estudio se tuvo un total de133 muestras de las cuales 42 muestras resultaron positivas en el examen citológico en moco fecal.

Como parámetro para considerar la muestra positiva se tomo mayor o igual a 10 leucocitos por campo, en 100 campos observados (cuadro 1) .

En el cuadro 2 se observa las bacterias mas importantes que se aislaron son: *Shigella sp, Salmonella sp, Escherichia coli.*

De acuerdo a las variables tomadas en cuenta el género en el que predomino la enfermedad fue el sexo masculino con 25 pacientes del total de 42 pacientes y el sexo femenino con 17 pacientes del mismo total (Cuadro 3) .

La presencia de bacterias aisladas en el coprocultivo con la presencia de leucocitos encontrados por campo observado en el examen citológico en moco fecal positivo es mayor o igual a 10 leucocitos por campo

El estudio de las heces nos permitió identificar al parásito Entamoeba hystolítica.

CUADRO 1 CORRELACION DE LAS MUESTRAS POSITIVAS CON LEUCOCITOS POR CAMPO OBSERVADO EN DEPOSICIONES LIQUIDAS Y SEMILÍQUIDAS EN NIÑOS MENORES A 5 AÑOS QUE ACUDEN A LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DE 2005

NÚMERO DE MUESTRAS	LEUCOCITOS POR CAMPO
14	10 –15 leucocitos por campo
11	15 – 20 leucocitos por campo
2	20 – 30 leucocitos por campo
3	30 – 60 leucocitos por campo
7	Mas de 100 leucocitos por campo
5	Leucocitos campo cubierto

CUADRO 2 : IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ENCONTRADAS EN MUESTRAS DIARREICAS SEMILÍQUIDAS Y LIQUIDAS POSITIVAS DE NIÑOS MENORES A 5 AÑOS QUE ASISTEN A LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005

NUMERO DE MUESTRAS	BACTERIAS AISLADAS
3	*Shigella sp*
1	*Salmonella sp*
9	*Escherichia coli*

CUADRO 3: DETERMINACION DE PACIENTES CON MUESTRAS DIARREICAS POSITIVAS POR GENERO QUE FUERON ATENDIDOS EN LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005

SEXO	NUMERO DE PACIENTES
Masculino	25
Femenino	17

CUADRO 4: DETERMINACIÓN DE BACTERIAS AISLADAS EN EL COPROCULTIVO EN MUESTRAS DIARREICAS LIQUIDAS Y SEMILÍQUIDAS CON PRESENCIA DE MAS DE 10 LEUCOCITOS POR CAMPO OBSERVADO EN NIÑOS QUE ASISTIERON A LA CONSULTA DE PEDIATRIA DEL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005

NUMERO DE MUESTRAS	BACTERIAS AISLADAS	LEUCOCITOS POR CAMPO
3	*Shigella sp*	Leucocitos campo cubierto
9	*Escherichia coli*	Mas de 100 leucocitos por campo
1	*Salmonella sp*	30 – 60 leucocitos por campo

.

13. DISCUSIONES

La presencia de leucocitos en el moco fecal nos oriento hacia la posible etiología de la diarrea y al realizar el coprocultivo en los casos donde la presencia de leucocitos en muestras diarreicas era positivo se aislaron las siguientes bacterias: *Salmonella sp, Shigella sp, Escherichia coli,* donde mostró una evidente asociación con la presencia de leucocitos y el aislamiento de estas bacterias. Según literatura esta asociación ha sido descrita en los estudios realizados por la Dra. Mercedes Fernández García y colaboradores en el año 2004 en México y en el estudio realizado en el mismo país por el Dr. Larrosa – Haro y colaboradores en el año 2002 en donde solo se identifico *Salmonella sp* y *Shigella sp.*

En Bolivia también se realizo un estudio en donde se ve la misma asociación de bacterias aisladas, fue realizado por la Dra. Giovanna Dorigo y colaboradores en el año 1986.

El hallazgo de evacuaciones con sangre y moco y leucocitos en las heces de algunos niños en quienes se identifico quistes de *Entamoeba Hystolítica,* es interesante ya que este parásito se suele localizar en la luz del intestino, al realizar el coprocultivo se aisló *Shigela sp,* lo que nos hace suponer que la infección se producía tanto por el parásito como por la bacteria aislada.

Clínicamente estos pacientes presentaban un inicio brusco de diarrea con un promedio de 10 - 15 evacuaciones por día, con fiebre, vómitos heces mucosas y presencia de sangre macroscópica.

En el estudio realizado por el Dr Larrosa – Haro en México en el año 2002 en casi similares condiciones se identifico al *Cryptosporidium parvum* en coinfección con *Shigella sp.*[8]

En los coprocultivos procesados en donde se aislaron *Escherichia coli* la cual es fermentadora retardada de la lactosa, por las características de las pruebas bioquímicas y por el examen citológico en moco fecal donde se pudo observar mas de 100 leucocitos por campo observado y eritrocitos de 10 – 15 por campo observados. Clínicamente hubo presencia de vómitos y de fiebre, con inicio brusco de diarrea, lamentablemente no pudimos realizar la serotipificación de esa enterobacteria.

En el estudio realizado por la Dra. Mercedes Fernandez Garcia en 2004 en México se encontró de igual manera la presencia de *Escherichia coli,* y tenia las mismas características clínicas. En este estudio se pudo aislar a la *ECEI* realizando métodos serológicos.[36]

En el caso de la *Salmonella sp* se presento de 30 –60 leucocitos por campo observado con un porcentaje de 80% de leucocitos polimorfonucleares y eritrocitos 1-5 por campo observado, clínicamente se observo fiebre recurrente, vómitos , diarrea con 10 días de evolución antes de la consulta, lo que nos hace suponer que la infección se había diseminado al torrente sanguíneo. En el estudio de La Dra. Mercedes Fernández García se aisló a la *Salmonella sp* el cual fue el enteropatógeno mas frecuentemente detectado en el grupo estudiado.[36]

.

14. CONCLUSIONES

El estudio experimental realizado en el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital La Paz, en el periodo de noviembre del 2004 a enero del 2005, nos permite llegar a las siguientes conclusiones:

- Se aisló y se identifico bacterias enteropatógenas mediante coprocultivo en deposiciones diarreicas con presencia de leucocitos en niños menores de 5 años que asistieron a la consulta de pediatría en el Hospital La Paz.

- De acuerdo al sexo de los pacientes cabe notar que el mayor numero esta relacionado con el sexo masculino entre los 42 pacientes con diarrea aguda , pero no tiene relación directa con la afección diarreica .

- Por los datos obtenidos en el presente trabajo se logro identificar a las bacterias enteropatogenas causantes de diarrea aguda en niños menores de 5 años siendo estos: *Shigela sp y Salmonella sp , Escherichia coli.*

- Hacer coprocultivo en muestras diarreicas en donde la presencia de leucocitos nos da una lectura mayor o igual a 10 leucocitos por campo observado, muestra una evidente asociación de su presencia con el aislamiento de bacterias enteropatógenas.

15. RECOMENDACIONES:

1. El examen citológico en moco fecal en niños menores a 5 años con diarrea aguda debe añadirse a los pilares básicos de manejo, en donde los datos de laboratorio son útiles para mejorar el enfoque de diagnóstico y terapéutico.
2. Si el examen citológico en moco fecal es positivo, con predominio de polimorfonucleares se debe realizar coprocultivo, y el tratamiento debe ser realizado tomando en cuenta el resultado de sensibilidad del antibiograma.
3. Cuando el examen citológico en moco fecal es negativo y la diarrea persiste se debe pensar en otras causas diferentes por ejemplo: parasitosis, viral.
4. Evitar el uso indiscriminado de fármacos antidiarreicos, antiparasitarios y antibióticos que produce una influencia negativa sobre la evolución del paciente. En este estudio se evidencio una vez mas que los pacientes que se automedican, no tienen una recuperación franca y el estudio laboratorial ya no podía establecer una medicación correcta, porque el coprocultivo presentaba un resultado negativo
5. El examen de citodiagnóstico fecal, debe ser considerado un examen de urgencia, por lo tanto debería ser aceptado en todos los laboratorios en cualquier horario.
6. Es importante que el personal medico y enfermería recomienden a las mamas el lavado de manos después de haber hecho uso del baño , para evitar contagio de infecciones, también se recomienda el lavado apropiado de las mamaderas o cualquier utensilio que se utilice para dar el alimento a los niños, para evitar reinfecciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jorge Blanco et.al; ”ESCHERICHIA coli PATÓGENOS PARA SERES HUMANOS Y PARA ANIMALES”; Laboratorio de Referencia de E.coli; Departamento de Microbiología y Parasitología; Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela; campus de Lugo
http://www.lugo.usc.es/ecoli/index.html

