

REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

VOLUMEN 33

ABRIL - JUNIO DE 1965

2

Director: ALEJANDRO JIMENEZ ARANGO, Decano de la Facultad.

Jefe de Redacción: Andrés Soriano Lleras.

COMITE EDITORIAL:

Luis Guillermo Forero Nougués, Andrés Soriano Lleras, Alberto Albornoz Plata, Ernesto Andrade Valderrama, Enrique Núñez Olarte, Carlo Federici Casa, Ernesto Osorno Mesa, Januario Galindo, Guillermo León Restrepo Isaza, Humberto Roselli.

Dirección: Facultad de Medicina. Ciudad Universitaria. Bogotá. Apartado Nacional Nº 400. Tarifa postal reducida. Licencia número 238 del Ministerio de Comunicaciones.

CONTENIDO

Págs.

Observaciones sobre helmintiasis humanas adquiridas del suelo en la República de Colombia, por Ernest Carroll Faust, Alberto García Laverde y David Botero R.	39
Conservación de la muestra de materia fecal en papel secante, por Hernando Rocha Posada y Yolanda Villani	51

REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

VOLUMEN 33

ABRIL - JUNIO DE 1965

2

OBSERVACIONES SOBRE HELMINTIASIS HUMANAS ADQUIRIDAS DEL SUELO EN LA REPUBLICA DE COLOMBIA¹

Por

*Ernest Carroll Faust * ,
Alberto García Laverde ***

y

*David Botero R. ****

INTRODUCCION

Colombia comprende un territorio de 1.138.338 kilómetros cuadrados en la esquina noroccidental de Suramérica, entre 12°N y 4°S de latitud y 68° y 78°O de longitud. El país está limitado al Norte por el Mar Caribe y al Occidente por el Pacífico; al Noroeste se continúa con la Provincia del Darién en Panamá, al Oriente con la re-

gión occidental de Venezuela, al Sureste con partes de Brasil y Perú, y al sur con Ecuador. En el extremo suroeste de Colombia, la Cordillera de los Andes se divide en ramales, occidental, central y oriental. Al oriente de los Andes el terreno comprende llanuras relativamente bajas y escasamente pobladas que representan aproximadamente la mitad del área total del país, las cuales drenan por el noreste al Meta, afluente del río Orinoco, y por el sureste al río Amazonas. De sur a norte corre el río Cauca, entre las ramas occidental y central de los Andes, y en el mismo sentido el río Magdalena, entre las ramas central y oriental, uniéndose a cierta distancia antes de desembocar en el Mar Caribe, a una longitud aproximada de 74° oeste.

El clima de Colombia varía desde el cálido tropical de las dos costas y los llanos orientales; el clima medio sin variación anual entre 900 y 1.600

¹ Este informe fue preparado originalmente en copia mimeográfica para el Comité de Expertos en Helmintiasis (Helmintos transmitidos del suelo), O.M.S., Río de Janeiro, 26-31 de agosto, 1963, y devuelto más tarde para publicación en la revista de libre elección de los autores.

* Profesor Emérito de Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad de Tulane, New Orleans, Estados Unidos.

** Profesor de Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia.

*** Profesor de Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

metros de altura, hasta el húmedo y frío de alturas mayores. Por encima de 5.000 metros, la cima de las montañas está cubierta de nieve perpetua. Exceptuando períodos de lluvia al final del otoño y al comienzo de la primavera, los cambios climáticos estacionales son relativamente poco notorios.

La población total de Colombia se estimó en 1963 en 15.000.000 de habitantes; de éstos el 35% de raza caucásica, en su mayoría de descendencia española; 2% de indios americanos puros, que viven en su mayoría en regiones altas; un 5% de negros, que habitan principalmente los climas cálidos de los litorales norte y occidental, y un 58% está formado por mulatos y mestizos. La mayoría de la población habita el sistema tributario de los ríos Cauca y Magdalena, donde están los centros industriales del país, como Bogotá, la capital (1.330.000 habitantes), en el valle central del Magdalena, a 2,614 mts. de altura; Medellín (690.000 habitantes), a 1.538 mts. de altura, y Cali (690.000 habitantes), a 978 mts. de altura, ambas en el valle del Cauca; y Barranquilla (475.000 habitantes), a nivel del mar, en la desembocadura del río Magdalena, en la costa norte. Hay, además, muchos centros de población, en su mayoría rurales, cuyo número de habitantes varía desde 25.000 hasta 150.000. Los centros urbanos están creciendo rápidamente en tamaño, a medida que las familias campesinas se sienten atraídas a las ciudades por el desarrollo industrial. Sin embargo, la mayoría de la población todavía reside en las zonas rurales, donde sus principales productos agrícolas son caña de azúcar, arroz, maíz y algodón en los valles, café en la región montañosa (especialmente en los Departamentos de Caldas y Antioquia, entre 1.600 y 2.000 metros), y plátano y cacao en los climas tropicales y subtropicales.

El ganado se cría ampliamente en casi todo el país.

Costumbres, condición económica y ambiente de la población menos privilegiada.

Aunque los mayores centros urbanos de Colombia muestran un progreso económico, social y cultural más o menos comparable al de los países de Europa y Norteamérica, cientos de miles de personas que habitan ciertos sectores de las ciudades y en viviendas aisladas o comunidades en zonas suburbanas y rurales, poco han modificado en siglos las costumbres de sus antepasados y conservan hábitos, prejuicios, ignorancia de higiene ambiental y personal y un nivel de nutrición por debajo de lo normal. Durante la última década, los departamentos de medicina preventiva y salud pública de las siete Facultades de Medicina de Colombia han auspiciado programas de medicina familiar de una o varias de estas comunidades de bajo nivel, supplementando así substancialmente los servicios de los centros regionales dependientes del Ministerio de Salud Pública. Como resultado de encuestas practicadas por las Facultades de Medicina, ya se ha obtenido cierta información susceptible de análisis y evaluación.

Sin importar el grupo racial y el lugar de residencia, ya sea en los valles de las montañas o a nivel del mar, las clases poco privilegiadas de la población conservan pautas de vida y prácticas sociales perpetuadas de generación en generación. Agravando el bajo nivel de vida las familias son numerosas, en promedio más numerosas que las de sus compatriotas de condición económica mejor. Cada grupo familiar comprende al padre, la madre, los hijos más pequeños y adolescentes, y a menudo parientes consanguíneos y políticos, todos en el mismo hacinado do-

micio. El analfabetismo prevalece en este estrato social, y sólo una mínima parte puede haber recibido alguna instrucción primaria, pero es excepcional que uno de estos individuos alcance educación superior, aunque casi todos anhelan aprender, y su aptitud intelectual está demostrada.

Los participantes en los programas de medicina familiar de las Facultades de Medicina son, con pocas excepciones, representantes típicos de los habitantes de las numerosas comunidades de bajo standard de las ciudades y zonas suburbanas y rurales; sus domicilios se caracterizan por el hacinamiento y un nivel sanitario tremadamente bajo. Pueden tener quizás energía eléctrica para iluminación, radio y tal vez nevera, pero por lo general falta agua potable para el baño, la bebida y otros usos domésticos, no solamente en la casa sino a menudo en toda el área. Sin embargo, el peor aspecto de estas condiciones ambientales se refiere a la disposición de las excretas humanas y de la basura. Letrinas sin higiene, generalmente sin drenaje adecuado, sin protección de la lluvia y abiertas a las moscas y los perros, sirven para la deposición y acumulación de las excretas humanas. Aunque existe recolección de basura en los Municipios grandes, los barrios pobres están desprovistos muchas veces de este servicio. En Cartagena, sobre la costa norte, las letrinas del Barrio Santa María están construidas en el exterior sobre plataformas por encima del nivel del suelo, para que no se inutilicen periódicamente con las mareas de la región.

Debido a este saneamiento tan primitivo de todas estas comunidades del país, es explicable que la higiene personal sea igualmente baja. En un estudio socio-epidemiológico de la comunidad de Santo Domingo, a 92 kilómetros de Medellín, Duque y Zuluaga (1962) comentan la situación en esta forma: Además del analfabetismo de

la población y de los niveles económico y sanitario tremadamente bajos, existe una dieta deficiente, especialmente en proteínas. El piso de la vivienda es predominantemente de tierra, hay dos o cuatro camas por casa, con más de dos personas por cama. Las letrinas, en malas condiciones, juegan un papel importante en la diseminación de las helmintiasis. La falta de costumbre en el lavado de manos después de defecar, antes de cocinar y comer, aumenta considerablemente el riesgo a las enfermedades comunicables. Estos investigadores han podido añadir que la prevalencia de moscas y perros aumenta igualmente en forma apreciable dichos riesgos para la salud.

Helmintiasis contraídas del suelo.

Hasta hace pocos años no se habían llevado a cabo en Colombia investigaciones sobre las helmintiasis humanas contraídas del suelo. Esto presenta un marcado contraste con los numerosos estudios realizados en Méjico, América Central, Panamá, Venezuela, Brasil, Argentina, Chile y Perú, con el objeto de determinar la incidencia y significado de los parasitismos intestinales, especialmente anquilostomiasis y ascariasis, en las poblaciones humanas de los respectivos países. Exceptuando la encuesta de amibirosis de Kofoid, Swezey y Boyers (1925) en el Hospital de la Compañía United Fruit en Santa Marta, en la costa noreste de Colombia, sólo se encuentran registros clínicos incidentales de pacientes hospitalarios, generalmente en conexión con ensayos terapéuticos. En consecuencia, no se poseen estudios anteriores con los cuales comparar los datos obtenidos desde 1955.

La experiencia personal del autor principal con las helmintiasis contraídas del suelo en Colombia se basa en sus observaciones e investigaciones en el país durante el mes de agosto de

1955 y desde abril de 1956 hasta mayo de 1961, cuando servía las funciones de coordinador del Punto IV de los Estados Unidos en el programa de educación médica entre la Universidad de Tulane, New Orleans, Luisiana y las Facultades de Medicina de Colombia. Dos de ellas están localizadas en Bogotá y una en cada una de las ciudades de Cartagena, Medellín, Manizales, Cali y Popayán. Los departamentos de Medicina Preventiva y Salud Pública (y en Medellín también el departamento independiente de Parasitología) de estas escuelas, han efectuado en los últimos años estudios sobre parasitosis humanas en hospitales, consultas y programas familiares, en comunidades urbanas y semi-rurales. Estas encuestas han suministrado en buena parte la información inexistente en los centros regionales de salud del Ministerio de Salud Pública. Los datos sobre la incidencia de helmintiasis contraídas del suelo, sobre los cuales se basa el presente informe, se han obtenido de las siguientes fuentes: 1) Medellín (1957-1959, 1962), suministrados por el doctor David Botero R.; 2) Cartagena (1958-1963), por el doctor Alberto García Laverde; 3) Bogotá (1959), informe preliminar del doctor Alfredo Escallón Angel, antiguo Jefe de Parasitología, Instituto Nacional de Higiene Samper-Martínez; 4) Popayán (1960), cuadros parciales, Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Medicina, Universidad del Cauca, y 5) Cali (1956-1961), cinco años de investigación por el autor principal de este informe y sus colaboradores sobre los parásitos intestinales de los participantes en el programa de Medicina Familiar del Barrio Siloé (Cali), bajo el auspicio del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad del Valle.

Presentación de los datos.

