

Etiología de la enfermedad diarreica aguda (EDA) de origen bacteriano, utilizando un protocolo estandarizado de laboratorio

Edilma Jaramillo¹, Santiago Estrada², Sigifredo Ospina³

Resumen

La EDA es una de las primeras causas de morbimortalidad en el mundo a pesar de los grandes avances en el diagnóstico y tratamiento. Definir con precisión la etiología de la EDA ha sido un reto permanente para el laboratorio de microbiología, puesto que en muchas casos esta no logra determinarse. Se realizó un estudio retrospectivo con el fin de describir la etiología bacteriana de la EDA en muestras remitidas por los diferentes hospitales del departamento de Antioquia al Laboratorio Departamental de Salud Pública. Se estudiaron un total de 874 muestras, de las cuales se encontró etiología bacteriana en el 20.6%. Los agentes aislados fueron: *Salmonella* no *typhi* 6.5%, *Campylobacter* spp. 3.5%, *A. hydrophila* 3.3%, *Shigella* spp. 2.7%, *E. coli* enteropatógeno 2.1%, *V. cholerae* 1.4% y *S. typhi* en 0.4%. Aunque la etiología encontrada concuerda con lo informado por otros autores; llama la atención el relativo bajo porcentaje de aislamientos. Sin embargo, debe tenerse presente que no se estudiaron otras causas bacterianas de EDA, ni etiologías virales, parasitarias o micóticas, ni se controlaron variables como uso previo de antibióticos ni aspectos clínicos.

La Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) continúa siendo el mayor problema de salud pública en el mundo. Se estima que anualmente ocurren un billón de episodios de diarrea en menores de cinco años, cinco millones de los cuales mueren por esta causa (1). La EDA ocupa el segundo lugar dentro de la enfermedad sintomática, después del resfriado común (2), llegando a convertirse en la causa más común de consulta general en Estados Unidos (3). Para el departamento de Antioquia la incidencia general de EDA en 1996 fue de 3.322 casos por cien mil habitantes (4).

Teniendo en cuenta esta información global el Laboratorio Departamental de Salud Pública (LDSP) de Antioquia, Colombia, diseñó un protocolo de labo-

torio para conocer los agentes bacterianos de fácil aislamiento en el laboratorio de microbiología clínica y determinar que papel juegan estos agentes dentro de la etiología de la EDA

Materiales y método

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo en el LDSP de la ciudad de Medellín, centro de referencia y de diagnóstico para el segundo y tercer niveles de complejidad, y centro de apoyo en enfermedades objeto de vigilancia epidemiológica y de impacto en salud pública. El estudio fue realizado en el período comprendido entre los años 1993 a 1996, durante el cual se recogió la información a través de un formulario diseñado con este fin, el cual incluía variables de

1. Bacterióloga. Laboratorio Departamental de Salud Pública, Medellín.

2. Especialista en microbiología y parasitología médicas. Laboratorio Departamental de Salud Pública, Medellín.

3. Epidemiólogo y especialista en microbiología y parasitología médicas. Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín.

edad, sexo y agente etiológico. Para la tabulación de los datos y el análisis de la información se utilizó el programa Epi info 6.0.

Población. Se estudiaron todas las muestras de los pacientes que fueron remitidos por las diferentes Empresas Sociales del Estado (ESE) del departamento de Antioquia, a quienes se les solicitó estudio bacteriológico que permitiera aclarar la etiología bacteriana de la EDA

Procedimiento de laboratorio. Las muestras se tomaron en cada uno de los sitios, utilizando aplicadores de algodón, colocados en el medio de transporte de Cary-Blair y enviados al LDSP a temperatura ambiente en un periodo no mayor de 24 horas. En el laboratorio de referencia, se procesó la muestra utilizando el siguiente protocolo: La muestra se recibió en la sección de bacteriología clínica del LDSP y se procesó inmediatamente, siguiendo los siguientes pasos: placa para Gram modificado, cultivos en agar MacConkey, XLD, Hektoen, TCBS, y en caldos de Selenito F y agua peptonada alcalina pH 8.4; estos se subcultivaron a las ocho horas en los medios de XLD y Hektoen para la recuperación de *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. y en TCBS para *Vibrio cholerae* respectivamente. Los agares se incubaron por 18 horas a 37°C. Las colonias sospechosas en los diferentes agares se procesaron hasta la identificación final. El protocolo incluyó la búsqueda de los siguientes agentes bacterianos causantes de EDA: *V. cholerae*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, y *Campylobacter* spp. Para este último solo se practicó Gram modificado.