2. Carlos Bernal Parra, et.al.; “FACTORES ASOCIADOS CON LA DIARREA CON SANGRE. UN ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES”; Rev. Órgano Oficial de la Sociedad Colombiana de Pediatría; Vol 35(1); 2002

3. Giovanna Dorigo, et.al; “EL CITODIAGNOSTICO FECAL EN EL DIAGNOSTICO DE LA DIARREA”; Rev. Sociedad Boliviana de Pediatría; Vol. 25 (1); 1986

4. Edilberto Fernadez Ithurrat; “EL LABOROTARIO Y LA CLÍNICA, ANÁLISIS DE LAS HECES”; Ed. El Ateneo; Buenos Aires – Argentina; 1957

5. Mónica García Espiga;” DIARREA CRÓNICA: DIAGNOSTICO”
http://www.lasalud.com/toma_decisiones/diarrea_cronica_DTICO.html

6. Virgilio Galvis Ramírez;“GUIA DE ATENCIÓN DE LA ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA”; OPS/OMS/UNICEF; Ministerio de Salud, Santa Fe de Bogota, D.C. 1997

7. Enrique Gonzales Corona, et al;”DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE LA DIARREA PERSISTENTE EN UN SERVICIO DE ENFERMEDADES DIARREICAS AGUDAS”; Hospital Infantil Docente Sur; Rev. MEDISAN 6(2); 2002

8. Larrosa-Haro A. Et al; “UTILIDAD DEL ESTUDIO DE LAS HECES PARA EL DIAGNOSTICO Y EL TRATAMIENTO DE LACTANTES Y PREESCOLARES CON DIARREA AGUDA”; Rev. Salud Publica Mexicana; 44; 2002

9. Ernest Jawets, et.al; “MICROBIOLOGÍA MEDICA”; Ed. El Manual Moderno; ed 14°; México D.F.; 1992

10. Xavier Miró Bedos; “ LA DIARREA”
http://www.hospitaldenense.com/portada/guiamalalties cas.html

11. Jean, Mac Faddin F.”PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA”

12 Rodolfo Notario;” DETERMINACIÓN DE LEUCOCITOS EN HECES”; Cátedra de Microbiología y Parasitología; Facultad de Ciencias Medicas UNR
http://www.drwebsa.com.ar/aam/bol145/index.html

13. Matilde M. Nava G.; “MOCO FECAL”; Trabajo Monografico de Internado; 1990

14. Guillén Prats et al;”GENERO SHIGELLA: ASPECTOS PRACTICOS PARA EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA”; Servei de Microbiología, Hospital de Sant Pau, Barcelona;1998.

15. Dalis Perez, et.al; “PAPEL DE SHIGELLA spp EN UN ESTUDIO CONTROLADO DE ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA”
http://fmc.encolombia.com/pediatria34499-papel.html

16. Raúl L. Riveron Corteguera;”FISIOPATOLOGÍA DE LA DIARREA AGUDA” Hospital Pediátrico Docente “Centro Habana”; Rev. Cubana Pediátrica 71(2);1999

17. Juan Rodés Teixidor et.al.; “MEDICINA INTERNA”; Ed. Masson S.A. ; Tomo I ; Madrid – España; 1997

18. Orlando Rodríguez Castillo, et.al.; " DIARREA AGUDA SANGUINOLENTA: BACTERIANA Y PARASITARIA"; Rev. Sociedad Boliviano de Pediatría; Vol.31 (2); 1992

19. Carlos Sánchez D, MD;"ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA (EDA)"; FEPAFEM; Bogota – Colombia.

20. Cecilia Silva Cachicatari; "ESTUDIO DEL MOCO FECAL"; Trabajo Monografico de Internado; 1990

21. Pedro Sierra Rodríguez;"ACTUALIZACIÓN DEL CONTROLDE LA ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA EN PEDIATRIA, PREVENCIÓN, DIAGNOSTICO Y TRTAMIENTO"
http://www.en colombia.com/vol33n3-pediatria-actualización2.html

22. Melvy L. Sepulveda M.; "PREDICCIÓN ETIOLÓGICA DE LA DIARREA MEDIANTE LA CITOLOGÍA DEL MOCO FECAL"; Tesina; 1991

23. Natalia Sologuren C;" ETIOLOGÍA Y MECANISMOS PATOGENICOS DE LAS DIARREAS AGUDAS".
http://www.mis webs/miweb27/index.html

24. Christian,Trigoso "BACTERIOLOGIA BASICA"

25. José B. Yung S, et.al.; "ETIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD DIARREICA AGUDA BACTERIANA EN EL HOSPITAL PEDIÁTRICO UNIVERSITARIO DE LA MISERICORDIA"; Rev. Órgano Oficial de la Sociedad Colombiana de Pediatría; Vol. 29(4); 1994

26 COPROCULTIVO
http://www.sampac.es/index.html

27 DIARREAS AGUDAS EN NIÑOS
http://www.medilegis.com/bamcoconocimiento/T/Tribuna102n3pamcdiarrea2.html

28 GASTROENTERITIS AGUDA
http://www.uninet.edu/tratado/c0303i.html

29. ESTUDIO MICROBIOLOGICO DE LAS HECES
http://edición-micro.usal.es/web/educativo/m_especial/recursos.html

30. IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA BACTERIANA
http://bilbo.edu.uy/microbio/RMVP.html

31. SÍNDROME DISENTÉRICO Y DIARREA AGUDA CON SANGRE
http://www.drscope.com/pac/infecto-1/b1/index.htm

32. DIARREA INFECCIOSA EN NIÑOS
http://www.zonapediatrica.com

33. DIARREAS AGUDAS
http://www.puritan.com/wf/healtnotes/hn75_Spanish/Es_concens/diarrea.html

34. ETAs CAUSADAS POR MICROORGAMISMOS
http://www.maayp.gba.gov.ar/alimentacion/indice.htm

35. **“**GASTROENTERITIS BACTERIANAS, VIRICAS, PARASITARIAS Y TOXICOINFECCIONES**”**
http://www.seima.org/protocolos/microbiología/Indice7.htm

36. Dra Mercedes Fernández Garcia . et.al; “ETIOLOGÍA DE LA DIARREA CON SANGRE EN MENORES DE 5 AÑOS”; Revista Cubana de Pediatria; 2004; 76 (4)

ANEXOS

MEDIOS DE CULTIVO

☺ CALDO TETRATIONATO

Es un medio selectivo de enriquecimiento líquido, empleando en el aislamiento del género *Salmonella y Shigella*. Mantiene por unas horas en fase latente el desarrollo de los *coliformes* al inhibirlos en muestras fecales, entrando *Salmonella y Shigella* en fase de crecimiento exponencial siendo así mas fácil su recuperación al realizar un resiembra en medio sólido.

Formula

Proteosa peptona ..... 5 g
Sales biliares ..... 1 g
Carbonato cálcico ..... 10 g pH 7.4 25°C
Tiosulfato sódico ..... 30 g
Agua csp ..... 1 L

Preparación

Pesar la cantidad necesaria manipulando lo menos posible y en recipientes estériles, colocar en un erlenmeyer estéril, añadir agua estéril en la cantidad necesaria, calentar hasta la ebullición agitando suavemente el recipiente. Luego enfriar hasta 45 °C, ajustar el pH y añadir yodo (a) 2 ml por 100 de medio y solución verde brillante (b) 4 ml por cada 100 de medio. Luego repartir en tubos estériles (10 ml). Una vez añadido el yodo no se debe calentar y debe utilizarse en el día. El medio base sin el yodo puede guardarse en refrigeración.

a) Solución de yodo: 6 g de yodo metálico; 5 g de yoduro de potasio; 20 ml de agua destilada estéril.

b) Solución de verde brillante: 0.1 g de verde brillante en polvo; 100 ml de agua destilada estéril.

☺ AGAR MAC CONKEY

El agar Mac Conkey con cristal violeta es una modificación del medio original de 1905. Se emplea para la detección de enterobacterias patógenas y coliformes a partir de muestras de heces, orina y otras muestras. Las sales biliares y el cristal violeta inhiben fuertemente a los Gram. (+).

Formula

Peptona de gelatina ..... 17 g
Peptona de caseína ..... 1.5 g
Peptona de carne ..... 1.5 g
Lactosa ..... 10 g
Sales biliares .... 1.5 g
Cloruro de sodio ..... 5 g
Agar ..... 13.5 g
Rojo neutro ..... 0.03 g
Cristal violeta 0.001g

PH final : 7.1 +/- 0.2 a 25 °C

Preparación

Suspender 40 g de polvo en un litro de agua destilada, calentar hasta ebullición, esterilizar a 25 libras de presión (121°C), por 15 mi nutos. Dejara enfriar hasta 45°C y distribuir en cajas Petri.