Los helmintos contraídos por la población humana del suelo contaminado por heces, consisten en los ambientes colombianos principalmente de cuatro especies de nematodos, a saber: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *uncinaria* (en la mayoría de los casos, si no invariablemente, *Necator americanus*) y *Strongyloides stercoralis*, y adicionalmente la tenia *Hymenolepis nana* (ver cuadro número 1). En todas las zonas en donde se ha obtenido información adecuada, se ha demostrado alta prevalencia de *Ascaris*, *Trichuris* y *uncinaria*. *Strongyloides* se encuentra probablemente en todas las localidades (falta en los datos de Popayán), pero la incidencia registrada del parásito varía ampliamente en las diferentes localidades (6.7 a 8.8 en distintas épocas en Cartagena hasta 30.7 en el Hospital de San Vicente, Medellín, 1959). En Cartagena las cifras (Cuadro N° 2) muestran que *Hymenolepis nana* es una infección de los niños relativamente común hasta los 9 años, menos frecuente en los adolescentes, y no se diagnostica en las últimas décadas de la vida. En Bogotá y Cali sólo se observaron infecciones ocasionales por este cestodo. Las razones para estas diferentes prevalencias de *H. nana* entre los niños del Barrio Santa María, Cartagena, atrasada área urbana de la costa norte y las localidades en valles altos (Bogotá y Cali), merecen estudio especial.

Los grupos de diagnóstico en Medellín, Cartagena, Bogotá y Cali utilizaron técnicas aceptadas de concentración para descubrir infecciones ligeras, es decir, aquellas que pasan desapercibidas en los frotos directos. En Cali, el mayor porcentaje de positivos para todas las cuatro infecciones de nemátodos se obtuvo por el procedimiento de flotación con sulfato de zinc. En

100 pacientes no seleccionados del programa de medicina familiar se practicó una prueba especial que demostró que 9.0 a 25.3% de *Ascaris*, 35.4 a 41.4% de *Trichuris*, 59.1 a 86.5% de uncinaria y 38.4 a 52.9% de *Strongyloides* hubieran pasado inadvertidos sin una técnica de concentración eficaz. Las cifras de recuentos de huevos en la población de Siloé sugieren que la mayoría de las infecciones eran subclínicas, conclusión confirmada por el examen clínico y los antecedentes de estos pacientes. Por otra parte, contrastan con estos hallazgos los datos de recuentos de huevos obtenidos en Cartagena en 1963 en una investigación de la intensidad de la infección parasitaria. Aproximadamente dos tercios de las infecciones por *Ascaris* en niños y más o menos la mitad en los adultos presentaban un recuento por encima de 20.000 por gramo de heces, indicando una infección moderada (275 personas infectadas en el grupo); la mitad de los niños y 11.3% de los adultos con *Trichuris* tenían más de 20.000 huevos por gramo de heces, indicando infecciones intensas (367 personas infectadas en el grupo); sin embargo, en las infecciones por uncinaria las ¾ partes tenían recuentos por debajo de 5.000 por gramo de heces (infección ligera), y solamente 6.2% tenían recuento de más de 20.000, o sea infección intensa (192 personas infectadas). De las 60 personas infectadas con *Hymenolepis nana*, casi todas preescolares, más o menos la cuarta parte tenía recuento por encima de 20.000 huevos por gramo de heces (probablemente infecciones intensas). Finalmente, el número de larvas de *Strongyloides* en las materias fecales de 85 personas infectadas no refleja datos de importancia clínica, debido a la aparición irregular e imprevisible de este parásito en las excretas. El recuento fue el siguiente: 56.5% por debajo de 1.000 larvas por gramo, y solamente

10.6% por encima de 5.000 por gramo de heces.

En lo que se refiere al sexo, tanto la encuesta de Cartagena como la de Cali muestran que sólo hubo un número ligeramente mayor de mujeres que hombres en el grupo de niños de 20 años, pero en cambio en los adultos predominaron las mujeres, en una proporción del doble en Cartagena y del tercio en Cali. Esto fue especialmente evidente en el estudio de Cali, donde se solicitaba un número de tres muestras por persona. Sin embargo, en ambos grupos el exceso de material diagnóstico de adultos mujeres no refleja necesariamente mayor proporción de mujeres que hombres en la población, sino la mayor oportunidad y cooperación de las mujeres para entregar las muestras, puesto que permanecían en las casas durante las horas del día, cuando se recogían las muestras.

Puesto que el estudio de Cali fue continuo desde noviembre de 1956 hasta mayo de 1961, período durante el cual se impartió adecuada instrucción en higiene ambiental a las madres pertenecientes a las familias en estudio, se practicó un análisis trimestral para determinar si la incidencia de parasitosis mostraba alguna reducción correlativa a la ininterrumpida educación sanitaria.

En 1958 y 1959 hubo un descenso temporal significativo en la incidencia de *Ascaris* y *Trichuris*, pero no de *Necator* o *Strongyloides*. Sin embargo, desde comienzos de 1960, y continuándose hasta 1961, el número de positivos para *Ascaris* y *Trichuris* ascendió, para *Ascaris*, desde 18.6% en 1959 a 41.0% (comparado con 50.4% en 1956), y para *Trichuris* a una cifra de 70.9%, considerablemente mayor que la cifra de 1956 (56.8%). Las frecuencias equivalentes de *Necator* y *Strongyloides* (22.5 - 25.6 y 10.8 - 13.6) muestran reducciones moderadas

y no significativas durante el período del estudio.

200 niños nacidos en las familias al cuidado del programa de medicina familiar del Barrio Siloé, en Cali, fueron examinados durante nueve trimestres consecutivos, de 1957 a 1960, para observar la primera aparición de parásitos intestinales en la materia fecal. Sendos casos de *Entamoeba histolytica* y *Ascaris* y 5 de *Giardia lamblia* se desarrollaron durante el primer trimestre; 8 de *Giardia*, 2 de *Isospora belli*, 2 de *Ascaris* y sendos de *Trichuris* y *Strongyloides* se diagnosticaron en el segundo trimestre; 26 de *Giardia*, 4 de *E. histolytica*, 9 de *Ascaris*, 7 de *Trichuris*, 2 de *Necator* y uno de *Hymenolepis nana* aparecieron en el tercer trimestre. Al final de los nueve trimestres, los porcentajes acumulados de frecuencia de parásitos intestinales eran los siguientes: *E. histolytica*, 18.5; *Giardia*, 71.0; *Isospora belli*, 4.5; *I. hominis*, 0.5; protozoos no patógenos, 7.5; *Ascaris*, 55.0; *Trichuris*, 49.0; *Necator*, 3.5; *Strongyloides*, 3.0; *Hymenolepis diminuta*, 0.5 y *H. nana*, 0.5. La mayoría de estos niños no había salido de sus casas durante este tiempo, excepto para asistir a la consulta de Medicina Preventiva de la Facultad de Medicina a unas pocas cuadras de distancia. El estudio sugiere que los focos de estas infecciones existían en las propias casas y que se adquirían precozmente en la vida, y por consiguiente se va a necesitar una mejora radical en el saneamiento ambiental que acompañe a la educación sanitaria, si se espera cualquier reducción en las fuentes de parásitos en las viviendas.

El autor principal demostró, por examen de los suelos del Barrio Siloé en Cali, la oportunidad de adquirir parásitos intestinales del piso contaminado de las viviendas donde habitan estas personas. Material raspado de estos pisos se llevó en recipientes adecuados al

laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina. Las muestras se suspendían cuidadosamente en una solución de sulfato de zinc de una gravedad específica de 1.18 y se dejaban reposar durante 5 a 10 minutos. La película superficial se retiraba con asa bacteriológica y se colocaba en portaobjetos para examen microscópico. Estos concentrados por flotación revelaron la presencia de huevos de *Ascaris* y *Trichuris*, larvas filariformes de ucinaria y *Strongyloides*, así como quistes de *E. histolytica*, *E. coli* y de otras amibas y flagelados intestinales.

129 muestras del piso de las casas de familias participantes en el programa de medicina familiar del Barrio Santa María, en Cartagena, examinadas en 1963 por el doctor Rafael Bonfante, dieron los siguientes porcentajes de hallazgos parasitarios: larvas de ucinarias, 19.5; huevos de ucinarias, 2.3; oocistos de *Eimeria*, 0.8; huevos de *Trichuris*, 2.3; *Ascaris*, 6.2; *Acanthocephala*, 0.8; *E. histolytica*, 1.5 y *E. coli*, 0.8. Estos datos sugieren que las heces de perros, y probablemente también de cerdos, contaminan el suelo, además de las del hombre, en Santa María. Como comparación, excretas frescas de perros, hombre y cerdo, recogidas en las calles del Barrio Siloé, en Cali, dieron los siguientes resultados, según publicaron Giraldo, Faust, Bonfante y Caicedo (1959): las 528 muestras de perros contenían quistes de *E. histolytica*, otras amibas y flagelados intestinales, *Balantidium coli*, *Isospora hominis* e *I. belli*, todos posiblemente de origen humano; huevos de *Ascaris*, *Trichuris trichiura* y ucinarias, *Hymenolepis diminuta* y *Dipylidium caninum*, también posiblemente todos de origen humano. Las 24 muestras de excretas humanas, además de contener quistes de 6 especies de protozoos, incluyan huevos de *Enterobius*, *Ascaris*, *Trichuris* y ucinaria, todos de origen humano. El único espécimen

de excreta de cerdo mostraba quistes de *Iodamoeba* y huevos de *Ascaris* y ucinaria, todos probablemente de infecciones naturales en este animal.

En el Barrio Siloé, de Cali, se llevó a cabo igualmente un estudio en 1960 sobre los endoparásitos de los roedores domésticos locales (*Rattus norvegicus*, *R. rattus rattus* y *Mus musculus*) y la cucaracha local, *Periplaneta americana* (Bonfante, Faust y Giraldo, 1961). Los contaminantes del tracto digestivo de los roedores comprendían huevos de *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris* sp. y ucinarias (incidencia de 3.3 a 20.0% en las ratas jóvenes atrapadas en las casas). Los contaminantes intestinales de las cucarachas estaban representados por huevos de *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris* sp. (1.9 a 6.2% de incidencia). Puesto que estas plagas caseras fueron todas atrapadas en las casas del Barrio Siloé, donde los habitantes albergaban estas infecciones, existe una probabilidad considerable de que los huevos de helmintos encontrados en los intestinos de los roedores y cucarachas habían sido ingeridos en las propias casas o en la inmediata vecindad, en donde la defecación promiscua de los niños había contaminado los suelos.

DISCUSIÓN

Varios factores ambientales y humanos en Colombia contribuyen a la prevalencia de helmintos del hombre con obligado período de desarrollo en el suelo. En primer lugar, en la mayor parte del país, el clima, incluyendo temperatura y precipitación pluvial, es favorable prácticamente todo el año para el necesario desarrollo de los huevos y larvas de estos helmintos depositados en la superficie del terreno. En segundo lugar, la presencia demostrada de excretas humanas en partes de en general todas las zonas de estudio, pro-

vee una fuente constante de contaminación del suelo con los huevos (y las larvas en el caso de *Strongyloides*), de modo que hay una permanente existencia de organismos en etapa infectante. La mayoría de los niños (y de los adultos en las áreas rurales) anda descalzo, y por tanto tiene amplia oportunidad de contraer infección por ucinaria y *Strongyloides*, por vía cutánea; y las dificultades para practicar higiene personal facilitan notablemente la ingestión de huevos completamente embrionados de *Ascaris*, *Trichuris* e *Hymenolepis nana* de los objetos contaminados con los cuales entran en contacto las manos sin lavar. En el caso de *H. nana*, los huevos, al ser evacuados en las heces, están ya prácticamente en estado infectante y no requieren en general período alguno de desarrollo o madurez en el suelo. Es posible que estos huevos sean ingeridos por los individuos expuestos inmediatamente después de la evacuación en las heces, aunque la alta prevalencia de *H. nana* en los niños del Barrio Santa María, de Cartagena, donde predomina un ambiente tropical húmedo, por lo menos durante 9 meses del año, sugiere que los huevos pueden permanecer viables en los suelos sombreados y húmedos del interior de las casas por algún período de tiempo.