Resultados

Durante el periodo comprendido entre los años 1993 a 1996 (cuatro años), se procesaron un total de 1082 coprocultivos, de los cuales en 874 se obtuvo la información completa y por lo tanto fueron incluidos en el estudio. 50.3% de los pacientes fueron mujeres y 49.7% hombres. El grupo de edad que más casos aportó para este estudio fue el de 15 a 44 años con 363 (41.5%) coprocultivos, seguido del de cero a cuatro años con 263 pacientes y los otros grupos en menor número, (Tabla 1).

De los 874 coprocultivos procesados, se encontró etiología bacteriana en 20.6%, en el resto no se obtuvo crecimiento de las bacterias investigadas.

En cuanto a la distribución de la EDA por grupos etáreos, ésta se comportó de la siguiente manera: de

los 874 coprocultivos en los cuales se obtuvo la información, 263 pertenecían a pacientes de cero a cuatro años, en quienes en 215 (81.7%) no se encontró etiología bacteriana. Los agentes aislados en orden de frecuencia fueron: *E. coli* enteropatógeno en 18 (6.8%), *Salmonella* no *typhi* y *A. hydrophila* cada una en 11 (4.1%), *Shigella* spp. en cinco (1.9%), *V. cholerae* en dos (0.7%) y *S. typhi* en un niño (0.4%) (Tabla 1).

En el grupo de cinco a 14 años se procesaron 75 coprocultivos de los cuales en 54 (72%) no se encontró etiología bacteriana y en el resto los agentes aislados en orden de frecuencia fueron: *Salmonella* no *typhi* y *Campylobacter* spp. cada una en seis (8.2%) de los pacientes, seguidas de *V. cholerae* en cuatro (5.3%), *Shigella* spp. en tres (4.0%) y *A. hydrophila* y *E. coli* enteropatógeno cada una en un paciente (1.3%) (Tabla 1).

En el grupo de 15 a 44 años se procesaron 363 coprocultivos de los cuales en 282 (77.6%) no se encontró etiología bacteriana. Los agentes aislados en orden de frecuencia fueron: *Salmonella* no *typhi* en 34 (9.4%) pacientes, *Campylobacter* spp. y *Shigella* spp. cada una en 13 (3.6%), *A. hydrophila* en 12 (3.3%), *V. cholerae* en seis (1.7%) y *S. typhi* en tres (0.8%), Tabla 1.

En el grupo de 45 a 59 la distribución por gérmenes aislados en orden de frecuencia fue: *Campylobacter* spp. en siete (8.0%) de los pacientes, *Salmonella* no *typhi* en cuatro (4.5%) y *A. hydrophila* y *Shigella* spp. en dos (2.2%) pacientes cada una; de un total de 89 coprocultivos procesados en este grupo de pacientes, en los cuales en 74 (83.0%) no se detectó etiología bacteriana (Tabla 1).

Por último en el grupo de 60 y más años se procesaron 84 coprocultivos, de los cuales en 73 (87%) no se encontraron agentes bacterianos. La frecuencia de los encontrados se distribuyó así: *Campylobacter* spp. en cinco (6.0%), *A. hydrophila* en tres (3.6%), *Salmonella* no *typhi* en dos (2.4%) y *Shigella* spp. en uno (1.2%) de los pacientes.

Discusión

La EDA es una enfermedad producida por múltiples agentes etiológicos dentro de los cuales se encuentran agentes infecciosos tales como bacterias, hongos, virus y parásitos, y otros no infecciosos (3); nuestra discusión se enfocará exclusivamente a la diarrea de origen bacteriano.

Salmonella no *typhi*

En esta investigación se aisló como el agente más frecuente y todos los grupos se vieron afectados. Los

TABLA 1.
Etiología bacteriana de la enfermedad diarreica aguda
por grupos de edad 1993-1996

GERMEN	GRUPOS DE EDAD										TOTAL	
	0-4		5-14		15-44		45-59		60 y +		N°	%
Salmonello no typhi	11	4.1	6	8.2	34	9.4	4	4.5	2	2.4	57	6.5
A. hydrophila	11	4.1	1	1.3	12	3.3	2	2.2	3	3.6	29	3.3
Campylobacter sp	0	0	6	8.2	13	3.6	7	8.0	5	6.0	31	3.5
Shigella sp	5	1.9	3	4.0	13	3.6	2	2.2	1	1.2	24	2.7
E. coli enteropatógeno	18	6.8	1	1.3	0	0	0	0	0	0	19	2.1
V. cholerae	2	0.7	4	5.3	6	1.7	0	0	0	0	12	1.4
S typhi	1	0.4	0	0	3	0.8	0	0	0	0	4	0.4
Sin germen	215	81.7	54	72.0	282	77.6	74	83.0	73	87.0	698	79.4
TOTAL	263	30	75	8.6	363	41.5	89	10.2	84	9.6	874	100

principales reservorios para los diferentes serotipos de *Salmonella* no *typhi* son los animales incluyendo aves de corral, ganado, reptiles y mascotas. El principal vehículo de transmisión son los alimentos de origen animal incluyendo las gallinas y patos domésticos, carnes rojas, huevos y leches no pasteurizadas (6-9). Además la ingesta de agua contaminada y la transmisión directa persona a persona vía oro-fecal, son formas de transmisión frecuentes (6,10).