☺ AGAR SS (*SALMONELLA - SHIGELLA*)

El agar SS es un medio selectivo empleado para el aislamiento de *Salmonella o Shigella* a partir de heces, en muestras rectales o cualquier otra muestra susceptible de contener estos microorganismos.

Este medio es esencialmente una modificación del medio Desoxicolato Citrato de Leifson. Se recomienda sembrar en forma simultanea Agar Hektoen o Agar Desoxicolato para asilar fácilmente *Shigella*, para el aislamiento se *Salmonella* se recomienda hacer un enriquecimiento en Caldo Selenito durante 24 horas

Formula

Extracto de carne de buey ..... 5 g
Peptona de caseína .... 2.5 g
Peptona de carne ..... 2.5 g
Lactosa ..... 10 g
Sales biliares .... 8.5 g
Citrato de sodio ..... 8.5 g
Tiosulfato de sodio ..... 8.5 g
Citrato férrico ....1 g
Agar ..... 13.5 g
Verde brillante ..... 0.033 mg.
Rojo neutro .... 0.025 g

PH final : 7.0 +/- 0.1 a 25 °C

Preparación

Suspender 60 g de polvo en un litro de agua destilada, calentar suavemente agitando y llevar a ebullición 1 a 2 minutos.

Nota: Es importante tener cuidado de no llevar mas allá de 2 minutos de ebullición ya que puede existir perdida de agua, lo que causaría una concentración exagerada del medio inhibiendo demasiado el desarrollo de las bacterias.

Distribuir en cajas Petri, NO ESTERILIZAR

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

☺ PRUEBA DEL CITRATO SIMONS

Algunas bacterias pueden suministrar energía en ausencia de fermentación o producción de ácido láctico empleando el citrato como única fuente de carbono. Normalmente el metabolismo del citrato comprende una condensación de acetilo con la coenzi ma A y oxalacetato para entrar en el ciclo de Krebs.

El metabolismo del citrato por la mayoría de las bacterias es rápido a través del ciclo del ácido tricarboxilico o el ciclo de fermentación del citrato.

En las bacterias, el desdoblamiento del citrato comprende un sistema enzimático sin la intervención de la coenzima A, interviene la enzima Citritasa (citrato oxalacetato-liasa) o Citrato desmolasa, la enzima requiere un catión bivalente para su actividad, que es suministrado por el magnesio o el mangan eso.

Los productos obtenidos del metabolismo del citrato dependen del pH del medio, si el pH aumenta (alcalino) se produce mas acetato y formato, con una disminución de la producción de lactato y CO_2.

El primer paso de la fermentación del citrato es la producción del piruvato, la degradación del piruvato depende entonces del pH del medio.

$$\text{Citrato} \xrightarrow{\text{citritasa}} \text{oxalacetato} + \text{acetato}$$

$$\text{Oxalacetato} \longrightarrow \text{piruvato} + co_2$$

pH alcalino:

Piruvato ------→ acetato + formato

pH ácido:

2 piruvato ----→ acetato + CO_2 + lactato

2 piruvato -------→ acetoina + 2 CO_2

El medio utilizado para la utilización del citrato también contiene sales de NH_4 inorgánicas. Un microorganismo que es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono, también es capaz de utilizar sales de NH_4 como única fuente de nitrógeno. [α]

Formula

Fosfato amonico 1g
Fosfato dipotásico 1g
Cloruro sódico 5g
Citrato sódico ..... 2 g
Sulfato magnésico 0.2g
Agar ..... 15 g
Azul de bromotimol ..... 0.08 g
Agua destilada ..... 1000 ml

PH final: 6.9 +/- 0.2 a 25°C

Preparación

Suspender 24.2 g de polvo en un litro de agua destilada, calentar hasta ebullición, Repartir en tubos y esterilizar a 15 libras de presión (1 21 °C), por 15 minutos, enfriar en pico de flauta.

[α] MAC FADDIN,Jean. F."PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BA CTERIAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA"; pp. 45 -46

☺ PRUEBA DEL T.S.I (Triple azúcar hierro)

El agar triple azúcar hierro es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y la ctosa en un único medio. También permite la detección de la producción de H_2S. Es un medio útil para la identificación de enterobacterias.

El agar se prepara en forma de pico de flauta. Esto determina que existan 2 cámaras de reacción dentro del mismo tubo.

La porción inclinada (pico) expuesta en toda su superficie al oxígeno es aerobia y la porción inferior (fondo) está protegida del aire y es relativamente anaerobia. La porción inclinada del tubo que está expuesta al oxígeno atmosférico tiende a tornarse alcalina (roja por el rojo fenol) por la utilización aerobia de las peptonas.

En el fondo del tubo, donde no hay oxígeno, la degradación proteica es mínima y se pueden detectar pequeñas cantidades de ácido por la aparición de un color amarillo (indicador: rojo fenol). En ausencia de fermentación de carbohidratos, no se formarán ácidos y por la producción de aminas en el pico, todo el medio quedará rojo. Esto se da en organismos no fermentadores.

El medio está diseñado de tal forma que la glucosa se encuentra en una proporción 10 veces menor que la lactosa y la sacarosa. Si el TSI es inoculado con una bacteria fermentadora de glucosa pero no de lactosa ni de sacarosa, la cantidad de ácido producida por fermentación a partir de la glucosa será baja porque la concentración de glucosa es baja. Al principio se producirá viraje del indicador al amarillo en tubo, pero al continuar la incubación, el pico del tubo retornará al rojo por la degradación aerobia de las peptonas antes descrita.

Si el microorganismo fermenta la lactosa y/o la sacarosa, como las concentraciones de estos azúcares es 10 veces mayor, se producirá mayor cantidad de ácido que no puede ser revirado por la producción de aminas en la superficie por metabolismo aerobio.

La producción de H_2S a partir de tiosulfato se pone en evidencia por precipitar el Fe^{+2} del sulfato ferroso. Como esta reacción se da sólo en medio ácido, un ennegrecimiento del fondo del tubo se lee como fermentación de algunos de los azúcares del medio. Además puede observarse la producción de gas, como burbujas en el fondo del tubo

Formula

Peptona ..... 20 g
Cloruro de sodio ..... 5 g
Lactosa ..... 10 g
Sacarosa ..... 10 g
Glucosa ..... 1 g
Sulfato de hierro y amonio ..... 0.2 g
Tiosulfato sódico .....0.2 g
Rojo fenol ..... 0.025 g
Agar .....13 g

PH final: 7.3+/- 0.2 a 25°C

Preparación

Suspender 62.5 g de polvo en un litro de agua destilada, calentar hasta ebullición.
Repartir en tubos, esterilizar a 15 libras de presión (121°C), por 15 minutos, enfriar en pico de flauta.

Nota: Para resultados más óptimos se recomienda qu e la base debe ser por lo menos igual a dos veces el diámetro del tubo.

☺ PRUEBA DEL L.I.A (Agar hierro lisina)

Este ensayo permite diferenciar los microorganismos que producen descarboxilación o desaminación de la lisina. Se puede detectar además la producción de H_2S y es más sensible que el TSI para la detección de H_2S. Es muy utilizado para descartar *Salmonella* de aislamientos primarios.

Durante las primeras etapas de la incubación el fondo virará el indicador de pH del medio al ácido (amarillo) por la fermentación de la glucosa. Luego, si el aminoácido es descarboxilado, se forman aminas que provocan un retorno al color original del medio o un viraje al alcalino (púrpura). En la desaminación se produce un ácido carboxílico y NH_3 y se visualiza en la superficie por la aparición de un color rojo. La producción de sulfhídrico a partir de tiosulfato se pone en evidencia por la precipitación de sulfuro ferroso de color negro. [β]

Formula

Peptona tripticasa de gelatina 5g

Extracto de levadura 3g

Glucosa ..... 1 g

L-lisina .... 10 g
Citrato de hierro y amonio ..... 0.50 g

Hiposulfito sódico ..... 0.04 g

Púrpura de bromocresol .... 0.02 g

Agar ..... 13.6 g

PH final: 6.7 +/- 0.1 a 25°C

Preparación

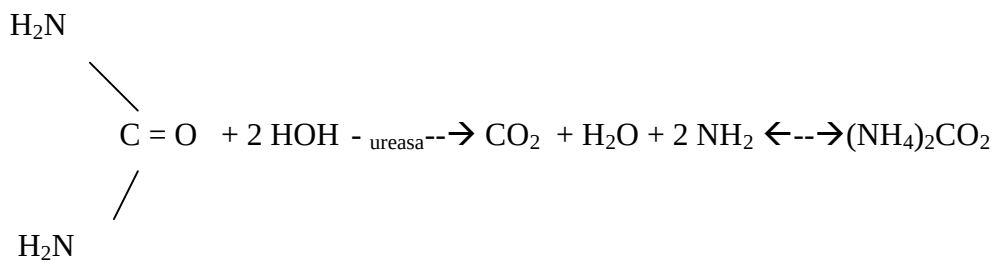
[β] IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA BACTERIANA : http://bilbo.edu.uy/~microbio/King.html

Suspender 33 g de polvo en un litro de agua destilada, calentar h asta ebullición, repartir en tubos. Esterilizar a 15 libras de presión (121 °C), por 15 minutos, enfriar los tubos en pico de flauta.