Hay una considerable diferencia en la intensidad de las infecciones por *Ascaris*, *Trichuris*, ucinaria y aparentemente también *Strongyloides* entre los hallazgos de Cartagena y los obtenidos por el autor principal y sus colaboradores en el Barrio Siloé, de Cali. En la investigación de más de 2.000 personas en esta última comunidad, con un promedio de tres muestras por persona, recuentos de huevos se practicaron en dos preparaciones directas (aproximadamente con 2 mgr. de heces cada una) y en la concentración por flotación con sulfato de zinc de aproximadamente 2 gramos de heces. Los recuentos por debajo de 25

huevos en una preparación directa ($=12.500/\text{gr.}$) se anotaban en tal forma; aquellos entre 25 y 50 ($=12.500 \text{ a } 25.000/\text{gr.}$) como 1+; entre 50 y 100 ($=25.000 \text{ a } 50.000/\text{gr.}$) como 2+; entre 100 y 200 ($=50.000 \text{ a } 100.000/\text{gr.}$) como 3+ y por encima de 200 ($>100.000/\text{gr.}$) como 4+. Sólo en raras ocasiones niños infectados con *Ascaris* tuvieron un recuento que se acercara a 1+ en el examen directo, y en ninguna circunstancia se presentó exceso de esta cantidad en las infecciones por *Trichuris* y ucinaria. Las larvas de *Strongyloides* fueron raras veces diagnosticadas en abundancia en los exámenes directos. Es por tanto aparente que en general la gran mayoría de estas infecciones por nematodos, contraídas del suelo en la zona de Siloé, en Cali, eran de carácter menos intenso que las diagnosticadas en el Barrio de Santa María, de Cartagena.

En las muestras del suelo del Barrio Santa María, Cartagena, y las tomadas de los pisos de las casas del Barrio Siloé, en Cali, hubo evidencia substancial de contaminación por excretas que contenían huevos viables de *Ascaris* y *Trichuris*, huevos embrionados y larvas de ucinaria y larvas de *Strongyloides*, en la mayoría de las circunstancias probablemente debido a heces humanas infectadas y depositadas en el suelo, cerca de los sitios de recolección. Prueba adicional de la contaminación del suelo por excretas humanas infectadas con *Ascaris* y *Trichuris* en el Barrio Siloé, Cali, la suministró la presencia de estos huevos en el contenido intestinal de los roedores y cucarachas atrapados dentro y alrededor de las viviendas de las personas que albergaban estas mismas especies de helmintos. Depósitos fecales frescos de perros y seres humanos en las calles del Barrio Siloé, indican que perros y niños (o adultos) habitualmente contaminan el suelo con sus excretas. Los perros común-

mente consumen excretas humanas, y en esta forma diseminan mecánicamente las helmintiasis de unos sectores a otros. Además, todas las personas que ingieren huevos viables de *Ascaris* y *Trichuris* que inadvertidamente toman del suelo, están sujetas a infección, superinfección o reinfección con estos nematodos.

Aunque los huevos de la ascáride del perro (*Toxocara canis*) fueron diagnosticados en 10% de las muestras fecales frescas de perro recolectadas en las calles del Barrio Siloé, en Cali, no se ha comprobado ningún caso humano de larva migrans visceral en Cali o en otras partes de Colombia hasta el año de 1961. Ciertamente, la amplia distribución de estos huevos por los perros y la falta de higiene personal por parte de la población humana, proveen amplia oportunidad para que los huevos *viables embrionados* de *Toxocara canis* sean ingeridos por los niños en el Barrio Siloé, otras zonas similares en Cali y en el resto del país. Aunque los patólogos de todos los centros médicos en Colombia están al tanto de la ocurrencia de la entidad en niños y conocen su etiología y cuadro patológico, hasta ahora no se ha podido demostrar un solo caso en material de biopsia o a la autopsia.

Los datos existentes sobre los helmintos adquiridos del suelo por el hombre en Colombia están basados casi exclusivamente en las estadísticas de diagnósticos en hospitales, centros de salud y consultas de programas familiares de un número relativamente escaso de los principales centros urbanos. Es cierto que individuos o familias de las zonas rurales han emigrado a las ciudades en número considerable en los últimos años, y en algunas circunstancias han sido incluidos en las estadísticas de los centros de salud. Por ejemplo, durante los años 1956-1957 en el Barrio Siloé, en Cali, un porcentaje considerable de los varones

mayores de 15 años, infectados con uncinaria, había llegado recientemente de zonas rurales del Valle del Cauca. Sin embargo, sería apresurado afirmar que la información presentada en este trabajo representa la situación de las comunidades rurales de Colombia. Estas áreas no han sido todavía exploradas para helmintiasis humanas; aunque probablemente no varían en forma apreciable en cuanto a especies de helmintos, pueden ser significativamente diferentes en cuanto a abundancia o epidemiología, en intensidad y por consiguiente en sintomatología.

CONCLUSIONES

1. Los datos presentados en este informe se obtuvieron de comunidades poco privilegiadas no seleccionadas de Colombia, tres en el sistema tributario del Valle del Cauca (Medellín, Cali y Popayán), una en el Valle del Magdalena (Bogotá), y otra a nivel del mar en la costa norte (Cartagena).

2. Hay en estas zonas relativamente pocas especies de helmintos que son contraídos por contacto del hombre con el suelo, a saber: *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, uncinaria (lo más probablemente *Necator americanus*), *Strongyloides stercoralis* e *Hymenolepis nana*.

3. La incidencia de estas infecciones es alta, como resultado de la continua oportunidad de exposición dentro y fuera de las viviendas, debido al saneamiento deplorablemente bajo; sin embargo, la cantidad de parásitos basada en los recuentos de huevos varía apreciablemente en dos de los grupos estudiados, Cali y Cartagena.

4. En el Barrio Siloé, Cali, en un período de 5 años, durante el cual se practicaron análisis trimestrales de la prevalencia de helmintos, no hubo evidencia significativa de algún descenso en los índices de *Ascaris* y *Trichuris*,

aunque durante el mismo período en consideración se impartió instrucción en higiene personal a las madres en el programa de medicina preventiva.

5. Basándose en las observaciones de Cali, Medellín y Cartagena, hay poca posibilidad de que estas helmintiasis sean reducidas apreciablemente sin una campaña general perseverante que abarque los aspectos sanitarios y de salud pública del problema, para suministrar a cada vivienda agua potable, disposición satisfactoria de excretas humanas y basura, y una cantidad adecuada de alimento bien balanceado, especialmente a los niños de corta edad.

6. Sin estos requerimientos, todo intento de controlar y reducir las helmintiasis, tal como la administración en masa de antihelmínticos modernos, puede inicialmente presentar aspectos favorables, pero a la larga no se evitarán los fracasos.

CONCLUSIONS

1. The data presented in this report represent selected underprivileged populations of Colombia, three in the Cauca Valley drainage (Medellín, Cali and Popayán), one in the Magdalena Valley (Bogotá), and one at sea level on the north coast (Cartagena).

2. There are relatively few helminths in these centers which are contracted from human contact with the soil, viz., *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, hookworm (probably mostly *Necator americanus*), *Strongyloides stercoralis*, and *Hymenolepis nana*.

3. The incidence of these infections is high as a result of continuing opportunity of exposure in and around the homes, due to deplorably poor sanitation, yet the quantity of worms based on egg counts varies appreciably in two of the groups surveyed, i.e., Cali vs. Cartagena.

4. In Ward Siloé, Cali, during a 5-year period with statistical assessment of helminth prevalence each trimester there was no evidence of significant overall decline in the prevalence of *Ascaris* and *Trichuris*, although during the period under consideration instruction in personal hygiene was being given to mothers in the preventive medicine program.

5. Based on observations in Cali, Medellín and Cartagena, there is little likelihood that these helminthic infections will be reduced significantly without a comprehensive persistent

attack on the public health and sanitary aspects of the problem, to provide for each household clean water, satisfactory disposal of human excreta and garbage, and a satisfactory amount of well balanced food, especially for the younger children.

6. Without these requirements, attempts to control and reduce the helminthic infections, as by mass administration of modern anthelmintics, may be temporarily encouraging but in the end they are bound to be disappointing.

REFERENCIAS

- Beaver, P. C., 1961.**—Control of Soil-transmitted Helminths. World Health Organization Pub. Hlth. Papers, N° 10, 44 pp. Geneva.
- Bonfante, R., Faust, E. C., y Giraldo, L. E., 1961.**—Parasitologic Surveys in Cali, Departamento del Valle, Colombia. IX. Endoparasites of Rodents and Cockroaches in Ward Siloé, Cali, Colombia. *J. Parasitol.*, 47, 843-846.
- Borrero, J., Restrepo, A., Botero, D. y Latorre, G., 1961.**—Clinical and Laboratory Studies on Hookworm Disease in Colombia. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 10, 735-741.
- Botero, R. D., 1961.**—Trabajos de Parasitología. Antioquia Méd., 11, 472-481.
- Botero, R. D., López, F., Cano, A. H. y Vélez, R. G., 1958.**—Amibiasis y Parasitosis Intestinal en el Hospital Mental de Antioquia. Antioquia Méd., 8, 431-438.
- Botero, R. D. y Restrepo, M., 1959.**—Estudio Comparativo de 5 Métodos para Investigar Parásitos en Materias Fecales. Antioquia Méd., 9, 285-295.
- Duque, V. J. y Zuluaga, Z. H., 1962.**—Estudio de la Amibiasis y otras Parasitosis Intestinales en Relación con el Medio Familiar y Socio-económico en Santa Domingo (Antioquia). Antioquia Méd., 12, 243-322.
- Estrada, U., 1955.**—Los Parásitos Intestinales en Escolares y Pre-escolares de Cali. Revista "Mundo Médico", 2, 391-404.
- Faust, E. C., 1958.**—Epidemiology, Diagnosis and Treatment of Intestinal Helminthiasis in Families of Ward Siloé, Cali, Colombia.
- Proc. World Congr. Gastroenterol., Washington, D. C., pp. 742-747.**
- Faust, E. C. y Giraldo, L. E., 1960.**—Parasitological Surveys in Cali, Departamento del Valle, Colombia. VII. Strongyloidiasis in Barrio Siloé, Cali, Colombia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 54, 556-563.
- García Laverde, A., 1961.**—Variaciones de la prevalencia de parásitismo intestinal en las encuestas practicadas en el Barrio de Santa María, Cartagena. Actas de la XI Convención Nacional de Gastroenterología, Neiva, agosto de 1961.
- García Laverde, A., Jiménez, Cecilia y Giraldo, Ofelia.**—Parasitismo intestinal e intensidad de las helmintiasis adquiridas del suelo en dos comunidades de la costa norte colombiana. Rev. Fac. de Med., Bogotá (en preparación).
- Giraldo, L. E., Faust, E. C., Bonfante, R. y Caicedo, G., 1959.**—Parasitologic Surveys in Cali, Departamento del Valle, Colombia. VI. Diagnostic Findings from Parasitologic Examination of Excreta of Dogs, Human Beings and a Hog Collected on the Streets of Ward Siloé, Cali, Colombia. *J. Parasitol.*, 45 (Sec. 2), p. 46.
- Kofoid, C. A., Swezy, O. y Boyers, L. M., 1925.**—A Report on an Investigation of Intestinal Protozoan Infections at Santa Marta, Colombia, in the Hospital of the United Fruit Company, with Special Reference to the Incidence of Amoebiasis. Fourteenth Ann. Rept., United Fruit Co., Med. Dept., pp. 140-153.