En general un inóculo con 10^3 unidades formadoras de colonias (ufc) de *Salmonella* spp. se considera suficiente para producir enfermedad (1,6,7,11), inóculos menores pueden producirla en grupos con factores de riesgo asociado, como por ejemplo pacientes con hemoglobinopatías, inmunodeficiencias y acloridria entre otros (6,11). En cuanto a la tasa de ataque, se sabe que es específica de edad, siendo mayor en el grupo de pacientes menores de cinco años y mayores de 70, con el mayor pico en el primer año de edad (6). En el presente estudio el grupo de cero a cuatro años se afectó de una forma importante, al compararlo con los otros agentes etiológicos; dato similar al informado por Trujillo y col (12). En cuanto al grupo de cinco a 14 años se observó que en ellos *Salmonella* fue la más frecuente de las bacterias identificadas. *Salmonella* no *typhi* se identificó en el 6.5% de todos los pacientes incluidos, siendo un poco mayor a lo informado por Prado y col (13), quienes informan que esta bacteria representa entre el 0.5 y el 4% de todos los episodios de diarrea en Chile y Perú.

Campylobacter spp.

Ocupó el segundo lugar en la etiología de la EDA en este estudio. El diagnóstico de esta bacteria no se

hizo con cultivo; sino por la coloración de Gram modificada, la cual tiene una sensibilidad entre el 66 a 94% y una especificidad considerada muy alta (14). Esta bacteria es la causa más frecuente de diarrea de origen bacteriano en Estados Unidos, superando a *Salmonella* y *Shigella* (10,15,16), afecta todos los grupos de edad, pero presenta picos de incidencia en menores de un año y en el grupo de 15 a 29 años (17). En Latinoamérica se informa con una frecuencia relativa de 5 a 20% (13). En nuestro estudio se observó en el 3.5% de los pacientes.

El tracto gastrointestinal de algunos animales domésticos como perros y gatos, sirve de reservorio, y se convierten en riesgo los cachorros cuando tienen diarrea; adicionalmente otros animales como aves de corral, patos domésticos y otros se consideran también como reservorios (10,7,18). La transmisión ocurre por el consumo de carne mal cocida, leche no pasteurizada, aguas contaminadas, manipulación de animales enfermos, especialmente los cachorros y por transmisión de persona a persona (18). El tamaño del inóculo para producir enfermedad con esta bacteria generalmente es mayor de 10^4 ufc.

A. hydrophila

Para ser considerada como causa de EDA, esta bacteria debe aislarse como único germen y de forma abundante (1,7). En nuestra serie se aisló en 29 (3.3%) de los pacientes estudiados, ocupando el tercer lugar en frecuencia. Este hallazgo difiere de un estudio previamente publicado por nosotros, en el cual ocupó la primera causa de EDA en la población estudiada durante un período de vigilancia para cólera en el departamento de Antioquia. Es importante mencio-

nar que en este estudio solo se estudiaron 50 pacientes (5). Las especies de aeromonas son naturales de ambientes acuáticos, de distribución mundial, se han aislado de aguas frescas, cloradas, contaminadas y ocasionalmente de ambientes marinos (19). La EDA asociada a aeromonas se ha descrito especialmente en niños menores de cinco años (21) y en adultos (22). En nuestros resultados, se encontró en todos los grupos etáreos.

Shigella spp.

Ocupó el cuarto lugar en frecuencia en este estudio, aislándose en 24 (2.7%) pacientes, especialmente en el grupo de 15 a 44 años de edad. En Latinoamérica la shigelosis es una infección endémica que ocasiona de 8 a 12% de todos los casos de diarrea, y 50% de las hospitalizaciones por EDA (13). La materia fecal de los humanos es la fuente de infección. No se conocen reservorios animales (24). La principal vía de transmisión de la shigelosis es de persona a persona, lo cual se facilita por la baja dosis infectante (10 a 100 microorganismos) y por las pobres condiciones higiénicas (22,25).