☺ PRUEBA DE LA UREASA

El sustrato urea es una diamina del ácido carbónico, a la que frecuentemente se menciona como carbamida. Todas las amidas son rápidamente hidrolizadas.

La hidrólisis de la urea es catalizada por una enzima específica la ureasa, para dar dos moléculas de amoniaco. En solución la urea se hidroliza, dando carbonato de amonio como producto final.



La ureasa es una importante enzima microbiana vinculada con la descomposición de los compuestos orgánicos. Las enzimas bacterianas se clasifican en constitutivas o adaptativas. Una enzima adaptativa o inducida es aquella que es producida por una bacteria solamente cuando se encuentra presente en un sustrato especifico. La ureasa es considerada una enzima constitutiva dado que es sintetizada por ciertas bacterias sin tener en cuenta la presencia o ausencia de su sustrato, la urea. [α]

[α] MAC FADDIN, Jean. F."PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE BACTE RIAS DE IMPORTANCIA CLÍNICA"; pp. 183 -184

☺ PRUEBA DE LA MOTILIDAD

Las bacterias tienen motilidad por medio de los flagelos, que se encuentran principalmente entre los bacilos (bacterias en forma de bastoncillo); sin embargo, algunas formas de cocos son móviles.

Las bacterias móviles pueden contener un solo flagelo o muchos; además su localización varia con la especie bacteriana y las condiciones de cultivo.

ENCUESTA

FICHA EPIDEMIOLOGIA N°:

FECHA:

I. DATOS GENERALES DEL PACIENTE:

1. Edad: 0 – 3 meses ; 4 – 7 meses ; 8 – 11 meses; 1 año ; 2 años ; 3 años ; 4 años ; 5 años

2. SUMI 3. Sexo: M F

II. DATOS CLINICOS DEL PACIENTE

1. Presencia de vómitos SI NO

2. Presencia de fiebre SI NO

3. Días que presenta diarrea antes de la consulta : 1 – 3 ; 4 – 6; 7 – 10; >10 días

4. Número de deposiciones por día: 1 – 5 ; 6 – 10 ; 10 – 15; > 15 días

5. Tuvo tratamiento previo: SI NO

LIBRETA DE LABORATORIO

I. DATOS DE LA MUESTRA:

1. Consistencia que presentan las heces:

Liquida Semilíquida Pastosa

2. Presencia de moco /flema en las heces

SI NO

3. Presencia de sangre macroscópica

SI NO

II. EXAMEN CITOLÓGICO DEL MOCO FECAL

1. Número de leucocitos por campo observado:
2. Porcentaje de polimorfonucleares :
3. Porcentaje de mononucleares:
4. Número de eritrocitos por campo observado:
5. Flora bacteriana:

6. Otros:

III. COPROCULTIVO:

1. Lactosa: POSITIVO NEGATIVO

2. Germen identificado:

IV. PRUEBAS BIOQUÍMICAS

T.S.I: Fondo
Estría
H_2S
Gas

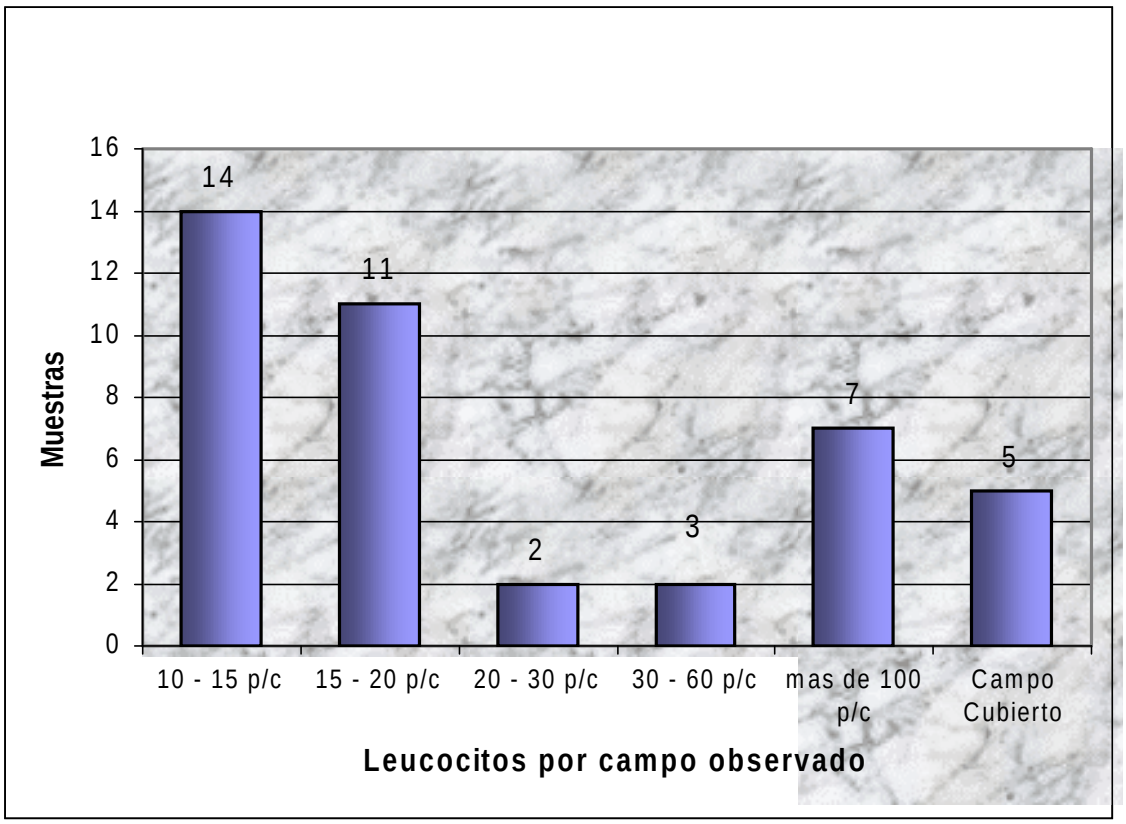
S.I.M: Sulfuro
Indol
Motilidad

L.I.A: Fondo
Estría

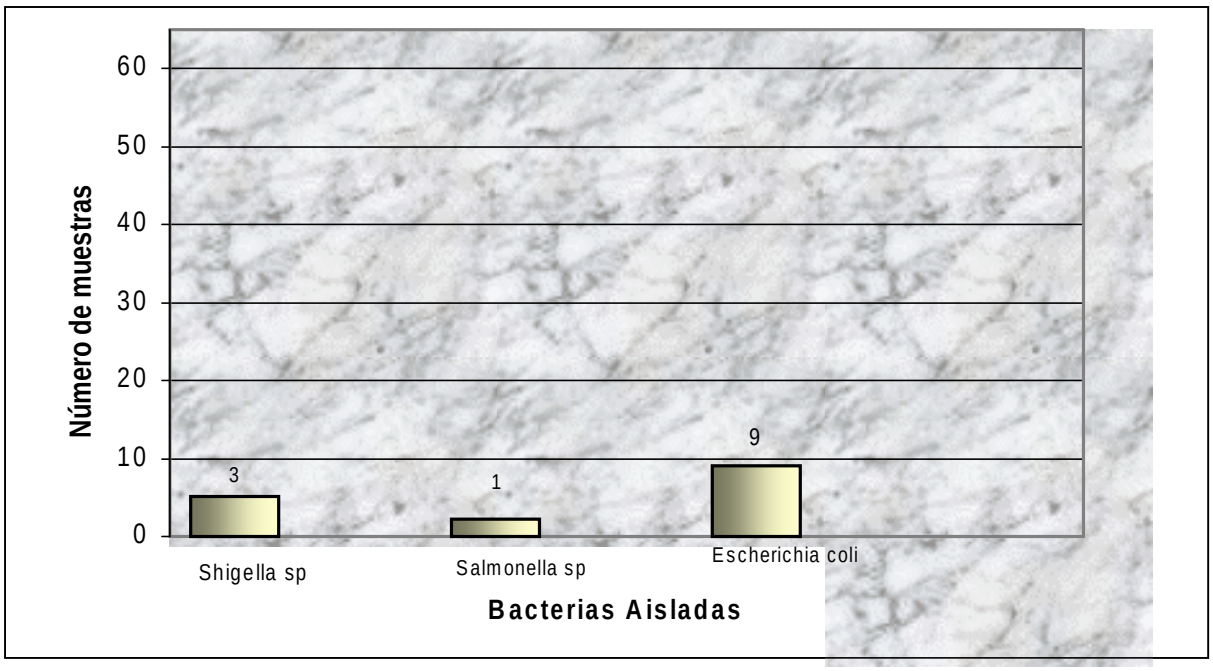
Citrato Simons: POSITIVO NEGATIVO

UREA: POSITIVO NEGATIVO

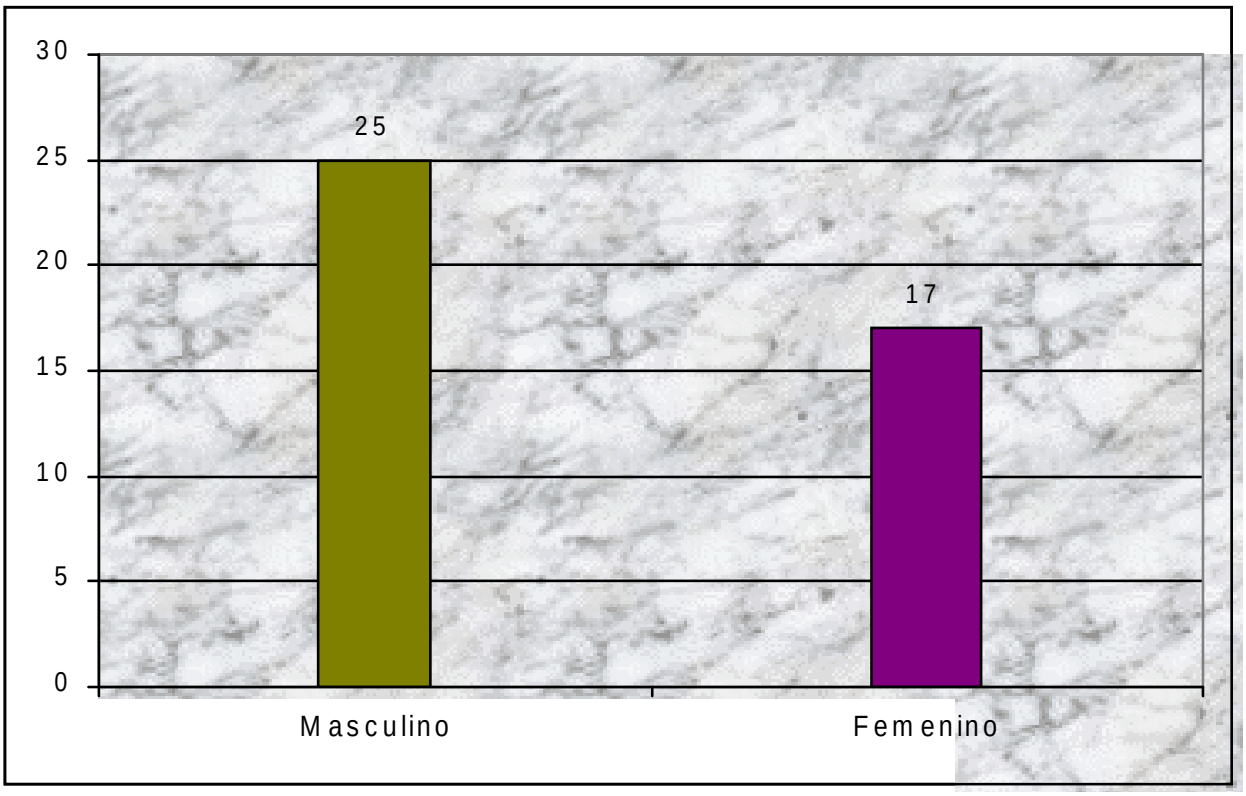
GRÁFICA 1 CORRELACION DE LAS MUESTRAS POSITIVAS CON LEUCOCITOS POR CAMPO OBSERVADO EN DEPOSICIONES LIQUIDAS Y SEMILÍQUIDAS DE NIÑOS MENORES A 5 AÑOS QUE ACUDEN A LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005



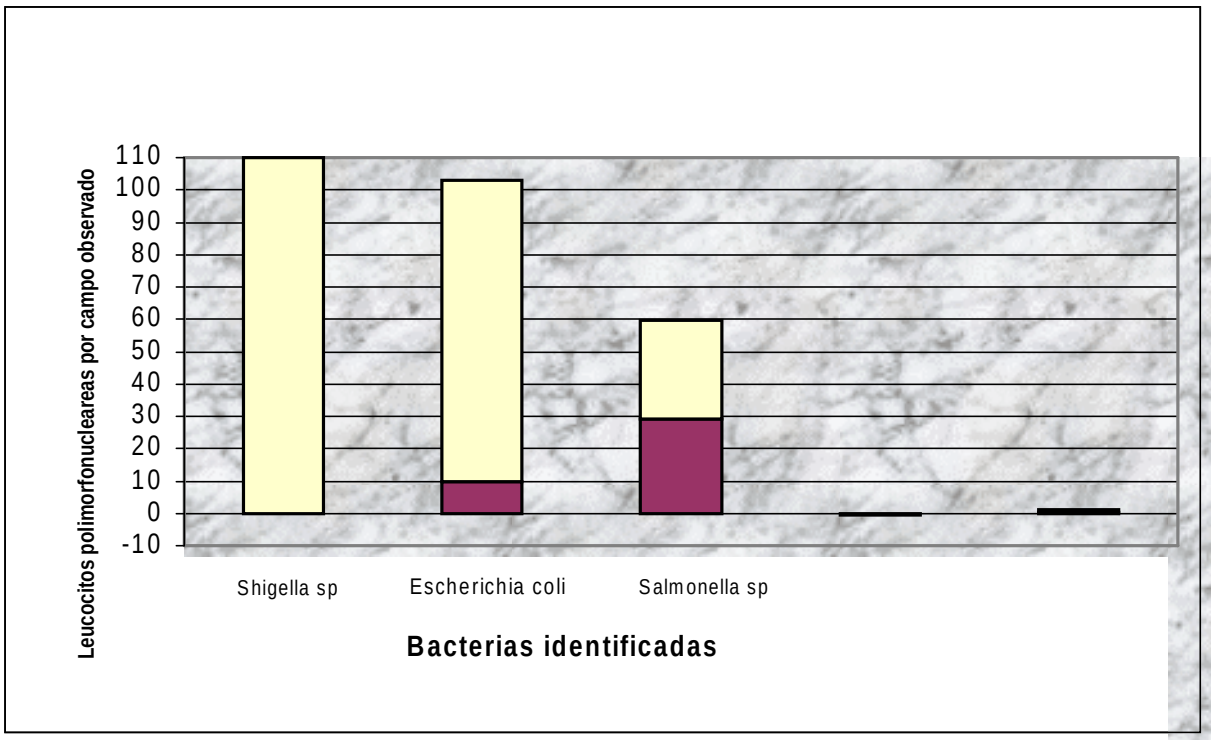
GRAFICA 2 : IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ENCONTRADAS MUESTRAS DIARREICAS SEMILÍQUIDAS Y LIQUIDAS POSITIVAS DE NIÑOS MENORES A 5 AÑOS QUE ASISTIERON A LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005