CUADRO N° 1

DATOS SOBRE PORCENTAJE DE INCIDENCIA DE HELMINTIASIS COMUNES, SEGUN FUENTES
CITADAS EN EL TEXTO

(N = NIÑOS; A = ADULTOS)

Grupo examinado, número examinado (año)	Hospital San Vicente 150 personas (1959)	Hospital Mental 150 personas (1958)	(1) Medellín		(2) Cartagena		(3) Bogotá		(4) Popayán		(5) Cali	
			Med. Prevent. Barrio Castilla varios centenares de personas	(1957-62, (1961))	Sto. Domingo (rural) 40 familias 331 personas (1959)	Santa María (1958)	Población suburbana 158 personas (1960)	Barrio Alfonso López 24 familias (1960)	Barrio Siloe 2.052 personas (1956-1960)	Barrio Alfonso López 24 familias (1960)	Barrio Siloe 2.052 personas (1956-1960)	
Ascaris lumbricoides	35.5	30.6	N.64.5 A.70.0	(1959) 84.6 (1961) 91.6	(1958) 58.4 (1961) 67.5	N.45.8 A.54.2	25.0	61.5		
Trichuris trichiura	90.7	61.3	N.74.0 A.40.0	(1959) 82.8 (1961) 83.6	(1958) 81.8 (1961) 89.1	N.39.2 A.60.8	15.5	76.3		
Uncinaria (principalmente Necator)	50.6	48.0	N.10.0 A.70.0	(1959) 40.5 (1961) 27.0	(1958) 44.2 (1961) 42.8	N.35.2 A.64.8	—	37.7		
Strongyloides stercoralis	30.7	6.7	N.10.0 A.10.0	(1959) 7.2 (1961) 9.1	(1958) 6.7 (1961) 8.8	N.10.0 A.30.0	—	13.9		
Hymenolepis nana	—	—	—	—	(1958) 5.3 (1961) 7.7	—	—	0.29		

CUADRO N° 2
PORCENTAJE DE INCIDENCIA DE HELMINTIASIS POR GRUPOS DE EDAD, SEGUN LOS DATOS
DE CARTAGENA Y CALI

(A = CARTAGENA, B = CALI)

	0-4 años	5-9 años	10-14 años	15-19 años	20-24 años	25-29 años	30-39 años	40-49 años	50-59 años	60 años	Total
Ascaris lumbricoides	...	A	51.3	71.4	67.8	61.6	65.3	50.0	57.1	52.7	58.4
Trichuris trichiura	..	A	68.9	92.8	88.6	81.1	78.3	79.7	71.4	76.4	61.5
Uncinaria (Necator?)	...	B	64.2	91.9	84.6	70.6	43.6	49.2	56.4	64.3	81.8
Strongyloides stercoralis	...	A	25.0	51.4	60.8	52.9	45.5	49.2	52.4	44.2	76.3
Hymenolepis nana	...	A	9.1	41.9	59.4	59.9	6.7	0	6.7	13.9	5.3
		B	4.1	13.9	16.1	19.6	22.2	27.7	30.9	18.0	0.29

CONSERVACION DE LA MUESTRA DE MATERIA FECAL EN PAPEL SECANTE

ESTUDIO COMPARATIVO CON LA SIEMBRA
DE HECES DIARREICAS FRESCAS *

Por

*Hernando Rocha Posada ***

y

*Yolanda Villani ****

I N T R O D U C C I O N

Las enfermedades diarreicas han constituido y constituyen en la actualidad una de las principales causas de mortalidad en el mundo, y especialmente en los países latinoamericanos. En México, Guatemala, Colombia, Venezuela, Brasil, Uruguay y Nicaragua, representan la causa principal de defunción en la primera infancia. Aun en países como la Argentina, en donde la tasa es relativamente baja, la mortalidad es de 7 a 10 veces superior a la de los países como los Estados Unidos y Canadá. Por ello está plenamente justificada la prioridad para su estudio y tratamiento dentro de los programas de salud pública de una nación.

En los últimos años, con el extraordinario avance de las técnicas bacteriológicas, mucho se ha progresado en el conocimiento de los gérmenes entero-patógenos, y nadie discute el papel que ellos desempeñan, no sólo en las infecciones enterales propiamente dichas, sino en las infecciones del tracto urinario, septicemias, séptico-piohemias, etc. Paralelamente se han introducido métodos que simplifican y facilitan el transporte de las muestras de un lugar a otro, se han mejorado los procedimientos para su recolección, ideado medios de enriquecimiento, de conservación, etc.

El presente trabajo tiene por principal objeto poner en conocimiento, en nuestro medio, el método de conservación de la muestra de heces fecales en papel secante, con el cual el médico y muchos pacientes, residentes en zonas apartadas de los centros de investigación, tendrán la posibilidad de bene-

* Trabajo llevado a cabo en la Unidad de Biopatología del Departamento de Medicina Interna. Universidad Nacional. Hospital San Juan de Dios. Bogotá.

** Instructor de Medicina. Director de la Unidad de Biopatología.

*** Licenciada en Bacteriología.

ficiarse con un estudio bacteriológico, del cual, en la mayoría de los casos, depende el tratamiento de las enfermedades diarréicas, de tan elevada mortalidad entre nuestra población infantil.

CLASIFICACION DE LAS ENTEROBACTERIACEAS

La familia Enterobacteriácea ha sido definida por Breed Murray y Hitchens (cit. 3) de la siguiente manera: "Son bastonetas gram negativos, móviles o no, con flagelos perítricos, que crecen bien en los medios artificiales. Todas las especies fermentan la glucosa formando ácido, o ácido y gas visible. Característicamente los nitratos son transformados en nitritos (con la excepción de *Erwinia*), y su composición es un mosaico, el cual resulta de la interrelación de muchos géneros, aun extendiéndose a otras familias. Frequentemente actúan como saprófitos, causando la descomposición de las plantas y de materiales que contienen carbohidratos".

Edwards y Ewing (3) agregan a la anterior definición: los micro-organismos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae no producen citocromoxidasa, lo cual elimina del grupo a un buen número de bacterias con flagelos polares, incluyendo *Aeromonas*, cultivos los cuales a menudo se confunden con entero-bacterias, particularmente del tipo *Aerobácter*. También quedan eliminados algunos grupos como *Pseudomonas*, *Alcaligenes* y *Vibrio*. Tampoco las enterobacterias licúan el medio de Pectinato de sodio, y con ello se elimina el grupo *Pectobacterium*, clasificado dentro del grupo *Erwinia*, el cual al menos incluye dos tipos de organismos: a) Bacterias patógenas para las plantas llamadas "verdaderos *Erwinia*", que no reducen los nitratos a nitritos y disminuyen por lo tanto un poco la semejanza con las

enterobacterias en sus caracteres culturales y en sus propiedades bioquímicas. b) Bacterias igualmente patógenas para las plantas que generalmente reducen los nitratos a nitritos y se parecen al género *Aerobácter*, pero que tienen la propiedad de licuar el Pectinato de sodio, y se ha dicho que no es propio de las enterobacterias. Por tal razón es aconsejable su exclusión hasta que el grupo *Erwinia* no sea satisfactoria y completamente estudiado.

Durante muchos años, variados tests bioquímicos se han utilizado para lograr una clasificación taxonómica. En la actualidad, de su simplificación han resultado métodos para la determinación de las propiedades fisiológicas de las bacterias. De particular interés han sido los métodos para la determinación de la decarboxilación y desaminación de ciertos aminoácidos, ayudando así a la distinción de grupos y sub-grupos de enterobacterias, clarificando con ello conceptos de taxonomía.

Numerosas clasificaciones de enterobacterias han aparecido, pero las más atractivas y que por lo tanto merecen atención son las de Breed, Murray y Smith (4) y la de Kauffmann (cit. 3). Breed y col. las clasifican con base a la fermentación de la lactosa; pero han colocado juntos a grupos que tienen distintas características y separado a grupos con interrelaciones bioquímicas y serológicas. El establecimiento de un género simple como el *Paracolobactum*, en base a la tardía fermentación de la lactosa, no se justifica, ya que un *Paracolobactum* puede cambiar a una típica *Escherichia coli*, simplemente por selección de componentes que la fermentan rápidamente.

La clasificación de Kauffmann, aunque difiere en nomenclatura, es taxonómicamente muy cercana a la propuesta por Edwing y Edwards en 1960. El investigador mencionado usa como test primario para su división el de la Decarboxilasa del ácido glutámico, por

cierto de aplicación difícil en el laboratorio. Establece 14 grupos (19): *Salmonella*, *Shigella*, *Arizona*, *Escherichia*, *Citrobácter*, *Klebsiella*, *Hafnia*, *Erwinia*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Rettgerella* y *Providencia*.

Sin embargo, no hay acuerdo en cuanto a la conveniencia de mantener los grupos *Proteus*, *Morganella*, *Rettgerella* y *Providencia* tal como lo propuso Kauffmann. Muchos investigadores, siguiendo la clasificación propuesta por Rustigian y Stuart (20), incluyen como tipos de los del grupo *Proteus*, a *Morganella* y *Rettgerella*, con igual jerarquía que *Proteus mirabilis* y *vulgaris*, reconociendo por lo tanto dos grupos: *Proteus*, que incluye *Proteus vulgaris* y *Proteus mirabilis*, y *Morganella*, que incluye a *M. Morganii*, *M. Rettgeri* y *M. Inconstans* (*Providencia*).

El grupo *Citrobácter*, más ligado bioquímicamente al complejo *Salmonella arizona*, comprende los gérmenes designados previamente como *Escherichia freundii* y *Bethesda*; esta unión es justificada, ya que desde el punto de vista serológico como bioquímico están estrechamente vinculados y sólo la fermentación de la lactosa positiva en los primeros y negativa o tardía en los segundos los distingue. En cuanto a los grupos *Klebsiella* y *Cloacae*, que han sido redefinidos en el último informe del Subcomité de las Enterobacteriaceae (22), Hormaeche y Munilla (23) han establecido claramente su diferenciación bioquímica.

El *Aerobácter aerógenes* ha desaparecido como especie, ya que las cepas inmóviles han pasado al grupo *Klebsiella* y las móviles al *Cloacae*, género introducido por Castellani y Chalmers (24). Edwards y Ewing (25), refiriéndose al grupo *Klebsiella-Aerobácter*, han encontrado que muchas cepas inmóviles, aisladas de heces y de la orina, no pueden diferenciarse por las distintas pruebas de que se dispone en

la actualidad, de las aisladas del tracto respiratorio, y que han sido clasificadas como *Klebsiella*. Ante tal hecho, proponen que mientras no se puedan demostrar como diferentes las cepas aisladas de las heces y orina, de las de origen respiratorio, sean agrupados conjuntamente. Por lo tanto, la *Klebsiella pneumoniae* y el *Aerobácter aerógenes* deben ser considerados como miembros de un solo grupo y designados como *Klebsiella-Aerobácter* (25-26).

Los grupos *Serratia* y *Hafnia* tienen poco significado médico, ya que son bacterias componentes de la flora normal del suelo y del agua y se consideran no patógenas para el hombre. Sin embargo, las primeras se aislan con frecuencia de procesos patológicos y a veces como único germe presente, lo que induce a pensar que su virulencia para el hombre es mayor de la que se le asigna. De todos modos, el aislamiento de cualesquiera de los gérmenes mencionados crea problemas de diagnóstico.