E. coli enteropatogénico (ECEP)

Esta bacteria se buscó en el grupo de menores de cinco años, aunque afecta más específicamente a los neonatos y los menores de dos años (26). En nuestro estudio ocupó la primera causa de diarrea en este grupo de pacientes. Estos datos coinciden con lo informado por Trujillo y col (12), quienes la reportaron también como la primera causa de EDA en niños. En la revisión de Prado (13) sobre EDA en América Latina, a esta bacteria se le atribuyen 5 a 40% de los casos de EDA, siendo la principal causa después del rotavirus.

V. cholerae

El cólera tiene comportamiento endemoepidémico en regiones con deterioro de las condiciones de vida, permitiendo que aparezcan picos epidémicos por acumulación de personas susceptibles (27,28). La epidemiología del cólera se ve afectada principalmente por la siembra del organismo en el ambiente a través de individuos sanos (27). La dificultad para detectar el estado de portador de cólera en los humanos, complica su erradicación y facilita la contaminación de los reservorios ambientales (29). El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta (CDC), El Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas (NCID) y la Organización Pana-

mericana de la Salud (OPS), recomiendan muestreo clínico de pacientes con enfermedad semejante al cólera, en los consultorios u hospitales cuando no hay brote de cólera (30).

Salmonella typhi

Esta bacteria únicamente coloniza los humanos, por lo tanto la enfermedad solo se adquiere de personas que tienen fiebre tifoidea o son portadores crónicos. La adquisición del organismo generalmente es por el consumo de alimentos o aguas contaminadas con la materia fecal del humano (11).

La fiebre tifoidea continúa siendo un problema global de salud. La Organización Mundial de la Salud (OMS), en un programa de control de enfermedad diarreica, informó que ocurren 12.5 millones de casos por año, con una incidencia de 0.5 por ciento en la población mundial (31). En cuanto a la dosis infectante se sabe que se necesitan 10^5 organismos para producir enfermedad, pero dosis menores en pacientes con deficiencias en la inmunidad celular y otras alteraciones pueden causar fiebre tifoidea (32).

En este estudio no fue posible demostrar un agente bacteriano en el 79.4% de los pacientes, situación que podemos explicar en parte, ya que no se controlaron variables de administración de antibióticos, tiempo de evolución de los síntomas y quedaron por fuera otras causas bacterianas como por ejemplo *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* (enterotoxigénico, enteroinvasivo, enterohemorrágico y verocitotoxigénico), *Plesiomonas*, detección de toxinas de *Clostridium difficile*, *C. perfringens*, etc. Adicionalmente, es importante mencionar que otros agentes infecciosos como virus, parásitos y hongos (33), no se tuvieron en cuenta como causantes de diarrea.

No obstante la escasa identificación de bacterias o sus toxinas como responsables de la gastroenteritis en este estudio, estos agentes continúan siendo causa importante de enfermedad tanto en países desarrollados como en desarrollo (23). Se sugiere hacer estudios bien controlados y con buenos protocolos que incluyan la mayoría de los agentes responsables para conocer las verdaderas frecuencias de ellos.

Referencias

1. Guiniigan PH, Janda JM, Karmali MA, Millor JM, Cumitech 12A. Laboratory diagnosis of bacterial diarrhea. Coordinating de. F.S. American Society for Microbiology Washington DC. 1992.