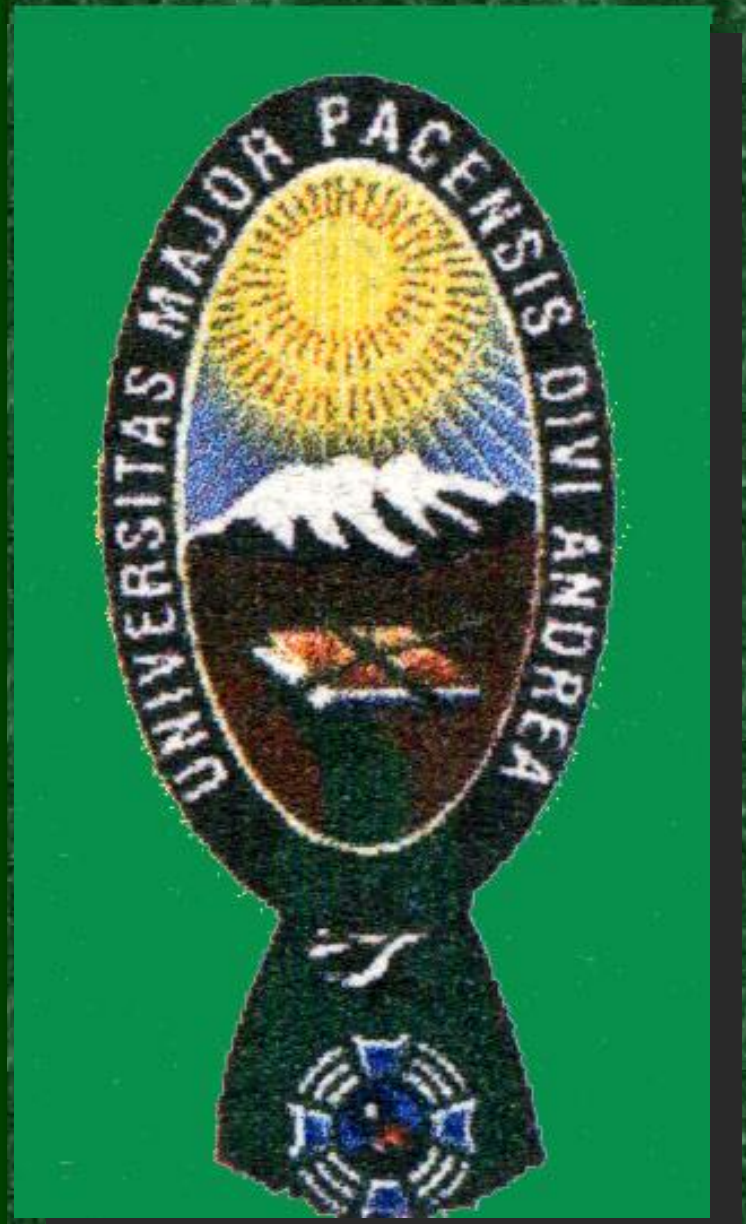


GRAFICA 3: DETERMINACIÓN DE PACIENTES CON MUESTRAS DIARREICAS POSITIVAS POR GENERO QUE FUERON ATENDIDOS EN LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005



GRAFICA 4: DETERMINACIÓN DE BACTERIAS AISLADAS EN EL COPROCULTIVO EN MUESTRAS DIARRREICAS LIQUIDAS Y SEMILÍQUIDAS CON PRESENCIA DE MAS DE 10 LEUC OCITOS POR CAMPO OBSERVADO EN NIÑOS QUE ASISTIERON A LA CONSULTA DE PEDIATRIA DEL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005





UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICAS

CARRERA DE BIOQUIMICA

AISLAMIENTO DE BACTERIAS ENTEROPATÓGENAS EN CITOLOGÍA DE MOCO FECAL POSITIVOS EN NIÑOS MENORES A 5 AÑOS QUE ASISTEN A LA CONSULTA DE PEDIATRIA EN EL HOSPITAL LA PAZ EN EL PERIODO DE NOVIEMBRE DEL 2004 A ENERO DEL 2005

POSTULANTE:

MARÍA JULIA RODRÍGUEZ ORELLANA

ASESORES:

Dra. MARCELA HERRERA

Dra. ROSARIO MAYDANA

INTRODUCCIÓN

- La diarrea es causada por agentes infecciosos como ser virus, bacterias y protozoarios, estos agentes se transmiten por vía fecal – oral.
- El coprocultivo cumple con la metodología adecuada para identificar las bacterias enteropatógenas.
- Por ello al haberse reconocido la presencia de leucocitos en las evacuaciones es que debemos sospechar de una infección y confirmarla mediante el uso del coprocultivo.

JUSTIFICACIÓN

El propósito de este trabajo es el de realizar la identificación de las bacterias enteropatógenas aisladas mediante coprocultivo en diarreas líquidas y semilíquidas con presencia de leucocitos a predominio de polimorfonucleares en niños menores a 5 años.

OBJETIVO GENERAL

Identificar bacterias enteropatógenas en citología de moco fecal positivos en niños menores a 5 años que asisten a la consulta de Pediatría en el Hospital La Paz, en el periodo de noviembre del 2004 a enero del 2005.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el género que se presenta en el mayor número de casos de diarrea aguda.
- Identificar los tipos de bacterias causantes de diarrea aguda en niños con diagnóstico de diarrea
- Determinar la correlación entre la cantidad de leucocitos por campo observado en diarreas líquidas y semilíquidas y el desarrollo positivo de bacterias aisladas en coprocultivos

METODOLOGIA

PACIENTE SOSPECHOSO CON DIARREA AGUDA

↓

RECEPCION DE LA MUESTRA

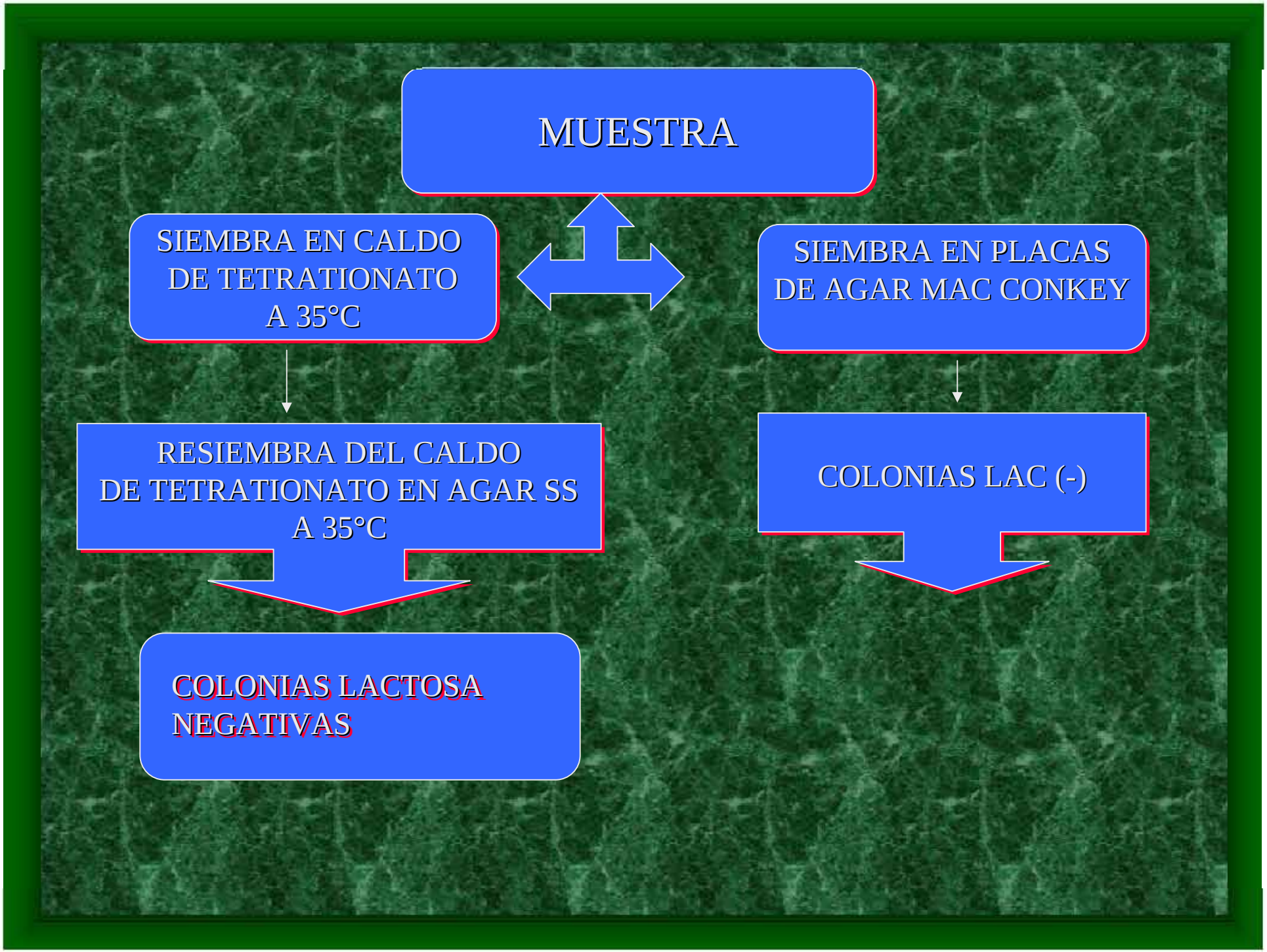
↓

EXAMEN CITOLOGICO EN MOCO FECAL

POSITIVO MAYOR A 10 LEUCOCITOS POR CAMPO

BACTERIANA

COPROCULTIVO


MUESTRA
SIEMBRA EN CALDO DE TETRATIONATO A 35°C
SIEMBRA EN PLACAS DE AGAR MAC CONKEY
RESIEMBRA DEL CALDO DE TETRATIONATO EN AGAR SS A 35°C
COLONIAS LAC (-)
COLONIAS LACTOSA NEGATIVAS