El grupo *Erwinia* está constituido por bacterias patógenas para los vegetales y excepcionalmente se le halla en el hombre. El *Alkalécens-dispar* se ha eliminado como grupo independiente y unido a *Escherichia* por sus vinculaciones bioquímicas y serológicas.

La clasificación propuesta por Edwards y Ewing en 1961 es la que nos ha parecido más didáctica y más acorde con el estado actual de los conocimientos sobre enterobacterias. Nosotros la hemos seguido en nuestro estudio para la clasificación final de las cepas aisladas.

EL COPROCULTIVO

Aunque aparentemente parece no ser dificultosa su ejecución, un buen estudio requiere personal adiestrado y material especializado. La técnica a seguir desde la recolección de la muestra

hasta la identificación final de las bacterias entéricas, varía de acuerdo con los diferentes autores y escuelas. Sin embargo, existe un delineamiento para su correcto estudio que comprende las técnicas para la recolección de las muestras, la utilización de medios diferenciales e inhibidores y de medios selectivos, etc. Cada uno de estos procedimientos varía de acuerdo con tipo de bacterias a investigar y de las posibilidades técnicas y materiales de que se disponga en el laboratorio.

a) *Recolección de la muestra.*—Varias técnicas se han empleado para la recolección de los especímenes fecales, todas tendientes a lograr un mayor porcentaje de casos positivos. El cultivo puede hacerse a partir de la materia fecal recientemente emitida, por impregnación de un escobillón introducido directamente en el recto (3), o en el momento de la rectosigmoidoscopia (15). Debido al hecho de que ciertas enterobacterias, especialmente la *Shigella*, pueden decrecer en número rápidamente luégo de que las heces fecales son evacuadas, se hace necesario colocar los especímenes en medios especiales tan pronto como son obtenidos. En la disentería crónica la impregnación de un escobillón, directamente de las lesiones intestinales, durante el acto de la proctoscopia, ha resultado ser uno de los mejores métodos para el aislamiento de la *Shigella*. Hardy, Mackel, Frezier y Hamerick (cit. 3) han hallado, en un mismo grupo de individuos, que el escobilleo rectal sembrado inmediatamente aumenta el número de aislamientos de patógenos, en comparación con la siembra de heces evacuadas recientemente. Aún mejor resultó la práctica del escobilleo directamente de las lesiones intestinales durante el acto de la proctoscopia. Stuart (10) ha demostrado experimentalmente que el escobilleo rectal no es inferior a la siembra de las mismas heces en el aislamiento de patógenos.

Sin embargo, Shaughessy, Frierer y Snyder (5) consideran su práctica poco adecuada, aunque de utilidad, especialmente cuando se hacen encuestas en grandes masas de población y prefieren la siembra de especímenes frescos cuando se trata de convalecientes y de portadores que eliminan escasa cantidad de bacterias. Thomas (6) es de la misma opinión, y sólo emplea el escobilleo como un paso preliminar a un examen con heces frescas.

Cuando se dispone de especímenes recientemente emitidos, es conveniente seleccionar en ellos trozos de epitelio o bien zonas que contengan moco, pus y sangre, lugares estos en donde los enteropatógenos son muy abundantes (15). Esta práctica se reflejará en un aumento en los aislamientos, especialmente si se asocia a medios de enriquecimiento y a soluciones preservativas.

b) *Soluciones preservativas.*—Se emplean cuando las heces fecales deben ser transportadas o mantenidas por algún tiempo antes de ser sembradas. Sachs (cit. 3), en 1939 (7), usaron exitosamente la solución salina glicerinada, adicionada de solución Buffer y de reo fenol, este último con el objeto de apreciar las modificaciones del pH, ya que la acidificación es perjudicial a los bacilos entéricos. Bangsan y Eliot (8), en 1940, aconsejan una solución preservativa con citrato de sodio al 1%, Desoxicolato de sodio al 5%, en solución salina Buffer, con un pH de 8.5, en la cual se preserva muy bien la vida bacteriana. Gaub (9) usó una solución similar y le asignó efecto preservativo, así como de enriquecimiento. Stuart (10) describió un medio semisólido de Tioglicolato para el transporte y preservación de especímenes obtenidos con escobillones tratados con carbón.

En general, puede decirse que muchas soluciones preservativas han sido usadas, y todas ellas con buenos resultados, en manos de sus descubridores;

sin embargo, la solución glicerinada adicionada de Buffer sigue siendo la más conocida y usada, aunque no ha resultado tan efectiva como la siembra directa.

c) *Medios de enriquecimiento*.—Es recomendable su uso, particularmente en el estudio de portadores en quienes el número de organismos es reducido. Su principal ventaja es la de disminuir la flora normal, dejando libre la patógena. Es satisfactorio el medio de Selenita de Leifson (11), cuyo poder inhibitorio es variable sobre las diferentes bacterias. Para algunos investigadores supera este medio a los demás en el aislamiento de los patógenos, especialmente los típicos y para-típicos, además de ser de composición simple y económico.

Otro medio de enriquecimiento muy usado es el caldo de tetrionate, de Muller (5) modificado por Kauffmann (tetrionate, verde brillante y bilis); su eficacia aumenta cuando se usa conjuntamente con el agar verde brillante. Con este medio, Kauffmann aumentó en un 100% el aislamiento del Paratípico B y en un 500% el de otras *Salmonellas*, en comparación con otros métodos en los cuales el medio de enriquecimiento no fue usado. Galton y Quan (1) confirmaron estos resultados. Por el contrario, Dixon (13) y Smith opinan que el medio de Selenita es superior al tetrionate.

Rappaport y col., y Collard y Unwin (cit. 3), comparando el uso de los medios de Selenita y de Tetrionate con un caldo de verde de malaquita y cloruro de magnesio, hallaron a este último superior a los dos primeros en el aislamiento de *Salmonellas*, diferentes de *S. typhi*. Hajna, en 1955, usó con éxito un caldo preservativo y de enriquecimiento que contiene Manitol, Glucosa, Desoxicolato de sodio, Citrato de sodio y fosfatos. Su uso aumentó el número de aislamientos de *Salmonellas* y *Shigellas*.

Otros medios de enriquecimiento se han usado (31) y algunos modificados por el agregado de antibióticos y quimioterápicos para evitar el crecimiento de ciertas bacterias, especialmente el *Proteus*.

d) *Medios diferenciales*.—(Inhibidores y selectivos). Estos medios, por lo general, inhiben el crecimiento de las bacterias Gram positivas y contienen indicadores que distinguen los gérmenes que fermentan la lactosa de los que no lo hacen. Existen medios diferenciales altamente selectivos, en los cuales la mayoría de los coliformes y algunas cepas de *Proteus* son inhibidos, lo cual es útil para el aislamiento de los patógenos.

Siempre es recomendable usar conjuntamente un medio altamente selectivo con un foco seleccionado, el cual permitirá estimar la totalidad de la flora entérica, hecho éste de particular interés cuando se estudian diarreas infantiles, en las cuales en muchas oportunidades el Coli patógeno es el germen causal. El uso del medio selectivo cubrirá las necesidades para el aislamiento de posibles *Salmonellas* o *Shigellas*. Los medios de Agar-MacConkey, Endo-Agar y Agar-eosina-azul de metileno llenan a satisfacción la primera necesidad y los medios de Agar S. S., Agar bi-sulfito-bismuto (medio de Wilson Blair), el Agar verde brillante-rojo-fenol de Kristensen y el Agar-citrato-desoxicolato, la segunda.

En general, cuando se trata de investigar *Salmonella*, y en particular *typhi*, es recomendable el uso de Agar-bisulfito de bismuto de Wilson Blair, en el cual la *Shigella* habitualmente no crece, y Agar desoxicolato o Agar-verde brillante, cuando se trate de las demás *Salmonellas*. El Agar-eosina-azul de metileno es satisfactorio para el aislamiento de las *Shigellas*, y el Agar S. S. lo es tanto para *Salmonellas* como para *Shigellas*.

Edwards y Ewing (3) recomiendan especialmente el Agar verde-brillante, asociado al medio de enriquecimiento de Kauffmann, cuando se desea aislar *Salmonellas* diferentes de la *typhi*. Si se busca *Salmonella typhi*, electivamente debe usarse el medio de Wilson-Blair y caldo de Selenita como medio de enriquecimiento, el cual también es de valor en la investigación de *Shigellas*. Vemos así que los medios utilizados varían en cada caso en particular y de las circunstancias del medio en que se trabaje, admitiendo que un solo medio no es aceptable para todos los propósitos.

e) *Aislamiento e identificación.*—Se inicia con la selección de las colonias, las cuales se pasan al medio de Kligler (lactosa y glucosa), o mejor el medio de triple azúcar adicionado de hierro (lactosa, glucosa y sacarosa) (18-34).

Recientemente, Taylor (32) ha descrito un nuevo medio sólido (D. L. F. M.) para el aislamiento primario de *Shigellas*, *Salmonellas* y *Arizona*, el cual permite estimar al mismo tiempo la fermentación del Dulcitol (D) y de la Lactosa (L), la producción de H₂S en presencia de una solución de Hierro (F) y la movilidad (M). Con este nuevo medio se reducen notoriamente los aislamientos e identificaciones necesarias comúnmente.

MATERIALES Y METODOS

Fue estudiado un total de 116 niños en el Hospital de la Misericordia, de los cuales 104 estaban hospitalizados en la Sala de Contagiosos con sarampión y el resto fue de asistentes de la Consulta Externa. En todos los casos se procedió al coprocultivo por trastornos diarréicos. Conjuntamente se emplearon experimentalmente, y como control, cepas de *Salmonella*, *Shigella* y *Coli* patógenos, procedentes del Centro de Enterobacterias del Institu-

to Adolfo Lutz, de São Paulo, Brasil, y del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de México. El total de muestras procesadas en el laboratorio ascendió a 942, y el número de cepas cultivadas a 39. Cada una de estas últimas se sembró en ocho oportunidades, totalizando 312 cultivos de control.

Se emplearon sobres de carta desprovistos de pegante en la tapa, dentro de los cuales se colocó un trozo de papel de filtro debidamente doblado. Luégo se esterilizaron en el autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos. El medio de enriquecimiento utilizado en la siembra de las heces diarréicas fue el caldo de tetrionate de Leifson, modificado por Kauffmann, envasado en tubos estériles, el cual, antes de ser usado, se calentó levemente a la llama y se le adicionaron 2 o 3 gotas de solución de yodo.

El procedimiento para cada caso en estudio fue el siguiente: un aplicador o escobillón estéril fue introducido cuidadosamente en el recto e impregnado debidamente, mediante suaves movimientos de rotación; luégo se procedió a impregnar el trozo de papel de filtro contenido en sobres, a sellarlos y a rotular su fecha de siembra. El mismo escobillón se colocó en el medio de enriquecimiento y sin incubar se procedió a su siembra en Agar-sangre, Agar-MacConkey y medio de Chapman (para aislamiento de Estafilococo patógeno). Al tubo que contenía el caldo de enriquecimiento y el escobillón se le agregó una cantidad igual de medio y se incubó por un período de 18-24 horas, al cabo de las cuales se sembró en Agar-sangre, Agar-MacConkey o Endo y Agar S. S., cultivos éstos que se incubaron a 37 grados por un período de tiempo semejante.