2. **Brownlee** HJ. Introduction: Management of Acute Nonspecific Diarrhea. *Am J of Med* 1990; 88 (suppl 6A): 6A-1S.
3. DuPont HL. Guidelines on Acute Infectious Diarrhea in Adults. *Am J of Gastroenterology* 1997; 92: 1962-75.
4. Dirección Seccional de Salud de Antioquia. Diarreas y enteritis. *Boletín Epidemiológico de Antioquia* 1997; año XXII: 320.
5. Estrada S, **Jaramillo** E, **Panesso** R, Montealegre N **Montoya** C. Etiología bacteriana de la Enfermedad Diarreica Aguda durante un período de vigilancia epidemiológica y de laboratorio para el diagnóstico de cólera (junio 1o. agosto 1º de 1991). *LATRELA* 1993; 6: 55-60.
6. American Academy of Pediatrics. *Salmonella* Infections. In: Peter G, ed. 1997 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 24th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 1997: 462-68.
7. **Ospina** S. Estudio del paciente con diarrea infecciosa. Laboratorio al día 1995; 5: 259-80.
8. News and Views. Omelettes without broken eggs? *Nature* 1988; 336: 699-700.
9. St. Louis ME, **Morse** DL, Potter ME. The emergence of Grade A eggs as a major source of *Salmonella enteritidis* infections. *JAMA* 1988; 259: 2103-7.
10. Goldstein EJ. Household pets and Human Infections. In: Weinberg A, Weber DJ. *Infectious Disease Clinics of North America* 1991; 5: 117-30.
11. **Miller** S, Hohmann E, Pegues D. *Salmonella* (including *Salmonella typhi*). In: Mandell G, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. Fourth ed. Churchill-Livingston N.Y. 1995: 2013-33.
12. **Trujillo** H, Robledo J, Mejía GI, Tamayo MC, **Gómez** C, Mejía C. Etiología y clínica de la enfermedad diarreica aguda (EDA) en 100 niños de un centro de salud de Medellín-Colombia. *Medicina U.P.B.* 1991; 10: 113-22.
13. Prado V, **O'Ryan** ML. Acute gastroenteritis in Latin America. In: Istúriz RE, Gotuzzo E. *Infectious Disease Clinics of North America* 1994; 8: 77-06.
14. **Nachamkin** J. *Campylobacter* and *Aerobacter* In: Murray P, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. Manual of Clinical Microbiology. Sixth ed. ASM press. Washington DC. 1995: 483-91.
15. Finch MJ, Riley LW. *Campylobacter* infections in the United States. Results of an 11-years surveillance. *Arch Intern Med* 1984; 144: 1610-1612.
16. Blaser MJ, **Wells** JF, Feldman RA. *Campylobacter* enteritis in the United States. A multicenter study. *Ann Intern Med* 1983; 98: 360.
17. Blaser MJ. *Campylobacter* and related species. In Mandell G, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. Fourth ed. Churchill-Livingston. N.Y. 1995: 1949-5618.
18. American Academy of Pediatrics. *Campylobacter* Infections. In: Peter G, ed. 1997 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 24th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 1997: 160-62.
19. Nachamkin J. *Aeromonas* and *Plesiomonas* In: Murray P, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. Manual of Clinical Microbiology Sixth ed. ASM press. Washington DC. 1995: 477-82.
20. **Janda** JM, Duffey PS. Mesophilic aeromonads in human disease: current taxonomy, laboratory identification and infectious disease spectrum. *Rev Infect Dis* 1988; 10: 980-97.
21. San Joaquín VH, Pickett DA. *Aeromonas*-associated gastroenteritis in children. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7: 53-57.
22. George WL, Nakata MM, Thompson J, White ML. *Aeromonas*-related diarrhea in adults. *Arch Intern Med* 1985; 145: 2207-11.
23. Moss PJ, **McKendrick** MW. Bacterial gastroenteritis. *Current Opinion in Infectious Disease* 1997; 10: 402-07.
24. American Academy of Pediatrics. *Shigella* Infections. In: Peter G, ed. 1997 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 24th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 1997: 472-74.
25. DuPont H. *Shigella* species (bacillary dysentery). In Mandell G, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. Fourth ed. Churchill-Livingston. N.Y. 1995: 2033-39.
26. American Academy of Pediatrics. *Escherichia coli* Diarrhea In: Peter G, ed. 1997 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 24th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 1997: 204-08.
27. **Jaramillo** E, Estrada S. Apoyo del Laboratorio Departamental de Salud Pública de Antioquia en la vigilancia epidemiológica de cólera 1996-1997. *Rev. Epidemiológica de Antioquia* 1998; año 23: 81-6.
28. Galeano LA, **Villegas** EM, **Loaiza** IB, Cardona N, Estrada S. Prevalencia de portadores y circulación ambiental de *Vibrio cholerae* y *Aeromonas hydrophila* en Turbo y Arboletes 1993. *Bol Epidemiol Antioquia* 1995; año XX: 119-124.
29. Lacey SW. Cholera: calamitous past, ominous future. *Clin Infect Diseases* 1995; 20: 1409-19.
30. **Sather** D, Hughes JM, Cohem ML. Métodos de laboratorio para el diagnóstico de *Vibrio cholerae*. Washington DC. CDC/NCID, OPS. 1994: 148.
31. Edelman R, **Levine** MM. Summary of an international workshop on typhoid fever. *Rev Infect Dis* 1986; 8: 129-49.
32. Blaser MJ, Newman LS. A review of human salmonellosis: Infective dose. *Rev Infect Dis* 1982; 4: 1096.
33. Kotler DP. Gastrointestinal manifestations of Human Immunodeficiency Virus Infection. In: DeVita V, Hellman S, Rosenberg SA. AIDS Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention. 4th. ed. Lippincott-Raven. Philadelphia. 1997: 365-391.

Correspondencia:
Santiago Estrada, M.D.
 Apartado aéreo 62320
 Medellín-Colombia