RESIEMBRA DE LAS COLONIAS SELECCIONADAS EN MEDIOS DE IDENTIFICACIÓN

BATERIA DE IDENTIFICACIÓN: TSI, LIA CS, UREA, MOTILIDAD

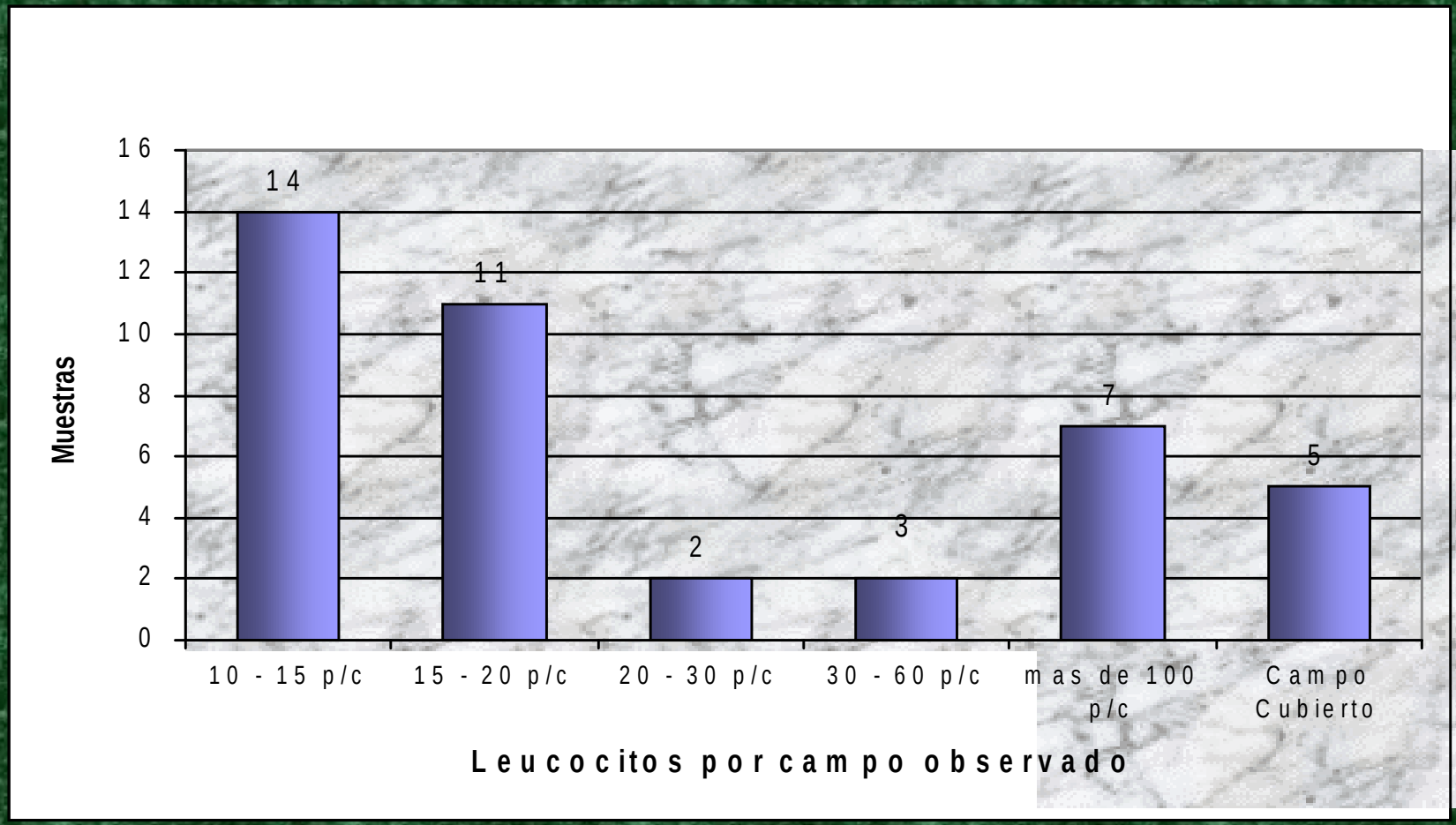
SHIGELLA sp

E. coli

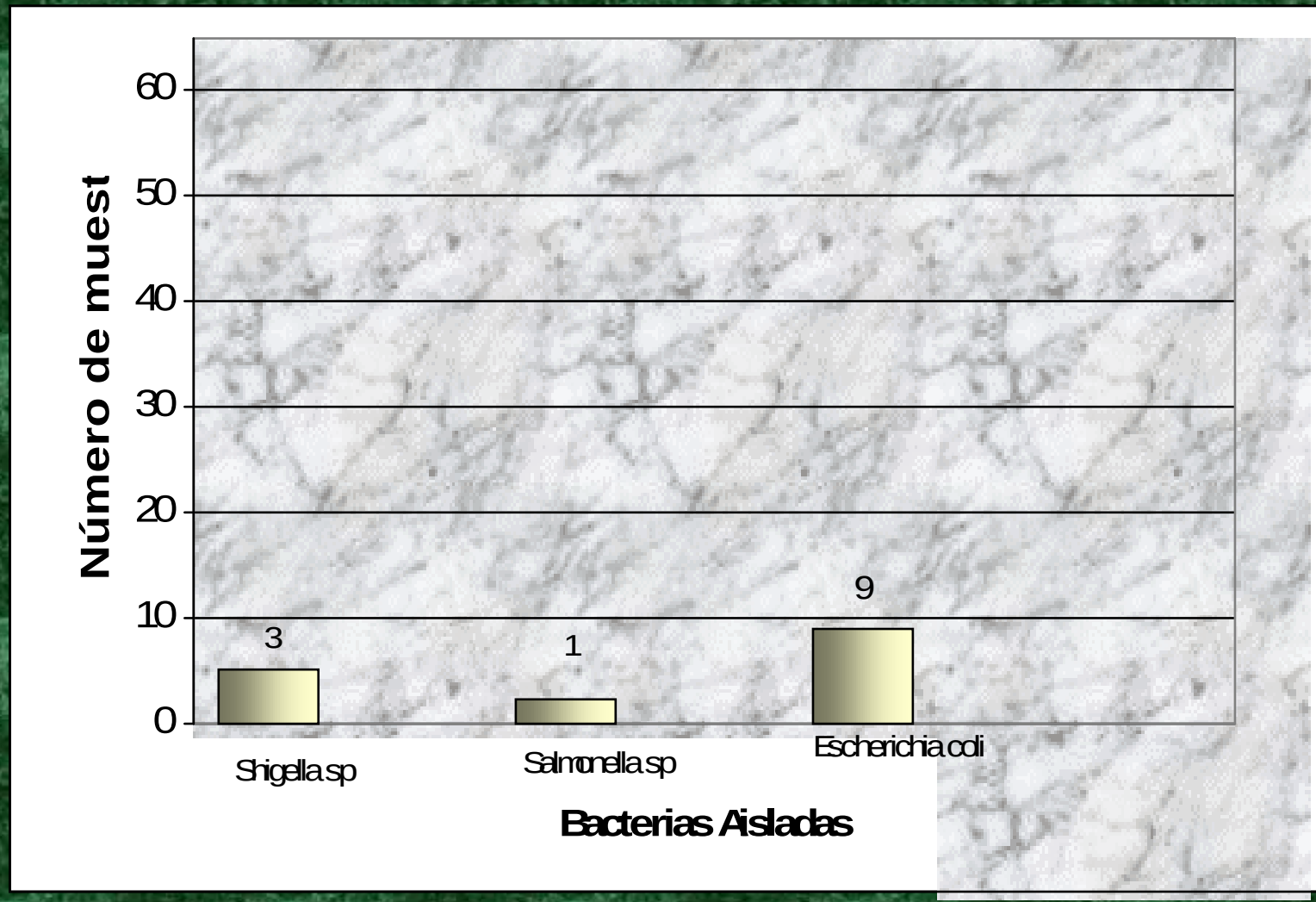
SALMONELLA sp

RESULTADOS

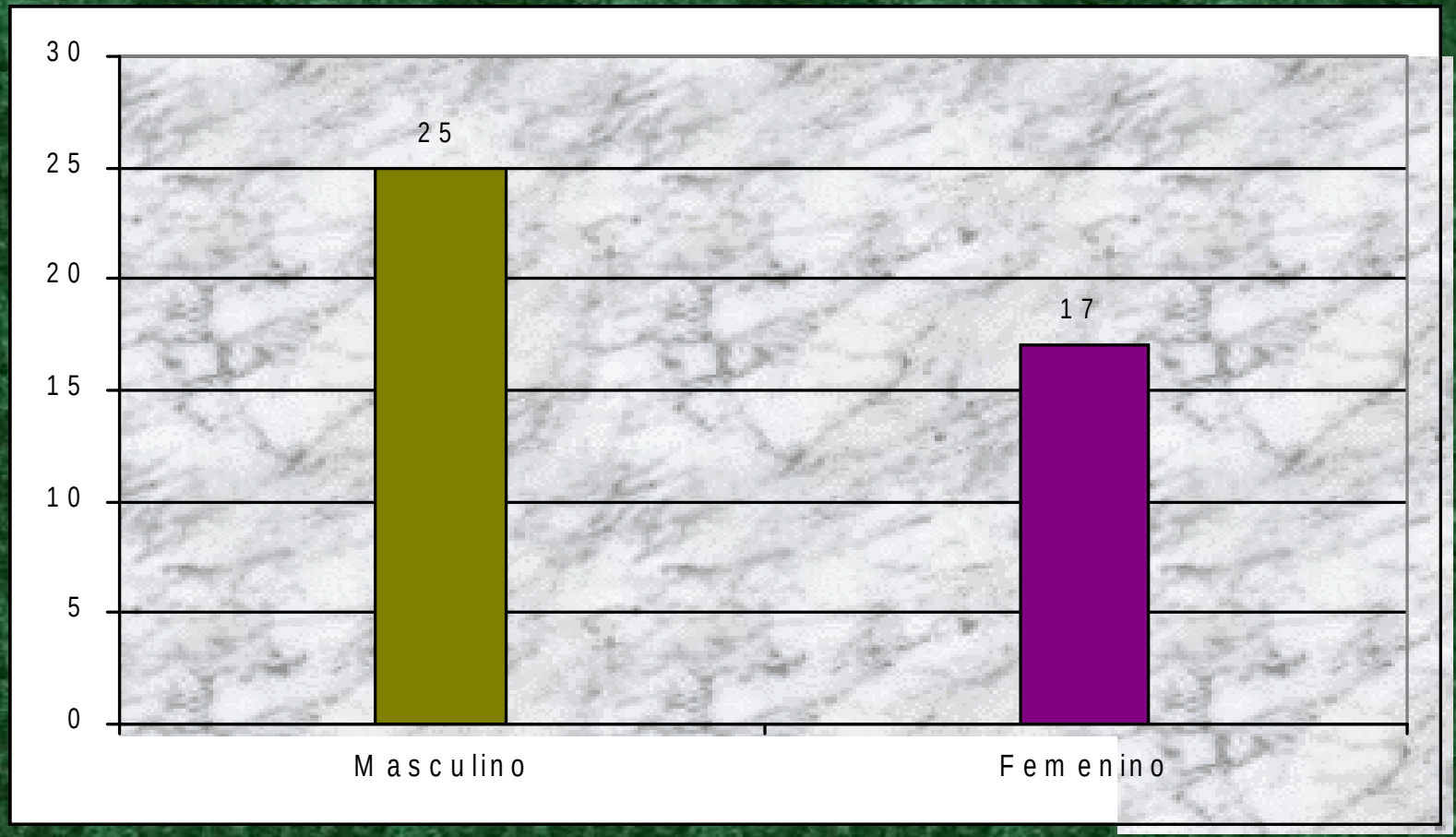
GRAFICA 1



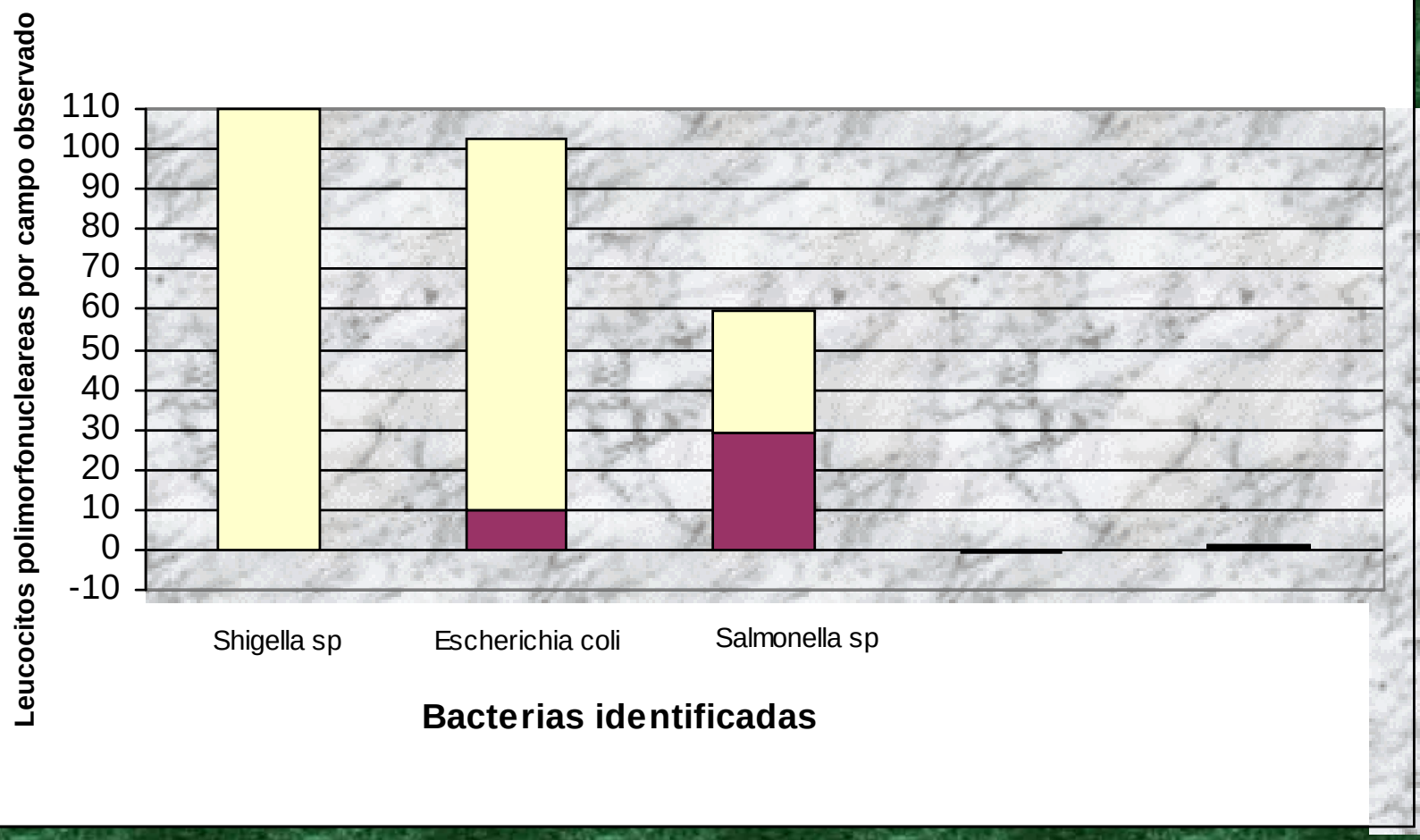
GRAFICA 2


Número de muest
60
50
40
30
20
10
0
3
1
9
Shigella sp
Salmonella sp
Escherichia coli
Bacterias Aisladas

GRAFICA 3



GRAFICA 4


Leucocitos polimorfonucleareas por campo observado
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
Shigella sp
Escherichia coli
Salmonella sp
Bacterias identificadas

DISCUSION

- La presencia de leucocitos en el moco fecal nos oriento hacia la posible etiología de la diarrea y al realizar el coprocultivo en los casos donde la presencia de leucocitos en las muestras era positivo se aislaron las siguientes bacterias: *Salmonella sp, Shigella sp, Escherichia coli,* donde se mostró una asociación con la presencia de leucocitos y el aislamiento de estas bacterias.

CONCLUSIONES

- Se aisló y se identifico bacterias enteropatógenas mediante coprocultivo en deposiciones diarreicas con presencia de leucocitos en niños menores a 5 años que asistieron a la consulta de pediatría en el Hospital La Paz.
- De acuerdo al sexo de los pacientes cabe notar que el mayor numero esta relacionado con el sexo masculino entre los 42 pacientes con diarrea aguda.

Por los datos obtenidos se logro identificar a las bacterias enteropatógenas causantes de diarrea aguda, siendo estos: *Shigella sp Salmonella sp y Escherichia coli.*

Las muestras diarreicas en donde la presencia de leucocitos nos da una lectura mayor o igual a 10 leucocitos por campo observado, muestra una asociación con el aislamiento de bacterias enteropatógenas

RECOMENDACIONES

- El examen citológico en moco fecal en niños menores a 5 años con diarrea aguda debe añadirse a los pilares básicos de manejo, en donde los datos de laboratorio son útiles para mejorar el enfoque de diagnóstico y terapéutico.

  Evitar el uso indiscriminado de fármacos antidiarreicos, antiparasitarios y antibióticos. En este estudio se evidencio que los pacientes que se automedican, no tienen una recuperación franca y el estudio laboratorial ya no podía establecer una medicación correcta, porque el coprocultivo presentaba un resultado negativo