Los sobres fueron abiertos cuidadosamente cerca del mechero y los papeles impregnados extraídos con una pinza de disección flameada a la lla-

ma: con una tijera estéril se cortó la porción impregnada, la cual se introdujo en caldo nutritivo o en tetratiolate y se incubó por 18-24 horas, para luégo pasarse a los medios sólidos antes mencionados. El número de sobres empleados varió, y así en 14 niños se impregnaron en cada uno 4 papeles que se sembraron a los 2-4-6-8 días; 23 tuvieron seis sobres para sembrarse a los 2-4-6-8-12-16 días; por último, a 79 niños se les impregnaron 9 papeles que se sembraron a los 2-4-6-8-12-16-24 y 30 días.

El aislamiento primario a partir de los medios sólidos se hizo en medio del Kligler, el cual se incubó por 18-24 horas a 37°C. Como nuestro interés principal fue conocer la sobrevida de las bacterias intestinales desecadas, no seguimos el esquema propuesto por Edwards y Ewing para el aislamiento de los enteropatógenos, sino que se procedió a practicar a todas las bacterias una prueba bioquímica en base a los medios de Sim, Urea, Citrato de Simmons, Gelatina, Glucosa, Lactosa, Sacarosa y Manitol. Las cepas sospechosas de *Salmonella* o *Shigella* fueron sometidas a estudio serológico.

El medio de Chapman (28) lo utilizamos una vez tomada la muestra con el escobillón y luégo de su incubación, con el objeto de buscar el Estafilococo, el cual vira el color del medio de cultivo del morado al amarillo cuando es patógeno (fermentación de la Manita). Las cepas de Estafilococos aisladas de las siembras de los sobres fueron igualmente sometidos a fermentación de la Manita por un período de 48 horas.

Las cepas de *Shigellas*, *Salmonellas* y *Coli* patógeno utilizadas como control se sembraron en caldo de tetratiolate y se incubaron a 37°C por 18-24 horas. Con escobillón se procedió a impregnar papeles de filtro contenidos en sobres estériles y a sembrarlos periódicamente en Tetratiolate, en for-

ma similar a como se procedió para las muestras de materia fecal. Luégo de la incubación correspondiente se hizo la siembra en Agar S. S., y finalmente en medio de Kligler, para comprobar la pureza del cultivo.

RESULTADOS OBTENIDOS

Los resultados que a continuación se transcriben son el resumen del extenso material procesado; el estudio de cada caso en particular puede examinarse en los cuadros 1-2-3-4.

El cuadro número 1 comprende a 13 pacientes cuyas heces fueron conservadas hasta por un período de 8 días, al término de los cuales la mayoría de los gérmenes aislados en Agar-sangre, Agar-MacConkey o Agar S. S. (a partir de siembra directa), se recuperaron en uno o más de los medios mencionados luégo de su desecación. Los gérmenes que mejor se conservaron fueron en orden decreciente: *Klebsiella aerobacter*, *Streptococcus fecalis*, *Proteus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

El cuadro N° 2 comprende el estudio de 23 casos en los cuales la muestra fue conservada desecada hasta 16 días. A este grupo se le adicionó el medio de Chapman, para buscar lo más rápidamente el Estafilococo patógeno, lo cual fue posible en 4 ocasiones. También se utilizó el medio de MacConkey, el cual es de utilidad semejante al medio de Endo, pero diferencia fácilmente las cepas de *Coli* y otros gérmenes fermentadores rápidos de la lactosa. Para este grupo valen las mismas consideraciones en cuanto a la supervivencia de *Escherichia coli*, *Klebsiella Aerobacter*, *S. fecalis*, *Proteus* y *Pseudomonas*. Las cepas de Estafilococo patógeno no fue posible recuperarlas en todos los casos por el excesivo crecimiento de las bacterias entéricas. En general, a los 16 días fue posible recuperar la mayoría de las bacterias ob-

tencidas por el método clásico de coprocultivo.

Por último, el cuadro número 3 totaliza 79 casos en los cuales las muestras fueron conservadas en su mayoría hasta los 30 días. En algunos casos las siembras se hicieron hasta pasados los 70 días. Los medios utilizados fueron los mismos, excepto en 25 casos, en los que se suprimieron los medios de Endo, Agar-sangre y Chapman. Tal razón obedeció a que éstos fueron casos adicionales y los mencionados medios ya habían sido utilizados en una buena proporción de muestras como para ser conclusivos. En este grupo se aislaron 7 cepas de Estafilococo patógeno y la supervivencia de los gérmenes entéricos fue notoriamente satisfactoria a los 30 días de desecación.

Luégo de este tiempo, el porcentaje de casos positivos decreció sin que se pueda anotar una relación entre el tiempo transcurrido y el número de casos negativos (cuadro número 4).

Los resultados obtenidos con las cepas procedentes de México y Brasil fueron satisfactorios. Se desecaron hasta por un período de 45 días, habiéndose recuperado al término de dicho tiempo la totalidad de las cepas ensayadas, lo cual es demostrativo de la resistencia a la desecación de los entero-patógenos, al menos cuando se encuentran completamente puros (cuadros números 5-6).

En general, se puede decir que el resultado del examen bacteriológico de las 115 muestras de materia fecal fresca fue sensiblemente igual al de las muestras desecadas.

Los resultados podemos calificarlos como satisfactorios si observamos el elevado porcentaje de muestras desecadas que permanecieron viables luégo de los 30 días de su siembra. Aunque no aislamos ninguno de los llamados entero-patógenos, es posible que la diarrea en algunos de los casos fuese debida a cepas de Coli patógeno, *Proteus*,

Escherichia, etc. Tanto los gérmenes Gram negativos como los Gram positivos sobrevivieron por largos períodos de tiempo soportando la desecación.

COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

Ha sido siempre de interés, en el diagnóstico de las enfermedades diarréicas, el buscar un cierto número de géneros probadamente patógenos de gran interés clínico y epidemiológico, pasando por alto a géneros como *Escherichia*. Sin embargo, en los últimos años ha crecido el número de afecciones, especialmente entre la población infantil (14 - 16 - 17 - 27 - 29 - 30 - 35 - 36 - 37 y 38), debido a ellos, razón por la cual su aislamiento y estudio serológico debe hacerse paralelamente al de los patógenos comprobados. Este grupo de los bacilos Coli sobrevive durante meses en el suelo y en el agua a temperatura ambiente y puede sobrevivir a procesos de pasteurización.

En el tubo intestinal se halla una enorme cantidad de micro-organismos, la mayoría de ellos residentes habituales saprofitos y un buen número de patógenos, además de los ingeridos con los alimentos que no han sido destruidos por los jugos digestivos y que se eliminan por la materia fecal. Estos micro-organismos poseen una cierta resistencia a los agentes físicos externos como frío, calor y desecación.

Según las observaciones Felsen (cit. 17), las *Shigellas* pueden permanecer con vida en agua corriente hasta seis meses, en agua de mar de 2 a 5 meses y en el hielo por 2 meses; por el contrario, mueren rápidamente a la temperatura de pasteurización y por la cloración. En las heces naturalmente infectadas, conservadas alcalinas viven y permanecen activas durante varios días. En la oscuridad y a la temperatura ambiente viven durante 10 a 12

días en la tierra, en la superficie de las frutas y verduras 2 a 7 días, en el pan 20 días y hasta 2 meses, y en la leche cruda de 6 a 12 días. También puede conservarse durante varios meses a bajas temperaturas, y en la ropa sucia de los enfermos por varios días.

Las *Salmonellas* tienen gran resistencia: en la manteca pueden vivir durante 80 a 108 días (cit. 17), conservándola a bajas temperaturas; en el scrbeta de crema viven por más tiempo, y en las carnes, leches y sus derivados, en los huevos y ciertos vegetales pueden vivir hasta un mes. La *S. Pullorum* vive tres a cuatro semanas en cultivos aun por años, si ellos tienen cierta humedad. Se la ha hallado activa en las heces, luégo de 1 a 2 meses, y en el hielo o nieve luégo de 3 meses. Mueren por la exposición a 55°C durante una hora y a 60° durante 15 minutos.

Sin embargo, estos dos gérmenes son los más sensibles de todos los del grupo de enterobacterias, especialmente a la acidez, producto del metabolismo bacteriano (15).

En general, puede concluirse que todos estos gérmenes: *Salmonellas*, *Shigellas* y *Coli*, relacionados con los disturbios gastrointestinales, presentan una gran resistencia al medio ambiente, tanto en aguas cloacales como en agua corriente, así como en el suelo y en los alimentos.

A pesar de la resistencia referida para los enteropatógenos, la mayoría de los investigadores aconsejan y prefieren procesar la muestra inmediatamente a su recolección. De esta manera, afirman, el número de aislamientos de interés, especialmente en lo que se refiere a *Salmonellas* y *Shigellas*, aumenta considerablemente. Sin embargo, en el estudio de una diarrea, el proceso de la muestra no siempre puede hacerse inmediatamente, razón por la cual se recurre a los medios de preservación o a métodos que, preservando

la vida bacteriana, faciliten su envío a centros de investigación.

Este último aspecto del estudio de las enterobacterias fue lo que hizo idear el método del desecado de la muestra fecal en papel secante o de filtro.

Fueron precisamente Dold y Ketterer, en 1944, quienes demostraron que las heces fecales impregnadas en papel de filtro podían ser de utilidad, luégo de su transporte de zonas remotas a centros de estudio, cuando el uso de las soluciones preservativas no era conveniente ni posible. En algunas circunstancias notaron que cuando los papeles eran guardados en la temperatura ambiente y en la oscuridad la supervivencia de los patógenos excedía a la de otros gérmenes existentes en la muestra.

En 1953, Kirsche y Prevot (2), del Instituto Pasteur de Ranoi, Indochina, usaron el método con buenos resultados, lo mismo que Lie-Kian Joe y col. (1) de la Universidad de Indonesia en Djarta (1954), quienes enviaron muestras de materia fecal por vía aérea a Holanda. Precisamente Lie-Kian Joe y col. han pensado que con la mencionada técnica puede lograrse cierto enriquecimiento de la muestra, ya que parece que la mortalidad de las bacterias no patógenas es mayor que la de las patógenas. Como se expuso, el principal obstáculo para la supervivencia de las bacterias es la acidificación del medio que las contiene (7) (15), aunque presumiblemente no es el único. Sin embargo, el mismo Lie-Kian Joe halló datos de interés que hacen pensar que la *Salmonella thyphosa* permanece viva por más tiempo en el papel que los no patógenos, lo mismo que su actividad diastásica se inhibe en el papel, permitiendo de esta manera la supervivencia de gérmenes más delicados como las *Shigellas* y *Salmonellas*.

Más recientemente Varela (1955), del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de México (33), en un estudio comparativo entre la siembra de heces diarréicas frescas y la siembra de muestras impregnadas en papel, halló resultados significativamente iguales sobre 350 especímenes examinados. Los gérmenes aislados fueron: *Shigella dysenteriae, flexneri, boydii*, *Salmonella paratyphi A*, así como varias cepas de *Coli* patógeno (026-055-0111-0127), que totalizaron un número de 40 cepas cuando se hizo la siembra de heces frescas, y 38 luégo de su impregnación en papel. Tales resultados confirman la utilidad del método en el envío de las muestras al laboratorio.

Nuestros resultados confirman lo hallado por otros investigadores, aun sin que hayamos aislado ningún enteropatógeno probado. Creemos de gran utilidad el método por su sencillez, bajo costo y comodidad para el transporte de la muestra, lo cual facilita

encuestas epidemiológicas sin necesidad de transporte de material delicado, medios de enriquecimiento, de conservación, etc. Además, se pueden remitir varias muestras y con ello mejorar la eficacia del examen.

Su aplicación, por lo tanto, es muy grande en el campo de la Salud Pública, en el diagnóstico, tratamiento y prevención correcta de las enfermedades diarréicas bacterianas en lugares distantes de los centros de investigación.

Por último, la perfecta conservación de los enteropatógenos usados experimentalmente demuestra el método como capaz de substituir eventualmente al medio de gelosa para la conservación de las bacterias de un cepario. Además, las cepas aisladas de un espécimen, y sobre las cuales existen dudas para su clasificación, pueden enviarse en esta forma a cualquier centro de estudio para una correcta identificación.

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

1. Lie-Kian, Soeprapti K., Nani S. W.: "The drying method for sending typhoid and paratyphoid stool specimens to laboratory compared with fresh stool examination". Documenta de Medicina Geographica et Tropica, 6:331, 1954.
2. Kirsche Pierre y Prevot M.: "La méthode de Lie-Kian-Joe. Son intérêt". Bull. Soc. Path. Exot. 46 (4):491, 1953.
3. Edwards P. R., Ewing W. H.: "Identification of Enterobacteriaceae". Communicable Disease Center. U. S. Public Health Service. Atlanta, Georgia. 2nd., 1962.
4. Breed R. S., Murray E. G. D. and Smith N. F.: "Bergey's Manual of determinative Bacteriology". 7th. Ed. 1957.
5. Shaughnessy H. J., Friewer F. and Snader A.: "Comparative efficiency of rectal swabs and fecal specimens in detecting typhoid and salmonella cases and carriers". Am. J. Pub. Health 38:670, 1948.
6. Thomas M. E. M.: "Disadvantages of the rectal swab in diagnosis of diarrhoea". Brit. Med. J. 394, Aug. 14. Saturday, 1954.
7. Coleman M. B.: "Diagnostic Procedures and Reagents". Am. Pub. Health Assoc. 247, 1945.
8. Bangxan E. N., Eliot C. P.: "An investigation of preserving solutions for the recovery of dysentery bacilli from fecal specimens". Am. J. Hyg. 31, secc. B.: 16, 1940.
9. Gaub W. H.: "An epidemic of typhoid fever at Spenard, Alaska". J. Lab. and Clin. Med. 37:931, 1951.
10. Stuart R. D.: "Transport Medium for specimens in Public Health Bacteriology". Pub. Health Rep. 74:431, 1959.

11. Leifson E.: "New selenite enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid (*Salmonella*) bacilli". *The Am. J. of Hyg.* 24 (2):423, Sep.
12. Galton M. M., Quan M. S.: "Salmonella isolated in Florida during 1943 with the combined enrichment method of Kauffmann". *Am. J. Publ. Health* 34:1071, oct. 1944.
13. Dixon M.: "Rapid isolation of *Salmonella* from faeces". *J. of Clin. Path.* 14 (4) 397, july, 1961.
14. Goodwing M. H., Mackel D. C., Ganelin R. E. and Payne F. J.: "Observation on etiology of diarrheal diseases in Arizona". *The Am. J. of Trop. Med. and Hyg.* 9 (3): 336, May, 1960.
15. Baquerizo A. L., Baquerizo R. O.: "Procedimiento para el diagnóstico de las enterobacteriáceas", *Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop.* 16 (1): 25, 1959.
16. Baquerizo A. L.: "Escherichia coli (bacilo coli) como agente patógeno en gastroenteritis infantiles". *Rev. Ecuat. Hig. Med. Trop.* 12 (1): 32, 1955.
17. Páiz A. A., Paredes J., Martínez A. M.: "Diarreas infecciosas". *Nicaragua Med.* 16: 64, marzo-abril, 1960.
18. Hayna A. A.: "Triple sugar-iron-agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria". *J. Bact.* 49: 516, 1945.
19. Kauffmann F.: "Zur biochemischen und serologischen Gruppen-und Typen Einteilung der Enterobacteriaceae". *Zbl. Bakt. labt. Orig.*, 165: 344, 1956.
20. Rustigian R. y Stuart A.: "Taxonomy relationships in the genus *Proteus*". *Soc. Exptl. Biol. Med.*, 53: 241, 1943.
21. Ewing W.: "The nomenclature and taxonomy of the *Proteus* and *Providencia*". *Int. Bull. Bact. Nomen. and Taxon.* 8: 17, 1958.
22. Enterobacteriaceae Sub-Committee. Report. *Int. Bull. Bact. Nomen. and Taxon.* 4: 75, 1954.
23. Hormaeche E. y Munilla M.: "Biochemical test for the differentiation of *Klebsiella* and *Cloaca*". *Int. Bull. Bact. Nomenclature and Taxon.* 7: 1, 1957.
24. Castellani A. et Chalmers: "Sur la classification de certains groupes de bacilles aérobios de l'intestin humain". *Ann. Inst. Pasteur*. 34: 600, 1920.
25. Edwards P. R. and Ewing W. H.: "The taxonomy of enterobacteriaceae. Biology of pyelonephritis". *Henry Ford Hosp. Inter. Symp.* 373, 1959.
26. Thaler M.: "Klebsiella Aerobacter pneumoniae in infants. A review of the literature and report of a case". *Pediatrics* 30: 206, 1962.
27. Courteau A. L., Boulez N., Chassagnol Set, Botté J. M.: "Contrôle bactériologique d'une épidémie de gastro-enteritidis à *E. coli* spécifiques, dans une collectivité de nourrissons et d'enfants". *Supplément au* 4: 67, avril, 1961.
28. Trujillo C. R.: "Comportamiento del estafilococo en el medio de Chapman, por inoculación en el conejo y prueba de coagulasa". *Tesis de grado. Fac. de Bact. Pon. Univ. Jav. Bogotá*, 1957.
29. Joe L. K., Sabah K., Yauw G. S. and Makaliwy C.: "Diarrheas among infants and children en Djarta, Indonesia, with special reference to pathogenic Escherichia coli". *Am. J. Trop. Med.*, Nov., 1962.
30. Olarte J., Ramos-Alvarez M., y Galindo: "Aislamiento de *Shigella*, *Salmonella* y *Colis* patógenos de los hisopos rectales de 802 casos esporádicos de diarrea". *Bol. Med. Hosp. Infan. México*. 14: 257, 1957.
31. Solari A. A., Actis-Dato A., Herrero M. M., Cremaschi M. S. D., de Reid M. I., Salgado L. P. and Princeira M. T.: "Use of a selective enrichment medium for the isolation of *Pseudomonas Aeruginosa* from feces". *J. Bact.* 84 (1): 190, july, 1962.
32. Taylor W. I.: "Nouveau milieu pour l'identification rapide des *Salmonellas* et *Shigellas*". *Ann. Inst. Pasteur*. 103: 112, july, 1962.
33. Varela G.: "Comparación de los resultados bacteriológicos obtenidos sembrando heces diarréicas frescas y heces diarréicas secadas en papel filtro". *Rev. Inst. Sal. y Enf. Trop. México* XV (4): 225, dic. 1955.
34. Varela G., Olarte Y.: "Métodos para aislamiento y clasificación de *Salmonella* y *Shigella* en materias fecales". *Med. Rev. México*, 31, 612: 2-4, 1950.
35. Smith Y.: "The association of serological types of *Bacterium coli* with infantile diarrhea". *J. Path. and Bact.*: 66: 503, 1953.

36. Neter E., Webb C. R., Shumway C. N. and Murdock M. R.: "Study on etiology, epidemiology and antibiotic therapy of infantile diarrhea with particular reference to certain serotypes of Escherichia Coli". U. S. Naval Med. Bull. 41, 1940-1951.
37. Feig M.: "Diarrhea, Dysentery, Food poisoning and gastroenteritis". Ann. J. Pub. Health 40: 1372. Nov. 1950.
38. Meyer K. F.: "Food poisoning". The New Eng. J. of Medicine, 249 (19): 765 ibid. 804-843. 1953.

C U A D R O N° 1
CONSERVACION DE LA MUESTRA DESECADA DURANTE 8 DIAS

Casos	Siembra de heces fecales frescas y enriquecidas en caldo de tetrationate.				
	2 días	4 días	6 días	8 días	
0	E-Ec	E-Ec-Pa	E-Ec	E-Ec-Pa-Af	E-Ec-Ka
1	E-Ec-Ka-Pr-Pm-Cl	E-Ec-Pa-Ka	E-Ec-Ka-Pa	E-Ec-Ka	Ec
2	Ec-Ka	Ec-Ka-Pmo	Ec-Ka-EF	E-Ka-Pa-EF	Ec-Ka-Ei
3	Ec-Ka-Ef-Pa-Pmo	Ka-Af-Pr-Pmo	Ka-Ef-Pr-Af	Pa-EF	Ec-Ka-Pa-EF
4	Ka-Pm-Mt	Ka-Pr-Mt-Pmo	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka-CI
5	E-Ka	Sobre perdido	E-Ef	E-Ef	E-Ef
6	Ec-Ka-Ef-Mo	Ec-Ef	Ef-Cl	Ef	Ef
7	E-Ec-Ka	Ec-Ka-Ef	E-Ec-Ef	E-Ec	E-Ec-Ka
8	Ec	Ec-EF	EF	EF	EF
9	E-Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Pa-Ef-Ei	E-Ec-Ka	Ec-Ka	E-Ka
10	E-Ec-Ka-Ef-Pa	E-Ec-Ef	E-Ec-Ka-Ef-Ac	Ef	Ef
11	E-Ec-Ka-EF-Pa	E-Ec-Pa-Ac	E-Ec-Pa-Ac	E-Ec-Ka-Pa	E-Ec-Ka
12	Ec-Ka-Pm-Pa	Ec-Ka-Pm	Ka	Ka	Ka
13	Ee-Pm-Pa	Ee-Pm-Pa	Ee-Pm-Pa	Ee	Ee-Ka-Pa

E:	Estafilococo	Pa:	Pseudomonas aeruginosa
Ec:	Escherichia coli	Af:	Alcaligenes faecalis.
Ei:	Escherichia intermedium	Ka:	Klebsiella aerobacter
EF:	Escherichia freundii	Cl:	Clostridium aerobio
Pr:	Proteus rettgeri	Ef:	Streptococcus faecalis
Pm:	Proteus mirabilis	Mt:	Micrococcus tetragena
Pmo:	Proteus morgagni	Mo:	Monilias

CUADRO N° 2

CONSERVACION DE LA MUESTRA DESECADA DURANTE 16 DIAS

Casos	Siembra de heces fetales frescas y enriquecidas en caldo de tetrationate.	2 días	4 días	6 días	8 días	12 días	16 días
14 15	Ka-Pa Ec-Pm	Ka-Pmo E-Ec-Ka	Ka-Pmo E-Ec-Ka	E-Ec-Ka-Pa	E-Ec-Ei E-Ec-Ka	E-Ec-Ei E-Ec-Ka	E-Ec-Ei Ka
16 17	Ec-Ka-Pm-Mt E-Ec-Ka	Ec-Ka-Pm Ec-Ka-Pr-Ef	Ka-Pm Ka-Ec-Pr-Ef	Ec-Ka E-Ec-Ef-Ka	E-Ec-Ka E-Ec-Ka	Ka E-Ec-Ka	Ka-Pm E-Ec-Ka
18 19	E-Ec-Pm-Af E-Ec-Ka-Mo	Ec-Ka E-Ec	E-Ec-Ka E-Ec-Pr	Ka Ka-Ec	E-Ec-Ka E-Ec-Ka	E-Ec-Ka E-Ec-Ka	Ka E-Ec-Ka
20 21	E-Ec-Mt E-Ec	E-Ec-Mt E-Ec-Ka	E E-Ka	Ec-EF Ec-Ka	Ec-EF Ec-Ka	E-Ec-K Ec-Ka	E Ec-Ka
22 23	E-Fc E-Ec	E-Ka-Pr E-Ec-Ei	E-Ka Ec-Ef	E-Ka E-Ec	E-Ka E-Ec	E-Ka E-Ec	E Ec
24 25	E-Ka-Ef-Pa Ka-Ec-Ei	Ka-Ef-Ec Ka-Ec-Ei	Pa-E-Ec-Ka Ec-Ka-Ei	Ka-Ec-E Ec-Ka	Ka-Ec-E Ec-Ka	Ka-Ec Ec-Ka	Ef Ec-Ka-Ac
26 27	E-Ka-Ec E-Ka-Ef-Ec	Ka-Ec Ec	E-Ka E-Ka-Ef	E-Ka Ec-Ka	E-Ka Ec-Ka	Ka-Ec Ec-Ka	Ec-Pm-Pa Ec-Ef
28 29	Ka-Pm E-Ka-Pa-Ec	E-Ka Ec-Ka	Ka-Ec-Ei Ec-Ka	Ec-Ka Ec-Ka	Ec-Ka Ec-Ka	Ec-Ka Ec-Ka	Ka-Ec Ec-Ka
30 31	E-Ka E-Ka-Ec	E-EF E-Ka-Ec	Ec-Ka-EF Ec-Ka-Ec	Ec-Ka Ec-Ka	Ec-Ka Ec-Ka	Ec-Ka Ec-Ka	E E-Ec
32 33	E-Ec-Ka Ec-Pv	Eo-Ka Ed-Ka-Pv	Ec-Ka-Pa Ec-Ka	Ec-Ka E-Ef	Ec-Ka E-Ef	E-Ec-Ei E-Ec-Ef	E Ec
34 35 36	E-Ka-Ec-Pm E-Ec Ka-Ef-Ec	Ka-Pm Ec Ec-Ka	E-Ka-Ec E-Ec Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Pv E-Ec-Ka-EF Ec-Ka	Ec-Ka-Pv-E E-Ec-Ef Ec-Ka-Ef	E-Ec-Pv-S Ec-Ka-Ef Ec-Ka-Ef	E Ec-Ka-E Ec-Ka
Ka: E: Gi: EF: Af:	Klebsiella Aerobacter Esatfilococo Escherichia intermedium Escherichia Freundi Acaligenes fecalis	Pmo: Proteus morganii Pv: Proteus vulgaris Ac: Aerobacter cloacae Pa: Pseudomonas aeruginosa Ec: Escherichia coli	Pmo: Proteus morganii Pv: Proteus vulgaris Ac: Aerobacter cloacae Pa: Pseudomonas aeruginosa Ec: Escherichia coli	Pmo: Proteus morganii Pv: Proteus vulgaris Ac: Aerobacter cloacae Pa: Pseudomonas aeruginosa Ec: Escherichia coli	Pmo: Proteus morganii Pv: Proteus vulgaris Ac: Aerobacter cloacae Pa: Pseudomonas aeruginosa Ec: Escherichia coli	Ef: Streptococcus fecalis Pm: Proteus mirabilis Pr: Proteus retigeri Mo: Monilias S: Sporulado contaminante	Ef: Streptococcus fecalis Pm: Proteus mirabilis Pr: Proteus retigeri Mo: Monilias S: Sporulado contaminante

CONSERVACION DE LA MUESTRA DESECADA BURANTE 30 DIAS

(Continúa)

CONSERVACION DE LA MUESTRA DESEADA DURANTE 30 DIAS

(Continuación)

Casos	Siembra de heces fetales frescas y enriquecidas en caido de tetrationate.	2 días	4 días	6 días	8 días	12 días	16 días	24 días	36 días
69	E-Ec	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	E	E-Ec
70	Ec-Ka-Ef	Ec-Et-Ef	Ec-Ka-Et-Pa	Ec-Ka-Pa	Ec-Ka-E	Ec-Ka-E	Ec-Et	Ec	Ec
71	Ec-Ka-Ef-E					Ka	Ec-Ka	Ec	Eg
72	Ec-Ka	Ec-Ka-E-Pv	Ec-Ka	Ec-Ka-Ef-Pv	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Pv	Pv	
73	Ec-Ka-Ei-EF	Ec-Ka-Ei-EF	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka	Ec-Ka-EF	Ec-Ka-EF	Ec-Ka	Eo	
74	Ec	Ec-Ka		Ec	Ec	Ec	Ec	Ec	
75	Ec	Ec-Ka	Ec-E-S	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-Ef	E-Ef	
76	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka-S	Ec-Ka-S	Ec-Ei	Ec-Ka	Ec-Et	Ec-Et	Eo	
77	Ec-Ka-S	Ec-E	Ec-E	Ec-E	Ec-Ka-E	Ec-Et	S-Ec-Ka		
78	Ec-Ka-Ei-EF	Ef	Ec-Ka	Ec-Ka-EF	Ec	Ec-Ka	S-Ec-Ka	Ka	Ec-Ka
79	Ec-Ka-Mt	Ef	Ef	Ef	Ef-Ka-E	Ec-Ef	Ec-Ka	Ec-Ka	
80	Ec-Pm-E	Ec-Ef	Ec-Ef-Ka	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	
81	Ec-Ef-E	Ec-Ef	Ec-Ef	Ec-Ef	Ec-Ef	Ec-Ef	E-Et	Ec	
82	Ec-Ef	Ec-Ka-Ef	Ec-Ef	Ec-Ef	Ec-Ef	Ec-Ef	Ka-Ef	Ka-Ef	
83	Ec-Pv-EF-Pr	Ei-Ef-Pv	Ei-Ef	Ei-Ef	Ei-Ef	Ei-Ef	Ei-Ef	Ei-Ef	
84	Ec-Af-Ei-Pa	E-Pa	Ec-Pa	Ec-Ef	Ec-Ef	Ec-Et-Pa	E-Et	Ka-Pa-Ei	
85	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	E-Et	Ka-Ef-Ei-Ac	
86	Ec-Pm	mo	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ef	Eg	Ka-Pa-Ei	
87	Ec-EF-Pa	Ec-Ki-Pa	Ec-Pa	Ec-Pa	Ec-Pa	Ec-Ka-Pa	E-Et	Ka-Pa	
88	Ec-Ka-Ef	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	E-Et	E-Et	
89	Ec-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Ef-Pm	Ec-Ka-Pm	Ec-Ka-Pm	E-Et	E-Et	
90	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka	Ec-Ka-Ef	E-Et	E-Et	
91	Ef-Pr-Gh-Ac	Ka-Ac-Gh	Ka-Ac-Gh	Pm-Pr-Gs	Pr-Gs-Ac-EF	Pr-Gs-Pn-Gs	Pr-Gs-Pn-Gs	E-EF	
92	Ef-Ei-Ac-Pr	Ec-Ka	Ec-Ka	Ka-Ac-Pr-Ei	Ka-Ei-Ac-EF	Ka-Ei-Ac-EF	Ka-Ei-Ac-EF	Ei-Ac-Ka-P	
93	Ka-Ei-Ac	Ec-Ka	Ka-Ac-Pr-Ei	Ka-Ac-Pr-Ei	Ka-Ei-Ac-Eo	Ei-Pr-Ac	Ei-Pr-Ac	Ei-Pr-Ac	
94	Ac-Ka-Pv-EF	Ac-Pv-Ef	Pv-EF	Pv-EF	Pv-Ef	Ei-Pv-Ac	Ei-Pv-Ac	Ei-Pv-Ac	
95	Ec-Pr	Ec-Ka-Pr	Ec-Ka-Ei	Ec-Ka-Pr	Ec-Ka-Pr	Ec-Ka-Pr	Ec-Ka-Pr	Ei-Ka-Pv-Ac	
96	Ac-Ef-Pm-Gh	Ka-Ei-Ei-Gh	Gh-Ac-Ei-Ef	Hf-Py-Gh-Ac	Ka-Ac-Gh-Ac	Pn-Ef-Gh	Pn-Ef-Gh	Eo-Ka-Pm-Ei	
97	Ac-Fm	Ka-Ac	Eo-Ka-Pv-Ac	Eo-Ka-Pv-Ac	Ka-Pv-Ac	Ka-Pv-E	Ka-Pv-E	Ka-Pv-E	
98	Ec-Ka-EF	Ki-Pf-Et-Ac						Pa-Pr	

(Continúa)

Conclusión)

CUADRO N° 4

Número de días que se conservó la materia fecal desecada	Número de casos	(+)	%	(-)	%
45	5	2	40	3	60
50	6	3	50	3	50
55	7	5	71,45	2	28,55
60	10	4	40	6	60
65	8	5	62,50	3	37,50
70	2	2	—	0	—
75	3	1	33,33	2	66,66
Total	41	22		19	

CUADRO N° 5

CEPAS DE MEJICO

Nº cepa patógena	Nº cepario Unidad Biopatología	Nº de días que se conservaron las cepas							
		2d	4d	6d	8d	12d	16d	24d	45d
Coli 026	9	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 0112	10	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0127	11	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0111	12	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 055	13	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 044	14	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0126	15	++	++	++	++	++	—	++	++
Coli 0111	16	++	++	++	++	++	+	++	++

CEPAS DEL BRASIL

Nº cepa patógena	Nº cepario Unidad Biopatología	Nº de días que se conservaron las cepas							
		2d	4d	6d	8d	12d	16d	24d	45d
Coli 0125	19	+	+	+	+	+	+	+	+
Coli 086	20	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0127	21	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 026	22	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0119	23	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0102	24	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0126	25	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0124	26	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0255	27	++	++	++	++	++	++	++	++
Coli 0111	28	++	++	++	++	++	++	++	++

CUADRO N° 6

Cepas Instituto Adolfo Lutz Brasil	Nº cepario Unidad Biopatología	Nº de días que se conservó desecada							
		2d	4d	6d	8d	12d	16d	24d	45d
Salmonella tomphson . . .	30	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella anatum . . .	31	—	—	—	—	—	—	—	—
Salmonella newport b . .	32	++	++	++	++	++	++	++	++
Salmonella paratiphi A . .	33	++	++	++	++	++	++	++	++
Salmonella newport a . .	34	++	++	++	++	++	++	++	++
Salmonella paratiphi B . .	35	++	++	++	++	++	++	++	++
Salmonella tiphimurium . .	36	++	++	++	++	++	++	++	++
Salmonella tipni	37	++	++	++	++	++	++	++	++
Salmonella dispar 01	38	++	++	++	++	++	++	++	++
Shigella C-1	39	++	++	++	++	++	++	++	++
Shigella C-2	40	++	—	++	++	++	++	++	++
Shigella D-1	41	++	+	++	++	++	++	—	++
Shigella A-1	42	++	++	—	++	++	++	++	++
Alkalesscens dispar 02 . .	43	++	++	++	++	++	++	++	++
Shigella A-2	44	++	++	++	++	++	++	++	++
Shigella boildii	45	++	++	++	++	++	++	++	—
Shigella flexneri B3c . .	46	++	++	++	++	++	++	++	++
Shigella flexneri B1a . .	47	++	++	++	++	++	++	++	++
Shigella flexneri B2a . .	48	++	++	++	++	++	++	++	++
Shigella flexneri B46 . .	49	++	++	++	++	++	++	++	++
Shigella flexneri B5 . . .	50	++	++	++	++	—	++	++	++